

تأثیر سطوح مختلف مولتی آنزیم ناتوزایم پلاس بر قابلیت هضم، تخمیر پذیری و تجزیه پذیری یونجه خشک

- مرتضی رضائی (نویسنده مسئول)
عضو هیات علمی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج
- مجتبی زاهدیفر
عضو هیات علمی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج.
- علی مصطفی تهرانی
عضو هیات علمی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج
- حسین غلامی
عضو هیات علمی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۶

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۳۸۸۶۷۰۷

Email: Amirsaleh1380@yahoo.com

چکیده

این پژوهش به منظور تعیین تأثیر سطوح مختلف مولتی آنزیم ناتوزایم پلاس شامل مقادیر صفر، ۰/۵ و ۰/۷۵ گرم آنزیم در هر کیلوگرم علوفه خشک یونجه به عنوان سه گروه آزمایشی بر تخمیر پذیری، قابلیت هضم و تجزیه پذیری علوفه یونجه در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی انجام شد. تخمیر پذیری نمونه‌ها با اندازه‌گیری آزمایشگاهی گاز با روش استاندارد انجام شد. برای اندازه‌گیری تجزیه پذیری ماده خشک، فیبر نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) یونجه در شکمبه از طریق روش کیسه‌های نایلونی (*in situ*) از ۳ راس گاو نر اخته فیستولا شده نژاد تالشی استفاده شد. قابلیت هضم ماده آلی، ماده خشک، NDF و ADF در تیمارهای مختلف با روش جمع‌آوری کل مدفوع بر روی ۴ راس گوسفند نر بالغ نژاد شال اندازه‌گیری شد. نتایج آزمایشات تخمیر پذیری نشان داد که استفاده از آنزیم اثری بر میانگین تولید گاز در تیمارهای آزمایشی نداشت. میزان تجزیه پذیری ماده خشک، NDF و ADF در بین تیمارهای آزمایشی در تمام زمان‌های انکوباسیون دارای اختلاف معنی داری بود به طوری که با افزایش مقدار مصرف آنزیم، تجزیه پذیری ماده خشک و NDF و ADF نیز افزایش یافت ($P < 0/05$). نتایج آزمایشات قابلیت هضم نشان داد که استفاده از آنزیم در سطح ۰/۷۵ گرم آنزیم در هر کیلوگرم علوفه خشک یونجه سبب افزایش معنی دار قابلیت هضم ماده آلی، ماده خشک، NDF و ADF شد ($P < 0/05$). در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از مولتی آنزیم مورد آزمایش در سطح ۰/۷۵ گرم آنزیم به ازای هر کیلوگرم یونجه مصرفی سبب بهبود قابلیت تجزیه پذیری و قابلیت هضم علف خشک یونجه شده است.

واژه‌های کلیدی: یونجه، مولتی آنزیم ناتوزایم، تجزیه پذیری، قابلیت هضم

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 114 pp: 207-218

Effect of a Natuzyme Plus multi-enzyme levels on digestibility, fermentability and degradability of alfalfa hay.By: Rezaei^{1*}, M., Zahedifar¹, M., Mostafa Tehrani¹, A., and Gholami¹, H.

1: Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), karaj, Iran

Received: February 2017**Accepted: April 2017**

This experiment was conducted to investigate the effects of Natuzyme plus multi enzyme at different inclusions on fermentability, degradability and digestibility of alfalfa hay. The treatments consisted of 1) control group, 2) 0.5 g enzyme per Kg of alfalfa hay and 3) 0.75 g enzyme per Kg of alfalfa hay. A completely randomized design (CRD) was used for analyzing data. *In Vitro* gas production and *In Situ* nylon bag techniques were used for measuring of fermentability and degradability. Three fistulated cows (mature Taleshi steers) were used for degradability measurement of DM, NDF and ADF. Digestibility of alfalfa hay was performed by total collection of feces method on 4 heads of *Shal* mature ram. No significant difference was obtained in gas test results. The effect of enzyme levels on degradability of DM, NDF and ADF at all incubation times were significantly different ($p < 0.05$). The digestibility of DM, OM, NDF and ADF in 0.75 g/Kg of alfalfa hay group were higher than other treatments significantly ($p < 0.05$). Results of this research indicated that using 0.75 g/Kg DM Enzyme significantly improved *in situ* degradability and *in vivo* digestibility of alfalfa hay.

Key words: Alfalfa hay, Multi-enzyme Natuzyme, Degradability, Digestibility**مقدمه**

و میزان فعالیت آنها بستگی دارد (Muhammad Abubakar و همکاران، ۲۰۱۶). Kung و همکاران (۲۰۰۰) گزارش نمودند که افزودن آنزیم به قسمت علوفه جیره گاوهای شیری در اواسط دوره شیردهی، میزان تولید شیر را تا ۱/۸ کیلوگرم در روز افزایش می‌دهد. Yang و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که کاربرد آنزیم فیبرولایتیک در جیره گاوهای شیرده سبب افزایش معنی‌داری در قابلیت هضم ماده خشک می‌شود. در همین پژوهش آنها نشان دادند که اضافه کردن آنزیم به قسمت کنسانتره نیز سبب افزایش تولید شیر می‌شود. اضافه کردن آنزیم به علوفه هر چند سبب افزایش تولید شیر می‌گردد، اما این افزایش در مقایسه با اضافه کردن آنزیم به قسمت کنسانتره اندک بوده است. Sutton و همکاران (۲۰۰۳) در آزمایشی بر روی گاوهای در اوائل شیردهی، مشخص کردند که علاوه بر بهبود قابلیت هضم ماده

