

Utjecaj dodatka aditiva na *ad libitum* konzumaciju, *in vivo* probavljivost i balans dušika sjenaže lucerne

Mladen Knežević*, Marina Vranić, Krešimir Bošnjak,
Josip Leto, Goran Perčulija, Hrvoje Kutnjak, Ivana Matić

Centar za travnjaštvo, Zavod za specijalnu proizvodnju bilja,
Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska cesta 25, Zagreb

Prispjelo - Received: 14.04.2009.
Prihvaćeno - Accepted: 09.07.2009.

Sažetak

Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj dodatka aditiva "Sill All" na *ad libitum* konzumaciju, *in vivo* probavljivost i balans dušika sjenaže od lucerne. Lucerna je silirana u fenološkoj fazi cvatnje oko 40% biljaka u bale ovijene plastičnom folijom bez dodatka aditiva ili s dodatkom aditiva u količini od 2 L t⁻¹ biljne mase. Nisu utvrđene statistički značajne razlike između lucerne silirane bez aditiva i lucerne silirane s dodatkom aditiva u udjelu suhe tvari (ST) (632 g i 631 g ST kg⁻¹ svježeg uzorka, respektivno). Lucerna silirana bez aditiva sadržavala je 921 g organske tvari (OT) kg⁻¹ ST, što je bilo statistički značajno više ($P<0,001$) u odnosu na lucernu siliranu s dodatkom aditiva (902 g OT kg⁻¹ ST). Lucerna silirana bez aditiva sadržavala je 141 g sirovih proteina (SP) kg⁻¹ ST, što je bilo statistički značajno više ($P<0,001$) u odnosu na lucernu siliranu s aditivom (139 g SP kg⁻¹ ST). Lucerna silirana s aditivom sadržavala je statistički značajno manje kiselih detergent vlastaka (KDV) ($P<0,001$) u odnosu na lucernu siliranu bez aditiva (445 g kg⁻¹ ST i 456 g kg⁻¹ ST, respektivno) i nižu pH-vrijednost ($P<0,001$) (5,29 i 5,56 respektivno). Nisu utvrđene statistički značajne razlike između ispitivanih hranidbenih tretmana u *ad libitum* konzumaciji svježeg obroka, ST obroka, u mjerenim parametrima probavljivosti, niti u balansu N. Zaključeno je da je u ovom istraživanju dodatak aditiva sjenaži lucerne doveo do značajnih promjena kemijskog sastava, ali promjene kemijskog sastava nisu utjecale na mjerene biološke parametre (*ad libitum* konzumaciju, *in vivo* probavljivost i balans dušika).

Ključne riječi: sjenaža lucerne, aditiv, *ad libitum* konzumacija, *in vivo* probavljivost, balans N

Uvod

U usporedbi s travama, mahunarke imaju veći sadržaj sirovih proteina (SP), veću koncentraciju organskih kiselina i više minerala, ali niži udio suhe tvari (ST), ugljikohidrata topivih u vodi i visoki puferni kapacitet (McDonald, 1991.; Castle i sur., 1983.), pa im je za poželjan tijek fermentacije potrebno dodati neki od aditiva. Korištenje aditiva bazira se na pretpostavci da na siliranom supstratu u prirodnim uvjetima neće doći do dovoljno

brze proizvodnje dovoljnih količina mlječne kiseline. Tengerdy i sur. (2008.) silirali su provenutu i neprovenutu lucernu s dodatkom aditiva koji su sadržavali bakterije mlječno-kiselinskog vrenja i enzime. Nakon 90 dana od početka siliranja, povećana je *in vivo* probavljivost vlastaka lucerne silirane bez provenjavanja, ali ne i silirane provenute lucerne. Najefikasnijim se pokazao enzimatski tretman koji se sastojao od kombinacije celulaze, hemicelulaze, pektinaze i bakterija mlječno-kiselinskog vrenja iz rodova *Pediococcus*, *Lactobacillus* i *Streptococcus*.

