

## اثر یونجه خشک به عنوان جاذب پساب بر کیفیت تخمیر و تولید پساب در ذرت سیلوشده و عملکرد گاوهای شیره

جابر خانی<sup>۱</sup>، علی اکبر خادم<sup>۲</sup>، علی اسدی الموتی<sup>۳\*</sup> و محسن صحرائی بلوردی<sup>۴</sup>

۱، ۲، ۳ و ۴. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استاد، استادیار و دانشجوی دکتری، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۳)

### چکیده

هدف، مطالعه اثرات یونجه خشک به عنوان جاذب رطوبت بر تخمیر و تولید پساب در ذرت سیلوشده و عملکرد گاوهای تغذیه شده با آن بود. علوفه ذرت با ماده خشک ۲۲ درصد برداشت و با صفر، پنج و ۱۰ درصد یونجه خشک بر حسب وزن تر در سیلوهای زمینی ذخیره شد. با افزایش درصد یونجه، پساب سیلوهها و pH، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و کربوهیدرات‌های محلول در آب کاهش اما ماده خشک سیلوهها به صورت خطی افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). در آزمایش عملکردی که روی نه راس گاو شیری اواخر شیردهی در قالب طرح مربع لاتین ناقص تکرار شده در دو دوره و با سه تیمار فوق انجام شد، مصرف مواد مغذی و قابلیت هضم ظاهری آنها و نیز تولید و ترکیب شیر تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. با این حال، قابلیت هضم ماده آلی با افزایش سطح جاذب به صورت خطی افزایش یافت. کل فعالیت جویدن و خوردن بین تیمارها مشابه اما کل زمان نشخوار و زمان جویدن، نشخوار به ازای هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی با افزایش درصد جاذب به صورت خطی کاهش یافت. غلظت کل اسیدهای چرب فرار و pH شکمبه تحت تأثیر تیمارها نبود. طبق نتایج، استفاده از یونجه خشک ضمن حفظ کیفیت ذرت سیلوشده و عملکرد گاوهای شیری اثر معنی داری در کاهش تولید پساب داشت، لذا به عنوان یک جاذب مؤثر پساب در سیلوی علوفه ذرت نابالغ توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بلوغ علوفه، جاذب رطوبت، قابلیت هضم، گاوشیری، مصرف خوراک.

## Effects of alfalfa hay as a moisture absorbent on fermentation quality and effluent production in corn silage and performance of dairy cows

Jaber Khani<sup>1</sup>, Ali Akbar Khadem<sup>2</sup>, Ali Asadi Alamouti<sup>3\*</sup> and Mohsen Sahraei Belverdy<sup>4</sup>

1, 2, 3, 4. Former M. Sc. Student, Professor, Assistant Professor and Ph.D. Candidate, Department of Animal and Poultry Science, Campus of Aburairhan, University of Tehran, Iran

(Received: May 19, 2018 - Accepted: Dec. 24, 2018)

### ABSTRACT

The objectives were to evaluate effects of adding alfalfa hay (AH) as moisture absorbent to corn forage upon ensiling on silage fermentation, effluent production and performance of late lactating Holstein cows. Corn forage with the initial dry matter content of 22%, left untreated or ensiled with 5 and 10% AH, on a fresh weight basis, for 90 days. Silage DM linearly increased, while effluent production, pH, NDF and water-soluble carbohydrates concentration linearly decreased as AH inclusion rate increased ( $P < 0.05$ ). An incomplete  $2 \times 3$  Latin square experiment with nine late lactating Holstein cows consuming the above-mentioned silages showed similar nutrient intake and milk production and composition while a linear increase in organic matter digestibility with AH inclusion ( $P < 0.05$ ). Total chewing and eating times were unaffected, however, chewing and ruminating time spent/kg DM linearly decreased as AH inclusion rate increased ( $P < 0.05$ ). Ruminant pH and concentrations of VFA were similar across treatments. Results showed a strong effect of AH on reducing effluent from immature corn silage without having an adverse effect on silage fermentation and dairy cows' performance. Using AH for controlling of effluent from corn silage is recommended.

**Keywords:** Dairy cow, digestibility, feed intake, forage maturity, moisture absorbent

\* Corresponding author E-mail: a.alamouti@ut.ac.ir

### مقدمه

ذرت سیلوشده بخش مهم جیره ی گاوهای شیری است که گاهی اوقات تا بیش از ۵۰ درصد از کل ماده خشک جیره را تشکیل می دهد ( Haerr *et al.*, 2015). با توجه به اینکه بخش اعظم کشت ذرت علوفه ای در کشور ایران در مناطق معتدل و سردسیری و به صورت کشت دوم یا پائیزه است، لذا برداشت ذرت همزمان با شروع فصل سرما و بارندگی است که موجب برداشت زود هنگام این محصول از سطح مزرعه می شود. سیلوکردن علوفه ذرت با ماده خشک کم، منجر به تولید علوفه هایی با کیفیت پایین می شود که ضمن تولید پساب فراوان و اتلاف موادمغذی با ارزش علوفه، آب های سطحی و زیرزمینی را نیز آلوده می کند ( Graves, 1993; Barmaki *et al.*, 2017). برای کاهش اتلاف ناشی از پساب، توصیه می شود که در فرایند تهیه علوفه های سیلوشده، موادی با خاصیت جذب رطوبت بالا به علوفه سیلوشونده افزوده شود. پیش از این، از تفاله خشک چغندر قند (Ferris & Mayne, 1994)، دانه جو غلطک زده (Khorvash *et al.*, 2005)، کاه جو (Offer & Al-Moeiniazadeh *et al.*, 1989) و یونجه خشک (Rwidah, 1989; Barmaki *et al.*, 2013; Barmaki *et al.*, 2017) استفاده شده است. برخی از این جاذب ها علی رغم توان کاهش پساب، ارزش غذایی علوفه را کاهش داده اند به طوری که Haigh (1998) گزارش کرد که استفاده از کاه به صورت لایه لایه علی رغم افزایش مصرف سیلوی حاصله سبب کاهش قابلیت هضم ماده خشک و کیفیت تخمیر آن می گردد. در گزارش های دیگری (Salo, 1978; Salo & Sormunsen, 1974) استفاده از روزنامه به عنوان جاذب در کاهش پساب از سیلوی چغندر قند مؤثر بوده ولی گوساله ها با میل سیلوی حاوی روزنامه را مصرف نکرده و اثرات منفی تغذیه ای آن محتوای لیگنین بالای روزنامه و جوهر چاپگر آن گزارش گردید. از مزایای استفاده از یونجه خشک به عنوان جاذب، در دسترس بودن آن در زمان تهیه ذرت سیلوشده، و امکان تهیه جیره یکنواخت تر از نظر خصوصیات فیزیکی می باشد (Barmaki *et al.*, 2017).