با توجه به توسعه کاربرد بیوتکنولوژی در تغذیه دام‌ها و تولید انواع آنزیم‌های میکروبی در سال‌های اخیر، تحقیقات در رابطه با استفاده از آنزیم‌ها در تغذیه نشخوارکنندگان شروع شده است (Jalilvand و همکاران، ۲۰۰۸). در ایران تحقیقات بسیار محدودی در این زمینه انجام شده است که بیش‌تر آنها مربوط به استفاده از آنزیم‌ها در تغذیه پرندگان می‌باشد. Jalilvand و همکاران (۲۰۰۸a) گزارش کردند که افزودن آنزیم به جیره باعث افزایش تخمیرپذیری و میزان تولید گاز می‌شود. این افزایش در ساعت‌های ۶ الی ۱۲ بعد از تخمیر، بیش‌تر به چشم می‌خورد. به نظر می‌رسد آنزیم‌ها به دلیل کاهش زمان اتصال باکتری‌ها به علوفه سبب افزایش سرعت تولید گاز در بیست و چهار ساعت بعد از تخمیر می‌شوند. میزان تاثیر آنزیم‌ها بستگی به عوامل مختلفی از قبیل منشا آنزیم، مقدار مصرف، نحوه مصرف، نوع مواد خوراکی

عملیات آزمایشگاهی (تجزیه تقریبی) بر روی نمونه ها و طبق روش های استاندارد انجام پذیرفت (AOAC، ۲۰۱۲).

تعیین ترکیبات شیمیایی: علوفه یونجه مورد آزمایش طبق روش استاندارد مورد آزمایش قرار گرفت و ترکیبات شیمیایی آن از نظر ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام، خاکستر خام و نیز عناصر معدنی (شامل کلسیم و فسفر) اندازه گیری شد (AOAC، ۲۰۱۲).

آماده سازی دام های فیستوله شده: ابتدا ۳ راس گاو نر تالشی با میانگین وزن زنده 350 ± 5 کیلوگرم انتخاب شده و به روش دو مرحله ای، مورد عملیات فیستول گذاری شکمبه قرار گرفتند (Dougherty، ۱۹۸۱ و صفایی و فتح‌نیا، ۱۳۹۵).

اندازه‌گیری تجزیه پذیری: مقادیر تجزیه پذیری ماده خشک، فیبر نامحلول در شوینده خنثی^۱ و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی^۲ با استفاده از ۳ راس گاو نر تالشی فیستول گذاری شده با متوسط وزن زنده 350 ± 5 کیلوگرم به روش کیسه‌های نایلونی اندازه‌گیری شد (AFRC، ۱۹۹۳).

گاوهای مذکور، به میزان ۱۰ درصد بالاتر از سطح نگهداری با علوفه یونجه خشک و نیز مقادیر مختلف مولتی آنزیم (متناسب با تیمارهای آزمایشی) تغذیه شدند (McDonald و همکاران، ۱۹۹۵). در ابتدا کیسه های نایلونی غیرقابل تجزیه، خشک و وزن شده و سپس ۵ گرم از نمونه آزمایشی آسیاب شده را در هر یک از کیسه ریخته و از طریق فیستول گاوها، وارد شکمبه شدند و پس از گذشت زمان های مختلف صفر، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون، از شکمبه خارج شده و با آب سرد شسته شدند. سپس کیسه های شسته شده خشک و وزن شدند و از اختلاف وزن آنها میزان تجزیه پذیری ماده خشک بدست آمد. همچنین از نمونه اولیه و نمونه بعد از انکوباسیون NDF و ADF آنها اندازه گیری شده و در تجزیه پذیری NDF و ADF بدست آمد.

با استفاده از رابطه: $P = a + b(1 - e^{-ct})$

مقادیر فراسنجه‌های تجزیه پذیری شامل بخش محلول در آب (a)، بخش نامحلول در آب و کند تخمیر (b) و نیز نرخ

آلی، میزان شیر تولیدی نیز در اثر اضافه کردن آنزیم فیرولایتیک به قسمت کنساتره جیره ۱۰ درصد افزایش نشان داده است. Beauchemin و همکاران (۱۹۹۹، ۲۰۰۳) عنوان نمودند که استفاده از آنزیم در خوراک نشخوارکنندگان قابلیت هضم و جذب مواد مغذی جیره به خصوص علوفه را بهبود بخشیده و موجب افزایش تولید شیر خواهد شد، البته استفاده از سطوح مختلف آنزیم پاسخ های متغیری را از سوی حیوانات داشته است. هدف از این پژوهش تعیین اثرات استفاده از مقادیر مختلف آنزیم تجاری ناتوزایم پلاس بر فراسنجه‌های تخمیر پذیری، تجزیه پذیری و قابلیت هضم یونجه خشک بود.