* Dopisni autor/Corresponding author: Tel./Phone: +385 1 2393 939; E-mail: knezevic@agr.hr

Mader i sur. (1985.) silirali su lucernu na početku cvatnje (udio ST 35 %) s dodatkom aditiva. Aditiv je pospješio anaerobnu fermentaciju, povećao in vitro probavljivost ST (sa 57 % kod netretirane lucerne na 60,6 % kod tretirane), povećao kiselost silaže (sa 4,98 na 4,83 kod tretirane silaže), ali nije utjecao na dnevne priraste, konzumaciju i konverziju hrane u hranidbi junica. Utjecaj dodatka aditiva celulaze i hemicelulaze na sadržaj neutralnih detergent vjakana (NDV) u travnoj silaži spremljenoj od klupčaste oštice (*Dactylis glomerata*) istražili su Nadeau i sur. (2000.). Primjenom 20 mL celulaze kg⁻¹ travne mase 30 % je smanjena količina NDV. Ovi aditivi povećavaju opskrbu bakterija ugljikohidratima topivim u vodi, čime se proizvodi više mlijecne kiseline pa je silaža bolje konzervirana. Osim toga, razgrađuju staničnu stijenku silirane krme pa je ona probavljivija. Probavljivost silaže utječe na konzumaciju i proizvodne karakteristike muznih krava, naime, visoko probavljiva i dobro konzervirana silaža više se konzumira, podržava veću proizvodnju mlijeka i povećava sadržaj proteina mlijeka (Bosh i sur., 1992.; Cushnahan i sur., 1996.). Hipoteza istraživanja bila je da silirana lucerna s dodatkom aditiva sadržava veću kiselost, više SP, manje KDV, manji udio amonijskog dušika (NH₃-N), pruža veću ad libitum konzumaciju, bolju probavljivost i veći balans dušika u odnosu na sjenažu lucerne silirane bez dodatka aditiva. Cilj istraživanja bio je utvrditi *ad libitum* konzumaciju, *in vivo* probavljivost i balans dušika sjenaže lucerne silirane bez dodatka aditiva i s dodatkom aditiva u hranidbi kastriranih ovnova.

Materijal i metode rada

Sjenaža lucerne

Lucerna je košena u trenutku cvatnje oko 40 % biljaka. Pokošena biljna masa provenuta je na tlu do sadržaja ST oko 50 %, te prešana u valjkaste bale promjera 125 cm prešom "John Deere" tip 575. Aditiv Sill All koji se sastoji od 4 vrste bakterija (*Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus salivarius*) i 4 vrste enzima (celulaza, hemicelulaza, pektinaza i amilaza) razrijeđen je u vodi (10 grama aditiva razrijeđeno je u 2 litre vode) i ravnomjerno raspršivan po krmi pri likom baliranju u količini od 2 litre t⁻¹ biljne mase.

Bale su omatane mrežom širine 1,2 m a zatim sa 4 sloja plastične folije 50 cm širine i 0,025 mm debljine, te ostavljene fermentirati u natkrivenu pros-

toru Centra za travnjaštvo na Sljemenu. Za potrebe provedbe istraživanja odvojene su 4 bale prosječne mase 600 kg.

Hranidbeni tretmani

Istraživana su ukupno 2 hranidbena tretmana, silirana lucerna bez dodatka aditiva i silirana lucerna s dodatkom aditiva. Sjenaža lucerne sjeckana je na 3-5 cm dužine korištenjem sječkare. Sjeckani materijal za idući tjedan dana hranidbe utiskivan je u plastične vreće (oko 20 kg sjenaže po vreći) i do korištenja uskladišten na temperaturi od 4 °C.

Pokusne životinje

U pokusu su korištena 4 kastrirana ovna charolais pasmine u dobi od oko 18 mjeseci i tjelesne mase oko 43,5 kg (39,5 kg-47,5 kg). Životinje su tretirane protiv internih i eksternih parazita prije početka pokusa. Temperatura pokusnog prostora održavana je na 15 °C, osigurano je svjetlo u razdoblju od 8,00-20,00 sati, kao i stalna ventilacija. Nakon 10 dana adaptacije na hranu uslijedilo je praćenje konzumacije hrane po volji tijekom 4 dana, a nakon toga probavljivosti tijekom 7 dana.