با این وجود استفاده از یونجه خشک به عنوان جاذب با محدودیت هایی مانند افزایش ظرفیت بافری سیلو و عدم فشردگی سازی و تراکم نامناسب سیلو همراه است. در یک آزمایش گزارش شده است که استفاده از یونجه خشک به عنوان جاذب در دو سطح پنج و ۱۰ درصد وزن تر علوفه ذرت پساب را به صورت معنی دار کاهش داد به طوری که در سطح ۱۰ درصد جاذب، پساب به صفر رسید و بسیاری از ویژگی های تخمیری بهبود پیدا کرد و در آزمایش تغذیه ای مصرف اختیاری خوراک را در میش های غیرشیرده به صورت خطی افزایش داد (Barmaki *et al.*, 2017). محققین دیگری (Fransen & Strubi, 1998) علوفه گرمینه چند ساله را در چین اول بدون جاذب یا با جاذب های مختلف در سیلوهای آزمایشی کرده و مشاهده نمودند که از میان جاذب ها یونجه خشک ضمن بیشترین اثر در کاهش تولید پساب، قابلیت هضم گراس سیلوشده را در آزمایش برون تنی کاهش نداد. هر چند مطالب پیش گفته مؤید مزیت استفاده از یونجه خشک به عنوان جاذب رطوبت بدون ایجاد اثرات نامطلوب بر کیفیت ذرت سیلوشده است، ولی نیاز به ذخیره علوفه در مقیاس بزرگ تر و بررسی اثرات این نوع سیلوکردن بر کاهش پساب و سپس عملکرد گاوهای تغذیه شده با آن برای ارائه توصیه های کاربردی ضروری به نظر می رسد. بر این اساس، پژوهش حاضر به منظور مطالعه اثرات استفاده از یونجه خشک به عنوان جاذب در کاهش پساب علوفه ذرت با رطوبت بالا، کیفیت سیلو و عملکرد گاوهای شیرده تغذیه شده با آن طراحی گردید.

### مواد و روش ها

سه دستگاه سیلوی افقی از نوع دیواری روزمینی، هر یک به ابعاد ۱ متر ارتفاع، ۴ متر طول و ۳/۵ متر عرض احداث و در جلوی هر مخزن سیلو، یک کانال محصور به عرض سازه سیلو با عمق کافی برای جمع آوری پساب در نظر گرفته شد. سیلوهای آزمایشی حاوی صفر (شاهد)، پنج و ۱۰ درصد علوفه خشک یونجه بر اساس وزن تر علوفه ذرتی با محتوای

AOAC, 1990, CP) پروتئین خام (984.13 method), و غلظت کربوهیدرات‌های محلول در آب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و از روش فنل- سولفوریک (Dubois *et al.*, 1956) تعیین شد. ۱۰ گرم نمونه تازه با ۹۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۶۰ دقیقه مخلوط و پس از عبور از کاغذ صافی، عصاره‌گیری شد. عصاره حاصل در دور ۲۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع شفاف رویی به نسبت ۱:۱۰ رقیق شده به آن به ترتیب ۱ میلی لیتر آب مقطر، ۰/۱۵ میلی لیتر محلول فنل ۸۰ درصد و سه میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ افزوده شد. پس از خنک شدن میزان کربوهیدرات‌های محلول آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. همچنین نیتروژن آمونیاکی با استفاده از دستگاه میکروپلت ریدر (Biotech, USA) و به روش فنل هیپوکلرایت (Broderick & Kang, 1980) اندازه‌گیری شد. آزمایش عملکردی روی نه رأس گاو هلشتاین در اواخر شیردهی با تولید  $36/3 \pm 2/5$  کیلوگرم در روز و با میانگین روز شیردهی  $37 \pm 2/2$  به صورت طرح مربع لاتین ناقص  $2 \times 3$  با سه تیمار در دو دوره ۱۸ روزه (۱۱ روز عادت‌پذیری و ۷ روز نمونه‌برداری) انجام شد. از نه جایگاه انفرادی استفاده شد. خوراک‌دهی گاوها هر روز در دو نوبت، در ساعات ۹:۰۰ و ۱۶:۰۰ انجام شد. در مدت اجرای آزمایش آب به‌طور آزاد در اختیار گاوها قرار گرفت. تیمارها شامل سه جیره حاوی ۴۵ درصد علوفه و ۵۵ درصد کنسانتره بر اساس ماده خشک بود (جدول ۱). تیمار یک شامل جیره‌ای با ۳۰ درصد ذرت سیلوشده به‌علاوه ۱۵ درصد یونجه‌خشک، تیمار دو شامل ۳۶/۶ درصد ماده خشک جیره از ذرت سیلوشده با پنج درصد جاذب به‌علاوه ۸/۴ درصد یونجه‌خشک و جیره سه شامل ۴۴/۴ درصد ماده خشک ذرت سیلوشده با ۱۰ درصد جاذب به‌علاوه ۰/۶ درصد کل جیره از یونجه‌خشک بودند. به این ترتیب، سهم یونجه جیره (شامل مجموع یونجه اضافه شده به سیلو به‌عنوان جاذب و یونجه اضافه شده در جیره) در همه تیمارها در سطح ۱۵ درصد ثابت نگه داشته شد. ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ نشان داده شده است.