مواد و روش‌ها

مکان و زمان آزمایش: این تحقیق در آزمایشگاه فیزیولوژی تغذیه دام موسسه تحقیقات علوم دامی کشور و در بهار ۱۳۹۰ انجام شد. تیمارهای آزمایشی: این تحقیق با ۳ تیمار (سه سطح مختلف آنزیم) شامل گروه‌های زیر، انجام شد: علوفه یونجه بدون استفاده از آنزیم (جیره شاهد یا علوفه یونجه بدون آنزیم)، علوفه یونجه به همراه استفاده از ۰/۵ گرم آنزیم به ازای هر کیلوگرم یونجه (به اختصار یونجه+آنزیم ۰/۵)، علوفه یونجه به همراه استفاده از ۰/۷۵ گرم آنزیم به ازای هر کیلوگرم یونجه (به اختصار یونجه+آنزیم ۰/۷۵). مولتی آنزیم مورد استفاده از شرکت Bioproton Pty. Ltd., Brisbane, Queensland, Australia تهیه شد که حاوی آنزیم‌های سلولاز ۴.۲۰۰.۰۰۰ واحد در کیلوگرم، زایلاناز ۵.۰۰۰.۰۰۰ واحد در کیلوگرم، بتا-گلوکوناز ۱.۰۰۰.۰۰۰ واحد در کیلوگرم، آلفا-آمیلاز ۷۵۰.۰۰۰ واحد در کیلوگرم، پکتیناز ۷۰.۰۰۰ واحد در کیلوگرم، فیتاز ۳۰۰.۰۰۰ واحد در کیلوگرم، پروتئاز ۳.۰۰۰.۰۰۰ واحد در کیلوگرم و لپاز (نامعلوم) بود. این آنزیم با نام تجاری ناتوزایم پلاس از طریق شرکت وارد کننده در اختیار موسسه قرار گرفت.

آماده‌سازی نمونه‌های یونجه: برای آسیاب کردن علوفه در آزمایش‌های مختلف، ابتدا از آسیاب یک میلی‌متر و سپس از الک یک میلی‌متر استفاده شد. همچنین برای آزمایش تجزیه پذیری از آسیاب ۴ میلی‌متر و برای تغذیه دام‌ها در آزمایش قابلیت هضم، نمونه‌ها به قطعات ۱۰ الی ۱۲ سانتی‌متر خرد شدند. در مرحله بعد

¹ Neutral Detergent Fiber (NDF)

² Acid Detergent Fiber (ADF)

طرح آماری مورد استفاده: داده‌های بدست آمده در ترکیبات شیمیایی، تولید گاز، تجزیه پذیری و قابلیت هضم در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) تجزیه و تحلیل شد. مدل آماری طرح به صورت $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ بود که در آن مقدار هر مشاهده، μ میانگین پارامتر مورد نظر، T_i اثر تیمار و e_{ij} اثر خطای آزمایش می باشد.

تعداد تکرارها، در آزمایشات تعیین ترکیبات شیمیایی، تجزیه پذیری، تولید گاز و قابلیت هضم به ترتیب ۳، ۳، ۳ و ۴ بودند. میانگین‌ها با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای ۵ درصد، با هم مقایسه شده و در نهایت داده‌های آزمایشی با استفاده از رویه ANOVA در نرم افزار SAS (۱۹۹۸) تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

ترکیبات شیمیایی: میزان ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام، خاکستر خام، کلسیم، فسفر، دیواره سلولی (NDF) و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) علف خشک یونجه‌های آزمایشی به- ترتیب ۹۰/۴، ۱۲/۳، ۱/۲، ۹/۶، ۱/۲، ۰/۲، ۵۳/۸ و ۳۸/۸ درصد در ماده خشک بود. همچنین میزان انرژی خام برابر ۴۲۵۷ کالری در گرم ماده خشک، اندازه گیری شد.

تولید گاز (تخمیر پذیری): نتایج آزمایشات تخمیر پذیری (تولید گاز) در جدول ۱ نشان داد که حجم گاز تولیدی بین تیمارهای آزمایشی دارای تفاوت معنی داری نیستند ($P > 0.05$). با این وجود با افزایش زمان انکوباسیون، مقدار گاز تولیدی افزایش یافته است.

تجزیه پذیری (c)، توسط نرم افزار NEWY (Fitcurve) برای ش شدند (McDonald و Ørskov، ۱۹۷۹).

اندازه گیری تولید گاز (تخمیر پذیری): تولید گاز در زمان‌های مختلف ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بر روی نمونه‌های آزمایشی، با استفاده از شیرابه شکمبه سه راس گاو تالشی فیستوله شده انجام شد (Steingass و Menke، ۱۹۸۸).

ابتدا مایع شکمبه از گاوهای تالشی فیستولا گذاری شده، که با توجه به نوع تیمارهای آزمایشی (به مدت ۱۰ روز) فقط از علوفه یونجه و نیز با سطوح مختلف مولتی آنزیم تغذیه شده بودند، گرفته شد. اندازه گیری تولید گاز در آزمایشگاه فیزیولوژی تغذیه دام موسسه تحقیقات علوم دامی کشور انجام شد.

مولفه‌های تولید گاز (فراسنجها) از رابطه‌های ذیل محاسبه شدند (McDonald و Ørskov، ۱۹۷۹).

$$Y = b(1 - e^{-Ct})$$

Y = حجم تولید گاز از ماده خوراکی در زمان t

b = تولید گاز از بخش کند تخمیر و نامحلول در آب (میلی لیتر)

C = نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)

t = زمان‌های انکوباسیون (ساعت)

سیس با استفاده از نرم افزار کمکی (NEWY (Fit curve) این مولفه، برازش شدند.