Tijekom razdoblja adaptacije na hranu životinje su bile smještene u individualnim boksovima (1,5 m x 2,2 m), a tijekom razdoblja mjerjenja konzumacije hrane *ad libitum*, probavljivosti i balansa N u individualnim kavezima (136 cm x 53 cm x 148 cm). Hrana im je davana dvaput dnevno (8:30 i 16:00 h) u jednakim količinama, prilagođenima da se svaki dan osigura ostatak hrane 10-15 % od ponuđene količine. Tijekom razdoblja mjerjenja dnevno je utvrđivana količina ponuđene hrane i ostataka hrane, količina izlučenog feca i urina. Uzorci ponuđene hrane, ostataka hrane, feca i urina uskladišteni su na 4 °C do kraja svakog od 4 razdoblja pokusa, kada su uskladišteni na temperaturi od -20 °C do provođenja kemijskih analiza.

Tjelesna masa životinja utvrđivana je vaganjem nultoga, desetoga, četrnaestoga i dvadeset i prvog dana svakog od ukupno četiri razdoblja. Životinje su vagane elektronskom vagom (TRU-TEST Ltd, Model 703B).

Kemijske analize

Udio ST (g kg⁻¹ svježeg uzorka) utvrđivan je sušenjem uzorka u sušioniku s ventilatorom (ELE International) na temperaturi od 60 °C do

konstantne mase uzorka. Ovako osušeni uzorci samljeveni su na veličinu čestica od 1 mm, i to korištenjem mlina čekićara (Christy, Model 11) i dalje korišteni za provođenje kemijskih analiza. Laboratorijska ST utvrđivana je sušenjem 5 grama uzorka na temperaturi od 105 °C kroz 4 sata (ISO 6496).

Udio organske tvari (OT) (g kg^{-1} ST) utvrđivan je spaljivanjem cca 5 grama uzorka u peći za spaljivanje tvrtke Nabertherm na temperaturi od 550 °C tijekom 3 sata (ISO 5984). Udio N utvrđivan je metodom po Kjeldahlu (ISO 5983), korištenjem jedinice za razaranje i automatske jedinice za destilaciju/titraciju uzorka (Gerhardt). Udio SP u uzorku dobiven je množenjem sadržaja N s faktorom 6,25. pH-vrijednost određivana je u ekstraktu dobivenom od oko 10 grama sveže silaže i 100 mL destilirane vode korištenjem pH-metra 315i tvrtke WTW.

Udio kiselih detergent vlakana (KDV) utvrđivan je prema metodi Van Soesta i sur. (1991.), kuhanjem uzorka u neutralnom i kiselim detergentu. Amonijski dušik ($\text{NH}_3\text{-N}$ g kg^{-1} ukupnog dušika) utvrđen je metodom prema Bremneru i Keeneju (1965.). *Ad libitum* konzumacija obroka, *in vivo* probavljivost i balans dušika utvrđivani su kako je već opisano (Knežević i sur., 2007.; Vranić i sur., 2008.).

Statističke analize

Dobiveni podaci obrađeni su u statističkom programu SAS (SAS Institut, 1999.) korištenjem GLM i MIXED procedure.

Rezultati i rasprava

U tablici 1 prikazan je prosječan kemijski sastav sjenaže lucerne silirane bez dodatka aditiva i s dodatkom aditiva.

Sjenaža lucerne silirana bez dodatka aditiva i sjenaža lucerne silirana s dodatkom aditiva dobro su provenute na tlu prije baliranja i sadržavale su sličan udio ST (tablica 1). Kao preporučeni udio ST za sjenažu lucerne navodi se 400-500 g kg^{-1} svježeg uzorka (Frame i sur., 1988.). Biljka lucerne znatno brže gubi vlagu iz lisne mase u odnosu na stabljike, pa su pri odgođenom prosušivanju na tlu mogući značajni gubici hranjiva zbog osipanja lisne mase. Ovisno o primjenjenoj tehnologiji i vremenskim prilikama, gubici prinosa ST lucerne mogu iznositi do 40 %, što je dvostruko više u odnosu na gubitke prinosa ST kod proizvodnje livadnog sijena (Nash, 1985.).