۲۲ درصد ماده خشک بود. در تهیه سیلوه‌ها، ابتدا در اولین لایه کف مخزن سیلو، یونجه‌خشک خردشده به ضخامت ۵ سانتی‌متر پهن شد و در ادامه لایه‌های بعدی به‌صورت متناوب با علوفه ذرت به‌ضخامت ۲۰ سانتی‌متر و یونجه‌خشک به‌ضخامت ۵ سانتی‌متر طوری پر شدند که لایه انتهایی از علوفه ذرت تشکیل شده باشد. از یک غلطک ۲۰۰ کیلوگرمی برای وارد آوردن فشار یکنواخت جهت خروج هوا از توده علوفه در لایه‌های سیلو استفاده و در نهایت روی سیلوه‌ها به‌وسیله پلاستیک ضخیم پوشانده شد. در طول مدت ۹۰ روز دوره سیلوکردن، پساب هر یک از مخازن سیلوه‌ها از طریق کانال‌ها جمع‌آوری و با استفاده از ظرف مدرج حجم آن ثبت شد. پس از طی سه ماه، سیلوه‌های آزمایشی باز و بلافاصله نمونه‌هایی از سیلو جهت اندازه‌گیری pH ماده خشک و ترکیبات شیمیایی دیگر از جمله نیتروژن آمونیاکی، کربوهیدرات محلول در آب، فیبر نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی و همچنین خاکستر، تهیه شد. همچنین از علوفه یونجه خشک و علوفه ذرت مورد استفاده در تهیه سیلاژها نمونه‌گیری به عمل آمد و ترکیبات شیمیایی آن آنالیز شد.

جهت اندازه‌گیری pH نمونه‌های سیلوی تهیه شده، ۱۰ گرم از نمونه تازه در بشر ۵۰۰ میلی‌لیتری توزین و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. نمونه‌ها به خوبی با آب مقطر مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه روی شیکر هم زده شد. محلول با استفاده از صافی صاف و pH آن با استفاده از pH متر دیجیتال (مدل Metrohm, Switzerland 827) که قبلاً استاندارد شده بود، مشخص گردید (MAFF, 1986). همچنین برای تعیین ماده خشک سیلوه‌ها نمونه‌ها در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴۸ ساعت در آون خشک شدند. سپس نمونه‌هایی از سیلوه‌ها پس از عبور از الک یک میلی‌متری جهت اندازه‌گیری خاکستر خام (AOAC, 1990, method 984.13, Ash)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) (AOAC, 1990, method 973.18)، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (Van Soest *et al.*, 1991)، نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی (ADIN) (AOAC, 1990, method

خوراک دادن با استفاده از لوله و پمپ از مایع شکمبه هر دام نمونه‌ای گرفته شد و با استفاده از دستگاه pH متر، pH مایع شکمبه اندازه‌گیری شد و نمونه‌ای از مایع شکمبه برداشته و به آن اسید سولفوریک پنج درصد به نسبت یک به پنج، برای اندازه‌گرفتن اسیدهای چرب فرآر اضافه و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. خون‌گیری از گاوها یک روز در هر دوره، ۲ و ۴ ساعت پس از ریختن خوراک، و با استفاده از لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد از رگ ناحیه دم گاوها انجام شد. پس از جداسازی پلاسمای خون با استفاده از سانتریفیوژ با ۳۰۰۰ هزار دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، نمونه‌ها برای آنالیز شیمیایی در فریزر و در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و سپس با استفاده از کیت‌های شرکت زیست‌شیمی و دستگاه اسپکترو فتومتر پیکو دراپ (مدل VIS.UV-S2000-PA-UK-Cambridge) گلوکز و نیتروژن اوره‌ای اندازه‌گیری شدند.

در روزهای نمونه‌برداری، جهت تعیین ماده خشک مصرفی خوراک ریخته شده و پسمانده خوراک هر گاو توزین شد و در دو روز از دوره نمونه‌برداری از خوراک داده شده و پسمانده خوراک هر گاو یک نمونه برداشته شد و در کیسه‌های شماره‌گذاری شده جمع‌آوری و در فریزر و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه‌برداری از مدفوع همه گاوها، طی ۴ روز متوالی و دو بار در روز در ساعات ۹:۰۰ و ۱۶:۰۰ انجام شد. نمونه‌های صبح و عصر در یخچال نگهداری و همان روز با هم مخلوط و یک نمونه ۳۰۰ گرمی تهیه و در فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. همچنین، تولید شیر در هر دوره به مدت چهار روز متوالی و در سه وعده ثبت گردید و نمونه‌هایی از شیر در زمان دوشش گاوها تهیه و در قوطی‌های ۳۰ میلی‌لیتری همراه با پتاسیم دی‌کرومات مخلوط و جهت آنالیز به آزمایشگاه فرستاده شد. در روز آخر نمونه‌گیری، سه ساعت بعد از

جدول ۱. اجزای جیره‌های مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Ingredients of the diets fed to lactating cows in the experiment

Ingredients DM%	Treatments <sup>1</sup>		
	Control	5% Alfalfa hay	10 % Alfalfa hay
Alfalfa hay	15	8.4	0.6
Corn silage	30	36.6	44.4
Barley grain	5.5	5.5	5.5
Corn grain	26.4	26.4	26.4
Cottonseed meal	5.5	5.5	5.5
Soybean meal	11	11	11
Wheat bran	3.41	3.41	3.41
Sodium bicarbonate	0.55	0.55	0.55
Calcium carbonate	0.55	0.55	0.55
Bentonite	0.55	0.55	0.55
Magnesium oxide	0.165	0.165	0.165
Mineral premix	0.55	0.55	0.55
Vitamin premix	0.55	0.55	0.55
Salt	0.275	0.275	0.275

۱. تیمارها: شاهد (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده بدون جاذب)، ۵ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۵ درصد به- عنوان جاذب) و ۱۰ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۱۰ درصد به عنوان جاذب).

1. Treatments: Control (diet containing corn silage ensiled without absorbent), 5% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 5 % alfalfa hay), 10% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 10 % alfalfa hay).

جدول ۲. ترکیب شیمیایی جیره‌های مورد استفاده در آزمایش

Table 2. Chemical composition of the experimental diets

Chemical composition, % DM or stated otherwise	Treatments <sup>1</sup>			SE M	P- value Treatment
	Control	5% Alfalfa hay	10 % Alfalfa hay		
DM, % fresh weight	45.0	45.2	48.2	2.58	0.67
Crude protein	15.3	15.3	15.4	0.18	0.92
Ether extract	3.2	3.7	3.5	0.39	0.66
Neutral detergent fiber	38.3	36.5	37.4	0.23	0.93
Ash	8.6	8.0	8.7	0.24	0.13
Organic matter	91.4	92.0	91.3	0.27	0.13

۱. تیمارها: شاهد (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده بدون جاذب)، ۵ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۵ درصد به عنوان جاذب) و ۱۰ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۱۰ درصد به عنوان جاذب).