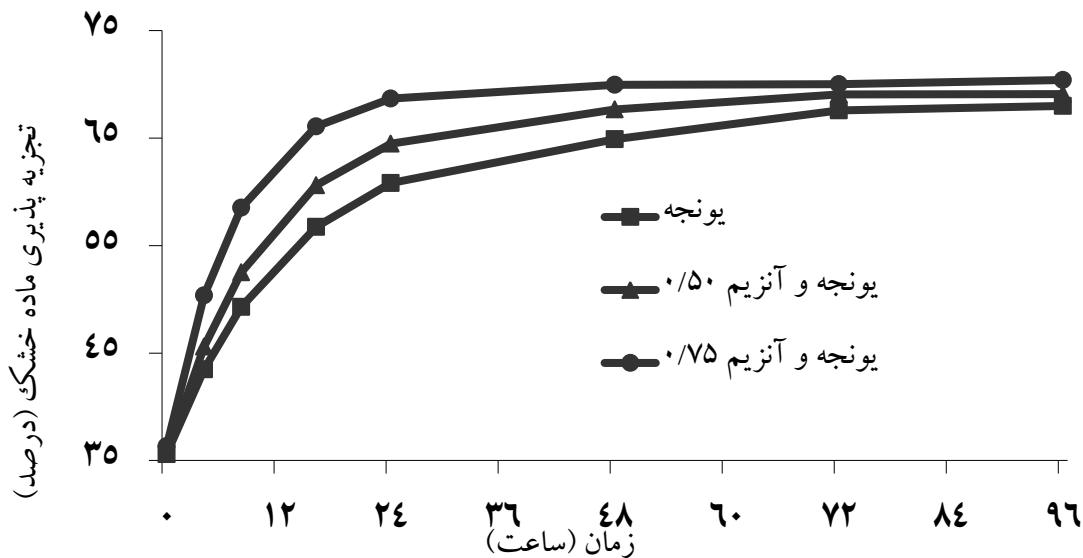
اندازه گیری قابلیت هضم: قابلیت هضم ماده خشک، NDF و ADF به روش جمع آوری کل مدفوع در قفس‌های متابولیکی و با استفاده از ۴ راس گوسفند نر اخته شده شال (به وزن زنده 50 ± 6 کیلوگرم) انجام شد. خوراک حیوانات در حد نگهداری و بر اساس جداول استاندارد غذایی در اختیار آنها قرار گرفت (NRC، ۲۰۰۷).

جدول ۱: میزان تولید گاز بر حسب میلی لیتر در تیمارهای آزمایشی در طی زمان‌های متوالی انکوباسیون

تیمارها	زمان انکوباسیون (ساعت)								
	۲	۴	۶	۸	۱۶	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
یونجه	۸/۱	۱۸/۷	۲۶/۷	۳۰/۳	۳۶/۰	۴۲/۷	۴۷/۶	۴۹/۹	۵۰/۳
یونجه + آنزیم ۰/۵۰	۸/۱	۱۸/۶	۲۶/۸	۳۰/۶	۳۶/۲	۴۲/۸	۴۷/۸	۴۸/۵	۵۰/۴
یونجه + آنزیم ۰/۷۵	۸/۵	۱۹/۲	۲۷/۲	۳۱/۶	۳۷/۱	۴۳/۴	۴۷/۶	۴۷/۷	۵۱/۲
خطای استاندارد	۰/۱۳۲	۰/۲۱۲	۰/۱۵۸	۰/۲۶	۰/۲۲۴	۰/۳۰۴	۰/۴	۰/۳۷۷	۰/۱۸۰

اختلاف معنی داری شد ($P < 0/05$). با افزایش مقدار آنزیم، تجزیه پذیری ماده خشک نیز افزایش یافت. البته سرعت تجزیه پذیری ماده خشک، در بیست و چهار ساعت اول انکوباسیون بیش تر از ساعات بعدی بود.

تجزیه پذیری: نتایج آزمایشات تجزیه پذیری ماده خشک، NDF و ADF به ترتیب در جدول های ۲، ۳ و ۴ و نیز به ترتیب در شکل های ۱، ۲ و ۳ گزارش شده است. میزان تجزیه پذیری ماده خشک در بین تیمارهای آزمایشی در تمام زمان های انکوباسیون دارای



شکل ۱: نمودار تجزیه پذیری ماده خشک (DM) تیمارهای آزمایشی در طی زمان های مختلف انکوباسیون شکمبه ای

هر سه شرایط مذکور دارای تفاوت معنی داری ($P < 0/05$) بوده و استفاده از آنزیم در جیره های غذایی اثر معنی داری روی تجزیه پذیری موثر ماده خشک (در شرایط مختلف) داشت که مؤید اثر آنزیم بر افزایش فراسنجه های تجزیه پذیری یونجه بوده است.

در جدول ۲، فراسنجه های تجزیه پذیری ماده خشک و تجزیه پذیری موثر یونجه در تیمارهای آزمایشی برای سرعت های مختلف عبور از شکمبه ۰/۰۲، ۰/۰۵ و ۰/۰۸ که به ترتیب برای شرایط نگهداری، تولید شیر و پروراندی می باشد، نشان داده شده است. تجزیه پذیری موثر در