Utvrđeni udjeli SP u sjenaži lucerne silirane bez dodatka aditiva i sjenaži lucerne silarane s dodatkom aditiva (tablica 1) uklapaju se u široki raspon udjela SP u lucerni od 129 do 324 g kg^{-1} ST, ali su niži od prosječnog sadržaja SP od 193 g kg^{-1} ST koji u istraživanju navode Frame i sur. (1998.). Jedan od razloga je košnja lucerne kada se u fazi cvatnje nalazi oko 40 % biljaka, a za proizvodnju visokokvalitetne krme preporučena je košnja kada se u fazi cvatnje nalazi oko 10 % biljaka (Sheaffer i sur., 1988.). Osim toga, odgođeno provenjavanje lucerne na tlu prije baliranja uzrokovalo je gubitak lisne mase i

Tablica 1: Prosječan kemijski sastav sjenaže lucerne (g kg^{-1} ST)

Table 1: The average chemical composition of alfalfa haylage (g kg^{-1} DM, unless otherwise stated)

Kemijski parametar Chemical parameter	Sjenaža lucerne/Alfalfa haylage		SEM	Sig.
	Lucerna bez aditiva Alfalfa without additive	Lucerna s aditivom Alfalfa with additive		
Suha tvar (g kg^{-1} svježeg uzorka) Dry matter (g kg^{-1} fresh weight)	632	631	7,23	NS
Organjska tvar/Organic matter	921 ^a	902 ^b	3,12	***
Sirovi proteini/Crude proteins	141 ^a	139 ^b	0,39	***
KDV/ADF	456 ^a	445 ^b	2,81	***
pH	5,56 ^a	5,29 ^b	0,02	**
$\text{NH}_3\text{-N}$ (g N kg^{-1} total N)	91,4	95,5	1,95	NS

KDV, kisela detergent vlaknina/^{ab}Vrijednosti u redovima označene različitim slovima signifikantno su različite (***, P<0,001), NS, P>0,05. SEM, standardna greška srednje vrijednosti

ADF, acid detergent fibre. ^{ab}Values within the same row with different superscripts differ significantly (***, P<0,001), NS, P>0,05. SEM, standard error of the mean

smanjenje kvalitete krme u smislu smanjenog udjela SP.

Tretirana sjenaža lucerne sadržavala je statistički značajno manji udio SP ($P<0,001$) u odnosu na netretiranu sjenažu lucerne. Navedeno je vjerojatno rezultat pojačane proteolize sjenaže lucerne silirane s dodatkom aditiva koja je rezultirala relativnim povećanjem udjela $\text{NH}_3\text{-N}$, ali ne i statistički značajnog, u odnosu na sjenažu lucerne siliranu bez dodatka aditiva. Isto se potkrjepljuje rezultatima istraživanja Charbela i sur. (2005.) koji navode da aditivi mogu pojačati proteolizu u siliranom biljnog materijalu, što se odražava smanjenim udjelom proteina i povećanim sadržajem neproteinskog dušika u silazi.

Sjenaža lucerne silirana s dodatkom aditiva sadržavala je statistički značajno manje KDV ($P<0,001$) u odnosu na sjenažu lucerne siliranu bez dodatka aditiva. Aditiv "Sill All" sadržava enzime celulazu i hemicelulazu. Utjecaj dodatka aditiva celulaze i hemicelulaze na sadržaj NDV i KDV

u travnoj silazi spremljenoj od klupčaste oštice istražili su Nadeau i sur. (2000.), koji su primjenili 20 mL celulaze kg^{-1} travne mase te utvrdili 30 %-tno smanjenje NDV-a. Ovi aditivi razgrađuju staničnu stijenku silirane krme i povećavaju opskrbu bakterija ugljikohidratima topivima u vodi, čime se proizvodi više mlijecne kiseline pa je silaža bolje konzervirana. Usporedno se smanjuje udio vlakana u silazi, a taj je efekt dobiven i u ovom istraživanju. Isto tako, u istraživanju Jonesa (1992.) sadržaj KDV-a u silazi engleskog ljlja tretiranog aditivom "Sill All" bio je niži od sadržaja KDV-a u netretiranoj silazi, što također upozorava na pojačanu hidrolizu biljnih stijenki zbog enzimatske aktivnosti u tretiranoj silazi.