1. Treatments: Control (diet containing corn silage ensiled without absorbent), 5% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 5 % alfalfa hay), 10% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 10 % alfalfa hay).

آماري شامل  $Y_{ijk}$ : متغير وابسته،  $\mu$ : ميانگين كل،  $T_i$ : اثر ثابت تيمار،  $P_j$ : اثر ثابت دوره،  $S_1$ : اثر ثابت مربع،  $C_k$ : اثر تصادفي گاو  $K$  و  $e_{ijkl}$ : اثر اشتباه آزمايشي بود (رابطه ۲).

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad (1)$$

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + S_1 + C_k + e_{ijkl} \quad (2)$$

### نتايج و بحث

مطابق انتظار و در توافقي با آناليزهاي شيميائي ارايه شده در جداول استاندارد احتياجات غذايي گاوهاي شيري (NRC, 2001)، در اين آزمايش علوفه يونجه خشك در مقايسه با علوفه ذرت داراي ADF و پروتئين خام بيشتر و NDF كمترى بود. استفاده از يونجه خشك به عنوان جاذب، به طور چشم گيرى ميزان ماده خشك را در سيلوهاي آزمايشي نسبت به تيمار شاهد، افزايش داد (جدول ۴) ( $P < 0.05$ ). اين نتايج، مطابق با نتايج آزمايشهاي انجام شده پيشين بود كه نشان داده بودند يونجه خشك جاذب مؤثرى براى پساب ذرت سيلوشده در مقياس آزمايشگاهي و كوچك است (Moeinizadeh *et al.*, 2013; Barmaki *et al.*, 2017). سيلوهاي توليد شده همگي داراي pH مطلوب بودند كه نشان دهنده كفايت تخمير در همه سيلوهاي آزمايشي بود.

جدول ۳. تركيب شيميائي علوفههاي ذرت و يونجه خشك مورد استفاده در آزمايش

Table 3 Chemical composition of Corn forage and Alfalfa hay used in the trial

	Crude protein	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber	Ash
Alfalfa hay	12.8	49.0	41.2	8.5
Corn forage	8.7	59.7	37.7	7.1

بيشترين ماده خشك (۲۷ درصد) مربوط به سيلوى حاوى ۱۰ درصد يونجه بود. اين سطح از ماده خشك هم چنان پتانسيل كافي براى حمايت از فعاليت حداكثري باكتريهاي سيلو و كم كردن pH را دارد. سطحى از pH كه مانع از رشد باكتريهاي نامطلوب مى شود به محتوای ماده خشك محصولات سيلوشده بستگي دارد، به طوري كه در خصوص ذرت سيلوشده ماده خشك نزديك ۳۲ درصد جهت رسيدن به يك تخمير مطلوب با حداقل اتلاف مناسب است (NRC, 2001).

در هر دوره رفتار تغذيه اي گاوها شامل مدت (دقيقه در روز) خوردن، نشخوار كردن و استراحت طي ۲۴ ساعت و با مشاهده مستقيم در هر ۵ دقيقه ثبت شد. جهت تعيين قابليت هضم، ابتدا نمونه هاي خوراك، پسمانده و مدفوع در اون با دماي ۶۰ درجه سانتی گراد و به مدت ۴۸ ساعت (برای خوراك و پسمانده) و ۷۲ ساعت (برای مدفوع) خشك شدند. سپس نمونه هاي خشك شده، با آسياب يك ميلي متری آسياب و برای اندازه گيرى خاكسترخام، الياف نامحلول در شوينده اسيدى و شوينده خنثى و همچنين پروتئين خام به روشى كه در بالا ارجاع داده شد، آناليز شيميائي شدند. اندازه گيرى خاكستر نامحلول در اسيد به عنوان نشانگر داخلي قابليت هضم تنها در نمونه خوراك و مدفوع اندازه گيرى شد (Young, 1977; Van Keulen & 1977). غلظت اسيدهاي چرب فرآر نمونه هاي مايع شكمبه با استفاده از دستگاه كروماتوگرافي گازی (مدل GC-PU4410-PHILIPS) با شناساگر FID، ستون PEG ۱۰۰ به طول ۲ متر و قطر ۴۵ ميلي متر، با استفاده از استاندارد ۴- متيل والريك اسيد و برنامه دمايي كه شامل دماي دتكتور ۲۲۰ درجه سانتی گراد، دماي بخش تزريق نمونه ۲۰۰ درجه سانتی گراد و دماي ستون ۱۰۰ درجه سانتی گراد بود، اندازه گيرى شدند (Ottenstein & Bartley, 1971). برای اندازه گيرى نيتروژن آمونياكي مايع شكمبه از دستگاه ميكروپلت ريدير (Biotech, USA) با استفاده از روش فنل هيپوكلرايت (Broderick & Kang, 1980) استفاده شد.

آناليز آماری تركيبات شيميائي در سيلوهاي آزمايشي در قالب طرح كاملاً تصادفي و با استفاده از PROC GLM (نسخه ۹/۰) انجام و مقايسه ميانگينها به روش آزمون چند دامنه اي دانكن انجام شد. در مدل آماری استفاده شده (رابطه ۱):  $Y_{ij}$  مقدار هر مشاهده،  $\mu$  ميانگين صفت مورد مطالعه،  $T_i$  اثر تيمار و  $e_{ij}$  اثر خطاي آزمايشي است. داده هاي مربوط به ماده خشك مصرفي، توليد و تركيب شير، قابليت هضم، فراسنجه هاي خون و فراسنجه هاي شكمبه با استفاده از روش PROC MIXED تجزيه و تحليل شد و مقايسه ميانگينها به روش آزمون توکی و در سطح احتمال ۰/۰۵ خطا انجام شد. از مقايسه هاي متعامد برای بررسی روند خطی و درجه دو اثر تيمارها بر پارامترهاي مورد مطالعه استفاده شد. مدل

جدول ۴. ترکیب شیمیایی علوفه ذرت سیلوشده مورد استفاده در جیره‌های آزمایشی

Table 4. Chemical composition of corn silage used in experimental diets

Parameter (% DM or stated otherwise)	Treatments <sup>1</sup>			SEM	P-value	
	Control	5% Alfalfa hay	10 % Alfalfa hay		Linear	quadratic
DM, % as is	19.0	24.8	26.9	1.63	0.03	0.24
pH	3.90	3.91	3.91	0.05	0.72	0.80
Organic matter	93.3	93.0	92.5	0.32	0.10	0.76
Crude protein	8.1	8.9	9.8	0.46	0.04	0.89
Ammonia-Nitrogen	0.13	0.12	0.12	0.007	0.35	0.97
Water soluble carbohydrates	4.1	2.8	3.7	0.28	0.39	0.01
Neutral detergent fiber	61.7	55.5	54.3	1.68	0.02	0.27
Acid detergent fiber	30.5	31.0	31.5	1.07	0.49	0.99
Ash	6.6	6.9	7.5	0.32	0.10	0.76

۱. تیمارها: شاهد (علوفه ذرت سیلوشده بدون جاذب)، ۵ درصد یونجه (علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۵ درصد) و ۱۰ درصد یونجه (علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۱۰ درصد).