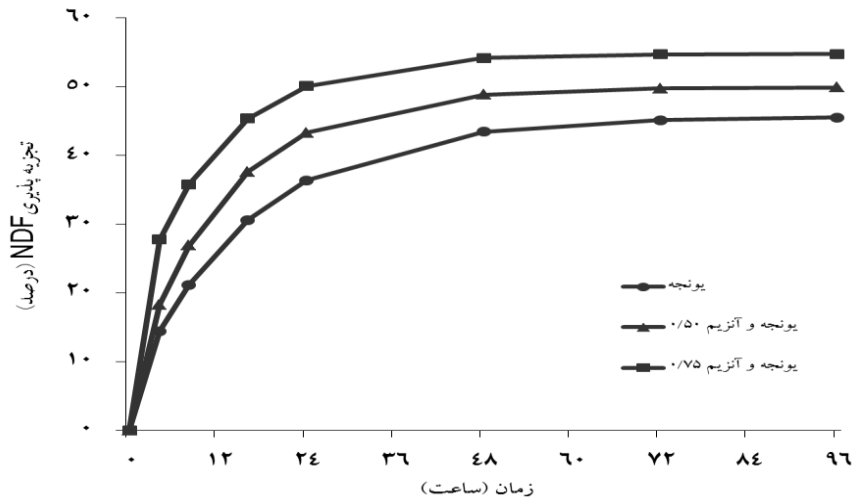
جدول ۲: فراسنجه های تجزیه پذیری (DM) و تجزیه پذیری موثر ماده خشک در سرعت های مختلف عبور در تیمارهای آزمایشی

برآورد تجزیه پذیری موثر در سرعت های مختلف عبور (درصد ماده خشک در ساعت)			فراسنجه ها (درصد در ماده خشک)			تیمارها
$k_p = 0/08$	$k_p = 0/05$	$k_p = 0/02$	نرخ تجزیه پذیری (درصد در ساعت)	بخش نامحلول در آب و کند تجزیه (b)	بخش محلول در آب (a)	
^a ۵۰/۳	^a ۵۳/۷	^a ۵۹/۴	^a ۰/۰۸	^a ۳۰/۱	۳۵/۶	یونجه
^b ۵۳/۰	^b ۵۶/۶	^b ۶۲/۳	^a ۰/۰۹	^b ۳۲/۵	۳۵/۶	یونجه + آنزیم ۰/۵۰
^c ۵۷/۴	^c ۶۰/۹	^c ۶۵/۶	^b ۰/۱۳	^c ۳۳/۷	۳۶/۳	یونجه + آنزیم ۰/۷۵
۰/۶۳۲	۰/۶۱۲	۰/۵۲۴	۰/۰۱۳	۰/۴۷۳	۰/۲۷۴	خطای استاندارد

a, b, c: وجود حرف یا حروف مختلف بر روی میانگین ها در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی دار بودن بین میانگین ها می باشد ($P < 0/05$).

تیمار (یونجه و آنزیم ۰/۷۵) در ساعت ۹۶ (بیشترین) بوده است، البته چون NDF بخشی از ماده خشک خوراک است، مقادیر تجزیه پذیری NDF از تجزیه پذیری ماده خشک کمتر است.

مقایسه تجزیه پذیری NDF در ساعت‌های مختلف انکوباسیون شکمبه (شکل ۲) نشان داد که استفاده از آنزیم اثر معنی داری بر تجزیه پذیری NDF دارد ($P < 0/05$) و دامنه تغییرات آن از تیمار (یونجه بدون آنزیم) در ساعت ۴ (کمترین) شروع و برای



شکل ۲: نمودار تجزیه پذیری NDF تیمارهای آزمایشی در طی زمان‌های مختلف انکوباسیون شکمبه‌ای

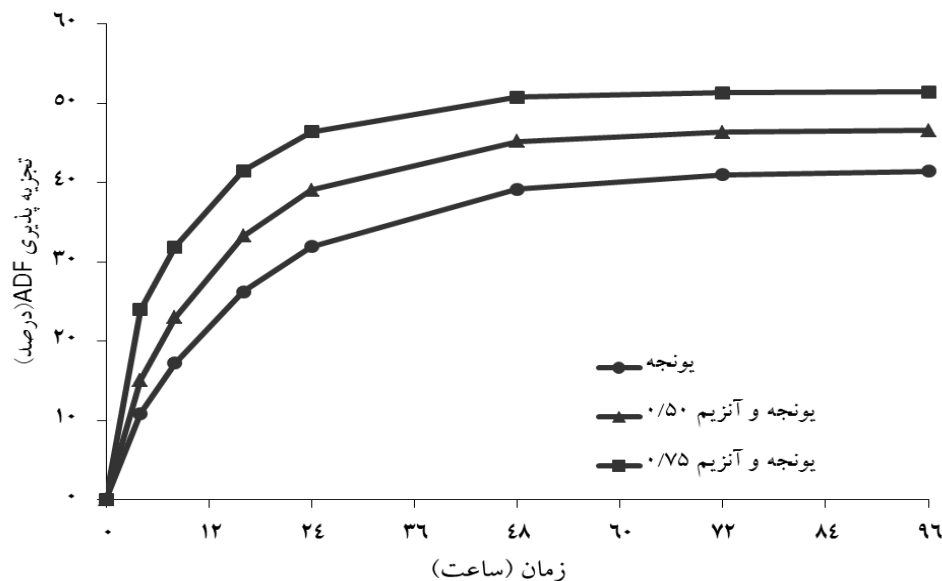
جدول ۳: تجزیه پذیری موثر NDF در تیمارهای آزمایشی و سرعت‌های عبور مختلف

سرعت عبور (درصد در ماده خشک)			تیمارها
$k_p = 0/08$	$k_p = 0/05$	$k_p = 0/02$	
^a ۲۳/۰	^a ۲۷/۷	^a ۳۵/۸	یونجه
^b ۲۸/۱	^b ۳۳/۱	^b ۴۱/۱	یونجه + آنزیم ۰/۵۰
^c ۳۶/۵	^c ۴۰/۸	^c ۴۷/۶	یونجه + آنزیم ۰/۷۵
۱/۲۲۵	۱/۱۶۲	۱/۰۶۱	خطای استاندارد

a, b, c: وجود حرف یا حروف مختلف بر روی میانگین‌ها در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی دار بودن بین میانگین‌ها می باشد ($P < 0/05$) و K_p سرعت عبور می باشد.