Pozitivan utjecaj dodatka enzima koji razgrađuju stanične stijenke kod siliranja provenute biljne mase može se očitovati u vidu povećanja zbijenosti biljne mase u silosu, što kod siliranja slabo provenute ili neprovenute biljne mase može povećati gubitke hraničiva zbog većeg ocjeđivanja silažnog soka.

pH-vrijednost značajan je parametar utvrđivanja

Tablica 2: *Ad libitum* konzumacija, *in vivo* probavljivost i balans N sjenaže lucerne silirane bez dodatka aditiva i s dodatkom aditiva

Table 2: Voluntary intake, *in vivo* digestibility and N balance of alfalfa haylage ensiled without and with an additive

Parametar Parameter	Silaza lucerne/Alfalfa haylage		SEM	Sig.
	Lucerna bez aditiva Alfalfa without additive	Lucerna s aditivom Alfalfa with additive		
Konzumacija po volji/Voluntary intake				
Svježe/Fresh (kg d ⁻¹)	2,89	2,86	0,95	NS
Svježe/Fresh (g kg ⁻¹ M ^{0,75} d ⁻¹)	105	103	2,86	NS
Suha tvar/Dry matter (kg d ⁻¹)	1,81	1,82	0,42	NS
Suha tvar/Dry matter (g kg ⁻¹ M ^{0,75} d ⁻¹)	66	65	1,37	NS
Probavljivost/Digestibility (g kg⁻¹ ST/DM)				
Suha tvar/Dry matter	515	499	13,00	NS
Organska tvar/Organic matter	533	518	13,98	NS
D-vrijednost/D-value	489	468	13,59	NS
Sirovi proteini/Crude proteins	662	665	8,75	NS
Balans N (g d⁻¹)				
Konsumirano N/N intake	40,9	40,4	1,01	NS
N izlučen fecesom/N output in faeces	14,1	13,7	0,46	NS
N izlučen urinom/N output in urine	22,8	22,7	1,30	NS
N balans/N balance	4,0	4,0	1,57	NS

D-vrijednost, probavljava organska tvar u suhoj tvari; NS, $P>0,05$. SEM, standardna greška

D-value, digestibility of organic matter in the dry matter; NS, $P>0,05$. SEM, standard error of the mean

kvalitete fermentacije (Knežević i sur., 2009.). Sjenaža lucerne silirana uz dodatak aditiva sadržavala je statistički značajno manju pH-vrijednost ($P<0,001$) u odnosu na sjenažu lucerne siliranu bez dodatka aditiva. Navedeno je u suglasju s rezultatima istraživanja Madera i sur. (1985.) koji su utvrdili niže pH-vrijednosti lucerne silirane uz dodatak aditiva (4,83) u odnosu na kontrolnu lucernu (4,98). Silaže proizvedene uz dodatak bioloških aditiva uobičajeno imaju niže pH-vrijednosti, nižu koncentraciju $\text{NH}_3\text{-N}$ i veći udio ukupnih kiselina nastalih fermentacijom. Osim na razinu do koje će se pH-vrijednost silirane biljne mase uz dodatak aditiva smanjiti, aditivi mogu ubrzati snižavanje pH-vrijednosti. Charbel i sur. (2005.) su kod siliranja lucerne visokog udjela ST utvrdili pH-vrijednost 5,9 koja je 3 dana nakon siliranja uz dodatak aditiva pala na pH-4,5 dok se kod kontrolne lucerne pH-vrijednost nije spustila niže od pH-5 niti 16 dana nakon siliranja.