1. Treatments: Control (corn forage ensiled without absorbent), 5% alfalfa hay (corn forage ensiled with 5 % alfalfa hay), 10% alfalfa hay (corn forage ensiled with 10 % alfalfa hay).

است که با افزودن یونجه خشک به ذرت سیلوشده، پساب نیز کاهش می‌یابد (Barmaki et al., 2017). در این آزمایش، ماده خشک و پروتئین خام به ترتیب ۸/۹ و ۱۲/۳ درصد از پساب تولیدی در سیلوی شاهد بود و این مقادیر در سیلوهای حاوی ۵ درصد یونجه، به ترتیب، به ۱۱/۷ و ۱۴/۶ درصد افزایش یافت (جدول ۵). با توجه به کاهش معنی‌دار کل پساب خروجی از سیلوهای حاوی یونجه، می‌توان مشاهده نمود که افزودن یونجه خشک به ذرت سیلوشده می‌تواند تلفات ماده مغذی ناشی از تولید پساب را بسیار کاهش دهد. اثرات جاذب‌های دیگر در کاهش اتلاف پساب و خروج مواد مغذی آن در پژوهش‌های پیشین نیز به اثبات رسیده است (Fransen & Strubi, 1998; Ferris & Mayne, 1994). کل پساب خروجی با فرض خروج پساب به مقداری که در گروه شاهد در این آزمایش مشاهده گردید، برای یک سازه سیلو با ظرفیت ۱۰ هزار تن به بیش از ۳۰۰ هزار لیتر بالغ می‌گردد که با افزودن ۵ و ۱۰ درصد یونجه خشک به عنوان جاذب این مقدار به ترتیب به ۱۶۰ هزار و ۲۰ هزار لیتر کاهش می‌یابد. این کاهش چشمگیر حاکی از مزایای متعدد زیست‌محیطی و اقتصادی افزودن یونجه خشک به عنوان جاذب برای بهبود کیفیت علوفه‌های مصرفی در واحدهای صنعتی کشور بوده و فعالیت ترویجی برای معرفی این راهکار مدیریتی را نتیجه بخش نشان می‌دهد.

مصرف مواد مغذی و قابلیت هضم ماده خشک مصرفی تحت تأثیر جیره و تیمارهای آزمایشی قرار

در این آزمایش، بین سیلوهای آزمایشی از نظر نیتروژن آمونیاکی، مقدار ماده آلی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و خاکستر از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ولی پروتئین خام و NDF به ترتیب به صورت خطی افزایش ( $P < 0.05$ ) و کاهش ( $P < 0.05$ ) یافت. منطقی بود که با افزایش مقدار یونجه در سیلوی ذرت، پروتئین خام سیلوها افزایش یابد چون یونجه نسبت به علوفه ذرت پروتئین خام بیشتری دارد. این نتیجه همسو با نتیجه Barmaki et al. (2017) بود. کاهش NDF سیلوها، ناشی از رقیق شدن الیاف به دلیل کمتر بودن NDF یونجه نسبت به ذرت سیلوشده بود (Moeinizadeh et al., 2013). کربوهیدرات‌های محلول در آب در سیلوهای حاوی ۵ و ۱۰ درصد یونجه خشک مشابه اما در سیلوی حاوی ۵ درصد یونجه نسبت به سیلوی شاهد کمتر بود. لذا کاهش غلظت کربوهیدرات‌های محلول در آب در تیمار حاوی ۵ درصد یونجه خشک احتمالاً به دلیل افزودن یونجه به سیلاژ بود که از نظر کربوهیدرات‌های محلول فقیر است. از طرفی، عدم تغییر غلظت کربوهیدرات‌های محلول در تیمار ۱۰ درصد یونجه می‌تواند به دلیل حذف تقریباً کامل تولید پساب و در نتیجه ابقای کربوهیدرات‌ها در داخل سیلو در این تیمار باشد که اثر رقیق‌کنندگی یونجه در تولید پساب را تا حدی برطرف نموده است.

تولید پساب از علوفه سیلوشده نشان‌دهنده از دست دادن ماده خشک سیلو و کاهش ارزش غذایی آن است (Gebrehanna et al., 2014). گزارش شده

شیردهی در این آزمایش باشد که احتمالاً تفاوت تیمارهای آزمایشی در افزایش وزن از خود بروز می‌دهند (Weimer *et al.*, 1971). با این حال تغییر وزن دامها در این مطالعه اندازه‌گیری نشد.

جدول ۸ نشان می‌دهد که مدت زمان جویدن تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، اما زمان جویدن به ازای هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی با افزایش سطح جاذب به صورت خطی کاهش یافت ( $P < 0.05$ ) این کاهش در تیمارهای حاوی ۵ و ۱۰ درصد یونجه خشک ناشی از کاهش مدت زمان نشخوارکردن بود، چون زمان خوردن بین تیمارها مشابه اما زمان فعالیت نشخوار و مدت نشخوار به ازای هر واحد ماده خشک مصرفی با افزایش جاذب به صورت خطی کم شد ( $P < 0.01$ ). این نتیجه هم راستا با استدلال فوق مبنی بر هیدرولیز اسیدی بخشی از الیاف یونجه در مدت ذخیره در سیلو بود که می‌تواند ضمن افزایش پتانسیل هضم الیاف آن در شکمبه باعث افزایش سرعت خروج مواد و در نتیجه کاهش مقدار الیاف مؤثر موجود در شکمبه برای تحریک فعالیت نشخوار گردد.