تجزیه پذیری ADF (در تمام زمان‌ها) اختلاف معنی داری ($P < 0/05$) وجود دارد. در تیمار یونجه + آنزیم (۰/۷۵)، بیشترین میزان تجزیه پذیری ADF مربوط به زمان ۹۶ ساعت است.

با توجه به جدول ۳، تجزیه پذیری موثر NDF در تمام شرایط، دارای اختلاف معنی داری در بین تیمارهای آزمایشی شد ($P < 0/05$) که نشانگر تاثیر آنزیم بر تجزیه پذیری یونجه بوده است. مقایسه تجزیه پذیری ADF (در زمان‌های مختلف انکوباسیون شکمبه) نشان داد (شکل ۳) که در بین تیمارهای آزمایشی، مقادیر



شکل ۳: نمودار تجزیه پذیری (ADF) تیمارهای آزمایشی در طی زمان‌های مختلف انکوباسیون شکمبه‌ای

جدول ۴: تجزیه‌پذیری موثر ADF در تیمارهای آزمایشی

سرعت عبور (درصد در ماده خشک)			تیمارها
k = 0.08	k = 0.05	k = 0.02	
19/1 ^a	23/6 ^a	31/6 ^a	یونجه
24/4 ^b	29/3 ^b	37/4 ^b	یونجه + آنزیم 0.50
32/7 ^c	37/2 ^c	44/1 ^c	یونجه + آنزیم 0.75
1/0.83	1/1.07	1/0.61	SE

a, b, c: وجود حرف یا حروف مختلف بر روی میانگین‌ها در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بودن بین میانگین‌ها می‌باشد ($P < 0.05$). K سرعت عبور می‌باشد.

قابلیت هضم ماده آلی، ماده خشک، ماده خشک در ماده آلی، قابلیت هضم ماده آلی، ماده خشک، ماده خشک در ماده آلی، NDF و ADF دارای اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) می‌باشد. در هر ستون و برای تمام شاخص‌ها، تیمار شاهد کم‌ترین و تیمار (یونجه + آنزیم 0.75) بیش‌ترین میزان عددی را نشان می‌دهد. بطور کلی نتایج آزمایشات قابلیت هضم مشابه نتایج تجزیه‌پذیری (ماده خشک، ADF و NDF) دارای روند یکسانی بود.

همچنین محاسبات آماری نشان داد که تجزیه‌پذیری موثر ADF (جدول ۴) در سرعت‌های مختلف عبور از شکمبه و شرایط مختلف فیزیولوژیک دارای تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) بوده است.

قابلیت هضم: جدول ۵ نشان دهنده نتایج آزمایشات قابلیت هضم تیمارهای آزمایشی می‌باشد. در بین تیمارهای آزمایشی، مقادیر

جدول ۵: میزان قابلیت هضم به روش جمع آوری کل مدفوع در تیمارهای آزمایشی

قابلیت هضم (درصد در ماده خشک)					تیمارها
ADF	NDF	ماده آلی در ماده خشک	ماده خشک	ماده آلی	
^a ۵۹/۹	^a ۶۷/۶	^a ۵۵/۸	^a ۷۳/۹	^a ۷۵/۱	یونجه
^{ab} ۶۱/۲	^a ۶۸/۶	^b ۵۷/۹	^a ۷۵/۱	^b ۷۷/۰	یونجه + آنزیم ۰/۵۰
^b ۷۳/۰	^b ۷۹/۴	^c ۶۸/۷	^b ۸۱/۵	^c ۸۴/۷	یونجه + آنزیم ۰/۷۵
۰/۷۰۷	۱/۴۷۵	۰/۸۰۶	۱/۱۴۰	۰/۵	SE

a, b, c: وجود حرف یا حروف مختلف بر روی میانگین‌ها در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بودن بین میانگین‌ها می‌باشد ($P < 0.05$).

بحث

۰/۷۵ گرم آنزیم در هر کیلوگرم یونجه استفاده شده بود (یونجه + آنزیم ۰/۷۵) تفاوت معنی‌داری نداشته است که مؤید تاثیر ناچیز آنزیم به دلیل عدم زمان کافی جهت تاثیر گذاری بر یونجه بوده است. همچنین از مقایسه بخش نامحلول در آب (b) تجزیه پذیری ماده خشک تیمارهای آزمایشی نشان می‌دهد که این فراسنجه در تیمار شاهد کم‌ترین و در تیمار (یونجه + آنزیم ۰/۷۵) بیش‌ترین بوده است که نشانگر تاثیر افزایش مقدار آنزیم بر تجزیه پذیری ماده خشک می‌باشد ($P < 0.05$).

سرعت تجزیه پذیری (c) در تیمار (یونجه + آنزیم ۰/۷۵) بصورت معنی‌داری ($P < 0.05$) بالاتر از سایر تیمارها بود که نشانگر اثر آنزیم بر افزایش سرعت تجزیه پذیری یونجه می‌باشد.