Jones (1992.) je istraživao utjecaj dodatka aditiva "Sill All" travnoj silaži i utvrdio brže zakiseljavanje, pH-vrijednost 4 izmjerena je 4 dana prije nego u netretiranoj silaži. Također, pozitivan utjecaj dodatka aditiva "Sill All" na kvalitetu fermentacije silaže istražili su Jian-Hau i sur. (2000.), što su potkrijepili nižom pH-vrijednošću i manjim udjelom $\text{NH}_3\text{-N}$ kod tretirane silaže.

U ovom istraživanju nije bilo razlika između sjenaža lucerne u udjelu $\text{NH}_3\text{-N}$. Tretirana sjenaža sadržavala je relativno više $\text{NH}_3\text{-N}$ u odnosu na netretiranu, što može biti posljedica pojčane proteolize nastale primjenom aditiva (Charbel i sur., 2005.).

U tablici 2 prikazana je *ad libitum* konzumacija, *in vivo* probavlјivost i balans N ispitivanih sjenaža lucerne.

Između sjenaže lucerne silirane bez dodatka aditiva i sjenaže lucerne silirane s dodatkom aditiva nisu utvrđene statistički značajne razlike u *ad libitum* konzumaciji, probavlјivosti mjerenih parametara niti u balansu N.

Isto je u suglasju s prijašnjim istraživanjima u kojima dodatak aditiva, koji se sastojao od enzima celulaze, hemicelulaze, pektinaze i mlječno-kiselinskih bakterija nije utjecao na probavlјivost silaže lucerne (Tengerdy i sur., 2006.) niti na konzumaciju ST u hranidbi janjadi (Jones, 1992.). Također, dodatak aditiva koji sadržavaju bakterije mlječno-kiselinskog

vrenja i enzime nije utjecao na probavlјivost provenute lucerne (Tengerdy i sur., 2008.), dnevne priraste, konzumaciju i konverziju hrane (Mader i sur., 1985.).

Utjecaj dodatka enzimatskih aditiva na probavlјivost ST i vlakana češće je negativan nego pozitivan, što se može objasniti mehanizmom njihova djelovanja (Muck i Kung, 1997.). Naime, dodatak enzima koji razgrađuje vlakna i smanjuje njihov udio u silaži, ali se isto odnosi i na probavlјivije frakcije vlakana (celuloza), dok u silaži zaostaju frakcije vlakana koje se sporije i slabije razgrađuju ili se ne razgrađuju (hemiceluloza, lignin, pektini, gume, β glukani, fruktani). Zbog navedenog, poboljšanje fermentacije u silosu i smanjenje sadržaja vlakana zbog djelovanja aditiva izraženije je kod biljne mase silirane u ranjoj fazi zrelosti koja sadržava manje vlakana, u odnosu na zrelje usjeve gdje je sporija i manje izražena hidroliza staničnih stijenki zbog povećane signifikacije, a posljedično je manje izraženo smanjenje udjela vlakana u odnosu na netretiranu silažu.

Jian-Hau i sur. (2000.) utvrdili su pozitivan utjecaj aditiva "Sill All" na proizvodnju mlijeka muznih krava koje su proizvele 0,9 kg dnevno više mlijeka u odnosu na muzne krave hranjene silažom bez dodatka aditiva, što u standardnoj laktaciji od 305 dana predstavlja 283 kg više proizvedenog mlijeka po muznoj kravi.

Istraživanja usporedbe silaža spremljenih uz dodatak mikrobnih inokulanata i netretiranih silaža pokazuju da su mikrobiološki dodaci efikasni u 50% slučajeva s obzirom na proizvodne parametre konzumacije hrane, konverzije i proizvodnje mlijeka, pa je neophodno znati u kojim će uvjetima aditiv biti najučinkovitiji te koju vrstu aditiva koristiti s obzirom na uvjete siliranja. Kung i Muck (1997.) navode da je pozitivan utjecaj dodatka aditiva na prirast, konzumaciju i proizvodnju mlijeka manje izražen za silaže tretirane enzimima u odnosu na silaže tretirane mikrobnim inokulatima. Poput bakterijskih inokulanata koji zahtijevaju određene uvjete za svoj rast, tako enzimatski inokulanti zahtijevaju određene uvjete za maksimalnu aktivnost. Za optimalnu aktivnost, većina enzima celulaze zahtijeva pH-4,5 i temperaturu 50 °C (Kung i Muck, 1997.), pa je i to jedan od uzroka izostanka pozitivnog učinka aditiva na praćene biološke parametre.