در این آزمایش، غلظت گلوکز خون بین تیمارهای آزمایشی تفاوتی نداشت. هم‌چنین، pH شکمبه و نیتروژن آمونیاکی و نیز غلظت اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت (جدول ۱۰). نتایج گلوکز خون و فراسنجه‌های شکمبه‌ای همسویی قابل قبولی با نتایج عملکردی داشت. با این حال غلظت نیتروژن اوره‌ای خون یک پاسخ درجه دوم به افزودن جاذب یونجه در سیلوه‌ها نشان داد که طی آن گاوهای تغذیه‌شده با تیمارهای دارای جاذب نسبت به گروهی که از سیلوه‌های بدون یونجه خشک استفاده کرده بودند، نیتروژن اوره‌ای بیشتری در خون داشتند.

نگرفت. اما با افزایش سطح استفاده از یونجه به‌عنوان جاذب، قابلیت هضم ماده آلی جیره به صورت خطی افزایش یافت (جدول ۶). با توجه به اینکه جیره‌های آزمایشی از نظر درصد یونجه مشابه بودند و تنها تفاوت در روش استفاده از یونجه در جیره بود، لذا افزایش قابلیت هضم ماده آلی را می‌توان به نحوه مصرف یونجه به صورت افزوده شده به سیلاژ ذرت نسبت داد. از آن جا که قابلیت هضم پروتئین خام بین جیره‌ها مشابه بود، می‌توان این‌طور فرض کرد که افزایش قابلیت هضم ماده آلی در جیره‌های حاوی ذرت سیلوشده با یونجه ناشی از بهبود هضم الیاف باشد. به نظر می‌رسد که الیاف یونجه و به واسطه زمان کافی ماندن در سیلو تحت اثر هیدرولیز اسیدی محیط سیلو متحمل پیش‌هضم شده است (Morrison, 1979). هم‌سو با نتایج آزمایش حاضر، محققین گزارش نمودند که سیلو کردن علوفه یونجه سبب افزایش قابلیت هضم ظاهری NDF (Broderick & Kang, 1995) و افزایش نرخ تجزیه‌پذیری ماده خشک و کاهش زمان ماندگاری در شکمبه در مقایسه با یونجه خشک می‌شود (Satter & Nelson, 1992).

افزودن یونجه خشک به ذرت سیلوشده اثری، بر تولید شیر و ترکیبات شیر نداشت (جدول ۷) که احتمالاً به دلیل ماده خشک مصرفی مشابه و ترکیب شیمیایی یکسان بین تیمارها بود. در یک آزمایش، جایگزینی یونجه خشک با سیلاژ یونجه تأثیر معنی‌داری بر شیر تصحیح شده برای ۴ درصد چربی و نیز پروتئین شیر گاوهای شیرده نداشت (Aghaziarati *et al.*, 2013). تشابه عملکرد شیردهی گاوهای آزمایش بین تیمارها هم‌چنین می‌تواند به دلیل دوره‌های کوتاه آزمایشی و یا استفاده از گاوهای اواخر

جدول ۵. اثر افزودن یونجه خشک به‌عنوان جاذب پساب در ذرت سیلو شده بر پساب تولیدی و ترکیب شیمیایی آن  
Table 5. The effects of adding alfalfa hay as a moisture bsorbent in corn silage on effluent production and its chemical composition

Parameter	Treatments <sup>1</sup>		
	control	5 % Alfalfa hay	10 % Alfalfa hay
Effluent production , L	92	48	6
Effluent production, % fresh weight	5.1	0.8	0.1
Effluent DM, %	8.9	11.7	-
Effluent crude protein, % DM	12.3	14.6	-

۱. تیمارها: شاهد (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده بدون جاذب)، ۵ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۵ درصد به عنوان جاذب) و ۱۰ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۱۰ درصد به عنوان جاذب).

1. Treatments: Control (diet containing corn silage ensiled without absorbent), 5% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 5 % alfalfa hay), 10% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 10 % alfalfa hay).

جدول ۶. مصرف و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در گاوهای شیری تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

Table 6. Intake and apparent digestibility of nutrients in cows fed experimental rations

Parameter	Treatments <sup>1</sup>			SEM	P- value	
	Control	5 % Alfalfa hay	10 % Alfalfa hay		Linear	quadratic
Dry matter intake, kg/day	19.3	19.0	20.1	1.18	0.43	0.44
Organic matter intake, kg/day	17.6	17.5	18.3	0.71	0.43	0.55
Crude protein intake kg/day	2.9	2.9	3.1	0.12	0.39	0.4
Apparent total tract digestibility, %						
Dry matter	60.6	69.6	67.9	2.23	0.11	0.15
Organic matter	52.7	58.7	59.1	1.20	0.03	0.11
Crude protein	61.3	63.7	64.8	1.49	0.14	0.66

۱. تیمارها: شاهد (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده بدون جاذب)، ۵ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۵ درصد به عنوان جاذب) و ۱۰ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۱۰ درصد به عنوان جاذب).

1. Treatments: Control (diet containing corn silage ensiled without absorbent), 5% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 5 % alfalfa hay), 10% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 10 % alfalfa hay).

جدول ۷. تولید و ترکیبات شیر در گاوهای شیری تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

Table 7. Milk production and composition in cows fed experimental rations

Parameter	Treatments <sup>1</sup>			SEM	P- value	
	Control	5 % Alfalfa hay	10 % Alfalfa hay		Linear	quadratic
Milk production, kg/d	30.4	30.9	29.5	1.72	0.47	0.42
4% Fat corrected milk <sup>2</sup> , kg/d	24.5	24.3	22.9	1.61	0.51	0.77
Energy corrected milk <sup>3</sup> , kg/d	27.7	27.3	26.1	1.67	0.47	0.81
Milk production efficiency	1.63	1.67	1.47	0.12	0.11	0.14
4% Fat corrected milk production efficiency	1.29	1.26	1.18	0.06	0.36	0.78
Milk protein, %	3.26	3.17	3.12	0.06	0.25	0.83
Milk fat, %	2.76	2.67	2.43	0.33	0.53	0.87

۱. تیمارها: شاهد (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده بدون جاذب)، ۵ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۵ درصد به عنوان جاذب) و ۱۰ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۱۰ درصد به عنوان جاذب).