احتمالاً دلیل این پدیده همکوشی^۳ اثر هیدرولایتیک مولتی آنزیم با آنزیم‌های شکمبه در تجزیه یونجه بوده است (Eun و همکاران، ۲۰۰۷). تجزیه‌پذیری NDF یکی از معیارهای اساسی در تعیین قدرت اثر آنزیم‌های تجاری به خصوص آنزیم‌های تجزیه‌کننده فیبر در نشخوارکنندگان می‌باشد (Goering و VanSoest، ۱۹۷۰؛ VanSoest، ۱۹۹۴). نتایج ارائه شده در جدول ۳ نشان می‌دهد که آنزیم در ۲۴ ساعت اول انکوباسیون بیشترین تاثیر را داشته است و به تدریج با افزایش زمان انکوباسیون این اثر کمتر شده

نتایج آزمایشات ترکیبات شیمیایی با نتایج عباسی و همکاران (۱۳۸۶)، فضائلی (۱۳۷۱)، علوی (۱۳۷۹)، و عزیز (۱۳۷۵) در یک دامنه می‌باشد و تفاوت‌های مشاهده شده می‌تواند احتمالاً ناشی از تفاوت در وارسته یونجه، شرایط اقلیمی، عملیات زراعی، مرحله برداشت و نحوه نگهداری یونجه باشد (Givens و همکاران، ۲۰۰۰). نتایج آزمایش تولید گاز (تخمیر پذیری) نشان داد که این یافته‌ها با گزارشات Olivera (۱۹۹۸) و Rode و Beauchemin (۱۹۹۸) مطابقت داشته و دارای روند صعودی می‌باشد. سرعت تولید گاز در ۲۴ ساعت اولیه بسیار چشمگیر می‌باشد و پس از آن بصورت یکنواخت ادامه می‌یابد. این روند صعودی در تمامی آزمایشات تولید گاز گزارش شده است.

تولید گاز به میزان پروتئین، دیواره سلولی و ماده آلی خوراک و نیز به عدم نوسانات pH شکمبه و شرایط تخمیر شکمبه ارتباط دارد. شاید دلیل عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی در این تحقیق به دلیل عوامل مختلفی از قبیل منشا آنزیم، مقدار مصرف، نحوه مصرف، میزان فعالیت آنزیم‌ها و نوع مواد خوراکی باشد (Muhammad Abubakar و همکاران، ۲۰۱۶).

همانطور که از جدول ۲ استنباط می‌گردد، بخش محلول در آب (a) تجزیه‌پذیری ماده خشک، از تیمار شاهد تا تیماری که از

³ synergism

+آنزیم ۰/۷۵)، بدلیل اینکه شدت تجزیه پذیری ADF با استفاده از آنزیم بالاتر و از طرف دیگر سرعت عبور مواد از شکمبه پایین تر بوده است، میکروارگانسیم‌ها فرصت کافی برای تجزیه بیشتر ADF را داشته اند و بدین لحاظ تجزیه‌پذیری موثر ADF در این تیمار نسبت به تمام گروه‌های آزمایشی بیشتر بوده و تفاوت معنی‌داری با آنها دارد ($P < ۰/۰۵$).

روند نتایج آزمایشات مربوط به قابلیت هضم با نتایج آزمایشات Yang و همکاران (۱۹۹۹) و Sutton و همکاران (۲۰۰۳) روند مشابهی داشته و تغییرات مشاهده شده می‌تواند به دلیل تفاوت در روش استفاده از آنزیم، نوع آنزیم و یا تفاوت در واریته علوفه مصرفی باشد (Akin و همکاران، ۱۹۸۹). در گزارشات محققین یاد شده، خوراک‌های آزمایشی آنها حاوی رطوبت بوده و یا بصورت سیلو مصرف شده است و آنزیم بصورت محلول بر روی خوراک اسپری شده است و سپس مخلوط یکنواخت بدست آمده به مصرف دام رسیده است. بنا به گزارشات محققین یاد شده، مقدار و روش کاربرد آنزیم، میزان رطوبت جیره غذایی و نوع آنزیم می‌تواند اثرات چشمگیری روی تیمارهای آزمایشی داشته باشد. بی‌شک کاربرد آنزیم‌ها در آینده می‌تواند نقش مهمی را در تولیدات نشخوارکنندگان بازی نماید (Beauchemin و همکاران، ۲۰۰۳؛ Elwakeel و همکاران، ۲۰۰۷).

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که استفاده از مولتی-آنزیم مورد آزمایش به نسبت ۰/۷۵ گرم آنزیم به ازای هر کیلوگرم یونجه مصرفی، سبب بهبود قابلیت تجزیه‌پذیری و قابلیت هضم علف خشک یونجه شده و در نهایت ارزش غذایی این علوفه گران‌قیمت را افزایش می‌دهد.

است. می‌توان نتیجه گرفت که اگر زمان کافی در اختیار میکروب‌های شکمبه باشد آنها می‌توانند بخش قابل تجزیه یونجه را به خوبی تجزیه کنند (McDonald و همکاران، ۱۹۹۵ و VanSoest، ۱۹۹۴).