Zaključci

Aditiv "Sil All" smanjio je udio KDV i pH vrijednost u sjenaži lucerne. Dodatak aditiva nije utjecao na mjerene biološke parametre sjenaže lucerne (na *ad libitum* konzumaciju sjenaže lucerne, *in vivo* probavljivost mjerjenih parametara niti balans dušika).

Effects of additive application upon ad libitum intake, in vivo digestibility and nitrogen balance of alfalfa haylage

Summary

The research objective was to determine the effect of the additive Sill-All application on *ad libitum* intake, *in vivo* digestibility and nitrogen balance of alfalfa haylage. About 40 % alfalfa plants was ensiled at the phonological flowering stage into plastic foil-wrapped bales without or with additive (2 L t⁻¹ plant mass). No statistically significant differences were found between alfalfa ensiled without additive and alfalfa ensiled with additive for the content of dry matter (DM) (632 g and 631 g DM kg⁻¹ fresh sample, respectively). Alfalfa ensiled without additive contained 921 g organic matter (OM) kg⁻¹ DM, which was significantly higher ($P<0.001$) compared to alfalfa ensiled with additive (902 g OM kg⁻¹ DM). Alfalfa ensiled without additive contained 141 g crude proteins (CP) kg⁻¹ DM, which was significantly higher ($P<0.001$) compared to alfalfa ensiled with additive (139 g CP kg⁻¹ DM). Alfalfa ensiled with additive contained significantly less acid detergent fibers (ADF) ($P<0.001$) compared to alfalfa ensiled without additive (445 g kg⁻¹ DM and 456 g kg⁻¹ DM, respectively) and had a lower pH value ($P<0.001$) (5.29 and 5.56, respectively). No statistically significant differences were found between the studied feeding treatments for *ad libitum* intake of fresh ration and DM ration, for the measured parameters of digestibility and N balance. It was concluded that addition of the additive to alfalfa haylage led to significant changes in chemical composition; however, changes in chemical composition had no impact on measured biological parameters (*ad libitum* intake, *in vivo* digestibility and nitrogen balance).

Keywords: alfalfa haylage, additive, *ad libitum* intake, *in vivo* digestibility, N balance