۲. شیر تصحیح شده برای ۴٪ چربی = (کیلوگرم شیر تولیدی × ۴۰) + (کیلوگرم چربی در شیر تولیدی × ۱۵)؛ (Gaines, 1928).

۳. شیر تصحیح شده برای انرژی = (کیلوگرم شیر تولیدی × ۳۲۷) + (کیلوگرم چربی تولیدی در شیر × ۹۵) + (کیلوگرم پروتئین تولیدی در شیر × ۲)؛ (Defraín et al., 2006).

1. Treatments: Control (diet containing corn silage ensiled without absorbent), 5% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 5 % alfalfa hay), 10% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 10 % alfalfa hay).

2. Fat corrected milk 4% = [(0.4 × kg milk) + (15 × kg fat)]; (Gaines, 1928).

3. Energy corrected milk = [(0.327 × kg milk) + (12.95 × kg fat) + (7.2 × kg protein)]; (Defraín et al., 2006).

جدول ۸. اثر جیره‌های آزمایشی بر فعالیت جویدن در گاوها

Table 8. Chewing behavior of cows fed the experimental diets

Parameter	Treatments <sup>1</sup>			SEM	P- value	
	Control	5 % Alfalfa hay	10 % Alfalfa hay		Linear	quadratic
Chewing, min/d	913.4	838.9	812.5	37.2	0.11	0.53
Eating, min/d	378.9	369.7	355.2	30.85	0.55	0.93
Rumination, min/d	533.8	467.8	459.5	17.85	0.009	0.04
Min/kg of DM intake						
Chewing	46.1	41.7	341	1.44	0.01	0.32
Eating	19.1	18.4	14.8	1.5	0.1	0.39
Ruminating	26.9	23.0	19.4	0.93	0.01	0.84

۱. تیمارها: شاهد (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده بدون جاذب)، ۵ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۵ درصد به عنوان جاذب) و ۱۰ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۱۰ درصد به عنوان جاذب).

1. Treatments: Control (diet containing corn silage ensiled without absorbent), 5% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 5 % alfalfa hay), 10% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 10 % alfalfa hay).

جدول ۹. اثر افزودن یونجه خشک به عنوان جاذب رطوبت در علوفه ذرت سیلوشده بر فراسنجه‌های خون

Table 9. The effects of adding alfalfa hay as effluent bsorbent in corn silage on blood metabolites

Parameter	Treatments <sup>1</sup>			SEM	P- value	
	Control	5 % Alfalfa hay	10 % Alfalfa hay		Linear	quadratic
Glucose (Mean), mg.dL	42.9	43.5	40.3	2.13	0.23	0.29
2 h after feeding	41.1	39.7	41.1	1.52	0.95	0.40
4 h after feeding	42.1	46.1	43.2	3.64	0.77	0.38
Urea-nitrogen (Mean), mg.dL	8.6	9.9	9.4	1.14	0.58	0.02
2 h after feeding	8.5	9.9	9.2	1.30	0.66	0.43
4 h after feeding	9.3	9.3	9.5	1.19	0.90	0.74

۱. تیمارها: شاهد (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده بدون جاذب)، ۵ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۵ درصد به عنوان جاذب) و ۱۰ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۱۰ درصد به عنوان جاذب).

1. Treatments: Control (diet containing corn silage ensiled without absorbent), 5% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 5 % alfalfa hay), 10% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 10 % alfalfa hay).



جدول ۱۰. اثر افزودن یونجه خشک به عنوان جاذب رطوبت در علوفه ذرت سیلوشده بر فراسنجه‌های تخمیری شکمبه

Table 10. The effects of adding alfalfa hay as effluent bsorbent in corn silage on rumen fermentation variables

Parameter	Treatments <sup>1</sup>			SEM	P- value	
	Control	5 % Alfalfa hay	10 % Alfalfa hay		Linear	quadratic
pH	6.2	6.1	6.1	0.07	0.66	0.76
NH <sub>3</sub> -Nitrogen, mg.dL	9.03	11.3	9.7	1.65	0.72	0.3
Total volatile fatty acids, mmol.L	88.7 <sup>b</sup>	101.9 <sup>a</sup>	86.3 <sup>b</sup>	2.88	0.47	0.02
Acetate, mmol.L	48.9	56.0	46.7	1.49	0.45	0.12
Propionate+Isobutyrate, mmol.L	20.4	23.4	19.5	1.07	0.49	0.06
Butyrate, mmol.L	14.5	18.0	16.8	1.9	0.34	0.29
Isovalerate, mmol.L	3.1	3.3	2.4	0.26	0.14	0.14
Valerate, mmol.L	1.3	1.5	1.1	0.07	0.07	0.05

۱. تیمارها: شاهد (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده بدون جاذب)، ۵ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۵ درصد به عنوان جاذب) و ۱۰ درصد یونجه (جیره حاوی علوفه ذرت سیلوشده با یونجه خشک در سطح ۱۰ درصد به عنوان جاذب).

1. Treatments: Control (diet containing corn silage ensiled without absorbent), 5% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 5 % alfalfa hay), 10% alfalfa hay (diet containing corn silage ensiled with 10 % alfalfa hay).

### نتیجه‌گیری

افزودن یونجه خشک در سطوح ۵ و ۱۰ درصد وزن تر ذرت سیلوشده، توانست پساب سیلوهای زمینی را به شدت کاهش دهد بدون این که اثر منفی بر خصوصیات تخمیر ذرت سیلوشده داشته باشد. به علاوه، اضافه کردن یونجه خشک اثر منفی بر عملکرد گاوهای شیری نداشت و قابلیت هضم ظاهری الیاف و در نتیجه ماده آلی را افزایش داد. افزودن یونجه خشک به ذرت سیلوشده برای کاهش پساب و جلوگیری از اتلاف ماده خشک و مواد مغذی سیلو به دامداران توصیه می‌شود. با کاهش پساب تولیدی و حفظ ماده خشک سیلو، زیان اقتصادی حاصل از تلفات پساب نیز کاهش یافته و در نتیجه سود خالص تولید افزایش می‌یابد.