Literatura

1. Bosh, M.W., Tamminga, S., Post, G., Leffering, C.P., Muylaert, J.M. (1992): Influence of stage of maturity of grass silages on digestion processes in dairy cows. 1. Composition, nylon bag degradation rates, fermentation characteristics, digestibility and intake. *Livestock Production Science* 32, 245-264.
2. Bremner, J.M., Keeney, D.R. (1965): Steam distilled methods for determination of ammonium, nitrate and nitrite. *Analytical Chemical Acta* 32, 485-497.
3. Castle, M.E., Reid, D., Watson, J.N. (1983): Silage and milk production: studies with diets containing white clover silage. *Grass and Forage Science* 38, 193-200.
4. Charbel, R., Arif, M., Leroy, P. (2005): Effects of inoculation of high dry matter alfalfa on ensiling characteristics, ruminal nutrient degradability and dairy cow performance. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85 (5), 743-750.
5. Cushnahan, A., Mayne, C.S., Goodall, E.A. (1996): Effects of stage of maturity and period of ensilage on the production and utilization of grass silage by dairy cows. In: Jones, D.I.H., Jones R., Dewhurst, R., Merry, R., Heigh, P.M. (eds) *Proceedings of Eleventh International Silage Conference*, IGER, Aberystwyth, 78-79.
6. Frame, J., Charlton, J.F.L., Laidlaw, A.S. (1988): Temperate Forage Legumes. *CAB International*.
7. ISO (International Standard Organization) (1979): *Animal Feedstuffs*, ISO 6496, ISO 5983., ISO 5984, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
8. Jian-Hau, W., Woolford, M., Zin-Lin, W., Qi-Yu, D., Su-Ming L., Ya-Ru, W., Hui-Yi, C. (2000): Effect of Sil-All on fermentation and digestibility of corn silage and lactation performance of dairy cattle. *Alltech 16th Symposium on Biotechnology in the Feed Industry*.
9. Jones, R. (1992): Nutritional evaluation of grass silage treated with Sil-All biological silage inoculant. *Alltech 8th Symposium on Biotechnology in the Feed Industry*.
10. Knežević, M., Vranić, M., Perčulija, G., Leto, J., Turčin, D. (2007): Utjecaj dodatka kukuruzne silaže travnoj silaži različitim rokova košnje na probavljivost suhe tvari, organske tvari i probavljivost organske tvari u suhoj tvari obroka. *Mljetkarstvo* 57 (4) 303-320.
11. Knežević, M., Vranić, M., Perčulija, G., Matić, I., Teskera, M. (2009): Utjecaj roka košnje travno-djetelinske smjese na kemijski sastav i kvalitetu fermentacije silaže. *Mljetkarstvo* 59 (1) 49-55.
12. Kung, L.Jr., Muck, R.E. (1997): Animal responses to silage additives. *Proceedings from the Silage: Field to Feedbunk North American Conference*. NRAES-99., 200-210.
13. Mader, T.L., Britton, R.A., Krause, V.E., Pankaskie, D.E. (1985): Effect of additive on alfalfa silage fermentation characteristics and feedlot performance of steers. *Journal of Dairy Science* 68 (7) 1744-7.
14. Muck, R.E., Kung, L. (1997): Effect of silage additives on ensiling. *Proc. from the Silage: Field to Feedbunk North American Conference*. NRAES -99. Pp. 187-199.

15. McDonald, P., Henderson, A.R., Heron, S.J.E. (1991): The biochemistry of silage, 2nd edn. Marlow, UK: *Chalcombe Publications*, 82-122.
16. Nadeau, E.M.G., Buxton, D.R., Russell, J.R., Allison, M.J., Young, J.W. (2000): Enzyme, bacterial inoculant and formic acid effects on silage composition of orchardgrass and alfalfa. *Journal of Dairy Science* 83, 1487-1502.
17. Nash, M.J. (1985): Crop Conservation and Storage in Cool Temperate Climates. *Pergamon Press*, Oxford, 286 pp.
18. SAS (1999): SAS® Software, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA
19. Sheaffer, C.C., Lacefield, G.D., Marble, V.I. (1988): Cutting schedules and stands. In: Hanson, A.A., Barnes, D.K., Hill, R.R., (eds) Alfalfa and Alfalfa Improvement. *Agronomy Monograph No. 29*, ASA/CSSA/SSSA, Madison, Wisconsin, pp 411-437.
20. Tengerdy, R.P., Weinberg, Z.G., Szakacs, G., Wu, M., Linden, J.C., Henk, L.L., Johnson, E. (2006): Ensiling alfalfa with additives of lactic acid bacteria and enzymes. *Journal of Science of Food and Agriculture* 55 (2), 215-228.
21. Tengerdy, R.P., Weinberg, Z.G., Szakacs, G., Wu, M., Linden, J.C., Henk, L.L., Johnson, D.E. (2008): Ensiling alfalfa with additives of lactic acid bacteria and enzymes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 55 (2), 215-228.
22. Van Soest, P.J.; Robertson, J.B.; Lewis, B.A. (1991): Method for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74, 3583-3597.
23. Vranić, M. Knežević, M., Perčulija, G., Matić, I., Turčin, D. (2008): Utjecaj dodatka kukuruzne silaže travnoj silaži različitim rokovima košnje na ad libitum konzumaciju obroka. *Mlječarstvo* 58 (1) 69-84.

Zahvala

Autori zahvaljuju tvrtki Alltech Hrvatska na potpori pruženoj za provedbu ovog istraživanja.