این نتیجه ممکن است به این دلیل بوده باشد که بخشی از پروتئین حقیقی موجود در یونجه طی دوره تخمیر سیلو تحت تأثیر پروتئولیز قرار گرفته و در نتیجه در شکمبه با سرعت بیشتری در معرض هضم قرار گرفته و به آمونیاک تبدیل شده است (Plazier, 2004; Khadem et al., 2017). نمونه‌های مایع شکمبه در این آزمایش سه ساعت پس از تغذیه اخذ شد درحالی‌که آنالیز داده‌های نیتروژن اورهای خون حاکی از تفاوت بین تیمارها در ساعت دو پس از تغذیه بود که دلالت بر آن دارد که در صورتی که از یک بار نمونه‌گیری برای رصد تغییرات آمونیاک شکمبه استفاده می‌شود، احتمالاً باید زودتر از ساعت سه پس از تغذیه باشد. شواهد قبلی نیز ثابت کرده‌اند که اوج نیتروژن اورهای در خون دو ساعت پس از تغذیه است (Sosa et al., 2010).

### REFERENCES

1. Aghaziarati Farahani, N., Amanlou, H., Mansouri, H., Mirzaei, H. R. & Mostafa Tehrani, A. (2013). Effect of replacing alfalfa hay with alfalfa silage in high performance dairy cattle diets. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 5(4), 335-343. (in Farsi)
2. Association of Official Analytical Chemists. (1990). Official methods of analysis. (17<sup>th</sup> Ed.), AOAC, Washington, DC.
3. Barmaki, S., Alamouti, A. A., Khadem, A. A. & Afzalzadeh, A. (2017). Effectiveness of chopped Lucerne hay as a moisture absorbent for low dry-matter maize silage: Effluent reduction, fermentation quality and intake by sheep. *Grass and Forage Science*, 73 (2), 406-412.
4. Broderick, G. & Kang, J. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *Journal of Dairy Science*, 63, 64-75.
5. Defraín, J. M., Hippen, A. R., Kalscheur, K. F. & Schingoethe, D. J. (2006). Feeding lactose to increase ruminal butyrate and the metabolic status of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 267-276.
6. Dubois, M. K. A., Gilles, J. K. Hamilton, P., Rebers, A. & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350-356.
7. Fransen, S. C. & Strubi, F. J. (1998). Relationships among absorbents on the reduction of grass silage effluent and silage quality. *Journal of Dairy Science*, 81, 2633-2644.
8. Ferris, C. P. & Mayne, C. S. (1994). The effects of incorporating sugar-beet pulp with herbage at ensiling on silage fermentation, effluent output and in-silo losses. *Grass and Forage Science*, 49(2), 216-228.

9. Gaines, W.L. (1928). The Energy basis of measuring milk yield in dairy cows. University of Illinois, USA.
10. Graves, R. E. & Vanderstappen, P. J. (1993). Environmental problems with silage effluent: silage production from seed to animal. In: Proceedings of *national silage production conference*, Syracuse, NY, Northeast Region Agricultural Engineering Series, Cooperative Extension, Cornell University, pp. 291-299.
11. Gebrehanna, M. M. Gordon, R. J., Madani, A., VanderZaag, A. C. & Wood, J. D. (2014). Silage effluent management: A review. *Environmental Management*, 143, 113-122.
12. Haigh, P. M. (1998). Incorporation of straw with grass at ensilage. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 70, 383-388.
13. Haerr, K. J., Lopes, N. M., Pereira, M. N., Fellows, G. M. & Cardoso, F. C. (2015). Corn silage from corn treated with foliar fungicide and performance of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 98, 1-11
14. Khadem, A. A., Sharifi, M., Afzalzadeh, A. & Rezaeian, M. (2009). Effects of diets containing alfalfa hay or barley flour mixed alfalfa silage on feeding behavior, productivity, rumen fermentation and blood metabolites in lactating cows. *Journal of Animal Science*, 80(4), 403-410.
15. Khorvash, M., Colombatto, D., Beauchemin, K. A., Ghorbani, G. R. & Samei, A. (2005) Use of absorbant and inoculants to enhance the quality of corn silage. *Canadian Journal of Animal Science*, 86, 97-107.
16. Mc Donald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A. & Wilkinson, R. G. (2010). *Animal nutrition seventh edition*.
17. Ministry of Agriculture., Fisheries and Food (MAFF). (1986). *The Analysis of Agriculture Materials, ADAS Refrence book 427*. United Kingdom; MAFF Publications, London.
18. Moeiniazadeh, S., Khadem, A. A., Assadi Alamouti, A. & Afzalzade, A. (2013). Effects of addition of alfalfa hay as an absorbant on fermentation quality and effluent loss in corn silage. *Journal of Animal Production*, 15(1), 31-43. (in Farsi)
19. Morrison, M. (1979). Changes in the cell wall components of laboratory silages and the effect of various additives on these changes. *The Journal of Agricultural Science*, 93, 581-586.
20. Nelson, W. F. & Satter, L. D. (1992). Impact of stage of maturity and method of preservation of alfalfa on digestion in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 75, 1571-1580.
21. Offer, N. W. & Al-Rwidah, M. N. (1989). The use of absorbent materials to control effluent loss from grass silage: experiments with drum silos. *Research and Development in Agriculture*, 6, 71 – 76.
22. Ottenstein, D. M. & Bartley, D. A. (1971). Improved gas chromatography separation of free acids c2-c5 in dilute solution. *Analytical Chemistry*, 43, 952-955.
23. Plaizier, J. C. (2004). Replacing chopped alfalfa hay with alfalfa silage in barley grain and alfalfa-based total mixed rations for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87(8), 2495-2505.
24. Salo, M. L. & Sormunsen, R. (1974). Sugar beet tops and beet top silage: 2. Losses during ensiling and binding of effluent. *The Journal of the Scientific Agricultural Society*, 46, 97-102.
25. Salo, M. L. (1978). Ensiling, preservation losses and effluent binding of sugar beet tops. *The Journal of the Scientific Agricultural Society*, 50, 297-304.
26. Sosa, I., Leyton, L., Corea, E. & Elizondo-Salazar, J. (2010). Correlation between Milk and Blood Urea Nitrogen in High and Low Yielding Dairy Cows. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 43, 79-82.
27. Van Keulen, J. & Young, B. A. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44, 282-289.
28. Van Soest, P. J., Robertson, J. B. & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583-3597.
29. Weimer, P. M., Henry, F. T. & William, P. F. (1971). Energetics of body tissue mobilization. *Journal of Dairy Science*, 54, 548-553.