مزیت اصلی استفاده از آنزیم‌های تجاری می‌تواند افزایش سرعت و قابلیت تجزیه فیبر و NDF در مدت زمان کمتر باشد که این به نوبه خود می‌تواند سبب افزایش جریان مواد مغذی در دسترس حیوان و افزایش مصرف علوفه به دلیل کاهش اثر پرکنندگی علوفه در شکمبه باشد (Beauchemin و همکاران، ۲۰۰۳؛ Jalilvand و همکاران، ۲۰۰۸ و جعفری، ۱۳۸۴).

از نظر عددی مقادیر تجزیه‌پذیری ADF از تجزیه‌پذیری NDF کمتر است و دلیل آن این است که ADF بخشی از NDF می‌باشد. با توجه به شکل ۳، سطح تجزیه‌پذیری ADF در تیمار آزمایشی سوم (یونجه + آنزیم ۰/۷۵) از بقیه تیمارها، بصورت معنی‌داری بیشتر بوده است. همچنین در این تیمار تجزیه‌پذیری ADF در ۲۴ ساعت اول پس از انکوباسیون زیاد بوده و بعد از آن شیب خط بصورت یکنواخت در آمده است که نشان می‌دهد استفاده از آنزیم احتمالاً سبب تسریع در شروع تجزیه ADF در شکمبه شده است. این نتایج با یافته‌های سایر محققین مطابقت دارد (Elwakeel و همکاران، ۲۰۰۷، Coblenz و همکاران، ۱۹۹۹). Beauchemin و Rode (۱۹۹۸) عنوان نمودند دلیل اصلی بالا بودن تجزیه‌پذیری الیاف در ۲۴ ساعت اول انکوباسیون و سپس کاهش سرعت آن، می‌تواند به دلیل توان بالای آنزیم در شروع تجزیه الیاف در شکمبه باشد در حالیکه در گروه شاهد مدت زمان نسبتاً زیادی (حدود ۴ تا ۶ ساعت بسته به گونه گیاه و فرم فیزیکی آن) لازم است تا میکروارگانسیم‌های شکمبه به قطعات فیبری در شکمبه متصل شده تا بتوانند تجزیه آنرا شروع نمایند. در شرایط تغذیه در سطح نگهداری و برای تیمار (یونجه

منابع

- AOAC,(2012). Official methods of analysis, 15th Edition, Association of Official Analytical Chemists Inc, Arlington, Virginia 22201, U.S.A. p. 37-84.
- Beauchemin, K.A., Colombatto, D., Morgavi, P. and Yang, W.Z.(2003). Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminant. *Journal of Animal Science*. 81(E. Suppl. 2): E37-e47.
- Beauchemin, K.A., Rode L.M. and Karren, D.(1999). Use of feed enzymes in feedlot finishing diets. *Journal of Animal Science*. 79:243-246.
- Coblentz, W.K., Abdelgadir, I.E.O., Cochran, R.C., Fritz, J.O., Fick, W.H., Olson, K.C. and Turner, J.E.(1999). Degradability of forage protein by *in situ* and *in vitro* enzymatic methods. *Journal of Dairy Science*. 82:343-354
- Doupherty, R.W.(1981). Experimental surgery in farm animals.(2 ed.). Iowa State University Press .Ames. Pp.1-29
- Elwakeel, E.A.Titgemeyer, E.C. Johnson, B.J. Armendariz, C.K. and Shirley, J.E.(2007). Fibrolytic enzymes to increase the nutritive value of dairy feedstuffs. *Journal of Dairy Science*. 90(11):5226-5236.
- Eun, J. S. and Beauchemin K. A.(2007). Enhancing *in vitro* degradation of alfalfa hay and corn silage using feed enzymes. *Journal of Dairy Science*. 90:2839-2851.
- Givens, D.I., Owen, E., Oxford, R.F.E. and Omed, H.M.(2000). Forage evaluation ruminant nutrition.CAB International, Wallingford, U.K. Pp. 282-286.
- Goering, H.K., Van Soest. Peter.J.(1970). Forage fiber analysis (Apparatus, Reagents, procedures and some application)., Agriculture handbook.No.379. Washington D.C. U.S. Departement of Agriculture.
- جعفری، علی. (۱۳۸۴). تاثیر آنزیم های خوراکی فیبرولیتیک بر فراسنجه های هضمی کاه گندم در تغذیه گوسفند. پایان نامه دکترا، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان.
- صفایی، ا.م. و فتاح‌نیا، ف.(۱۳۹۵). بیوتکنیک فیستول‌گذاری شکمبه در گاو هلستاین. مجموعه مقالات پنجمین همایش ملی انجمن هلستاین ایران. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور. کرج. ایران. ص ۲۸۸
- عباسی، ا.، فضائی، ح.، زاهدی‌فر، م.، میرهادی، س.ا.، گرامی، ع.، تیمورزاد، ن.، علوی، س.م.(۱۳۸۴). جداول ترکیبات شیمیایی منابع خوراک دام و طیور ایران. انتشارات مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. کرج. ایران. ص ۳۶.
- عزیزی، ع. (۱۳۷۵). ترکیبات شیمیایی و انرژی خام منابع خوراکی دام و طیور استان کردستان. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشگاه تهران. ص ۴۷.
- علوی، م.(۱۳۷۹). ارزیابی داده‌های مربوط به ارزش غذایی منابع خوراک دام کشور (مواد خشبی)، معاونت آموزش و تحقیقات. مرکز آموزش عالی امام خمینی. ص ۱۰۰.
- فضائی، ح.(۱۳۷۱). تعیین ترکیبات شیمیایی و انرژی خام منابع خوراک دام استان گیلان. پایان نامه کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس. ص ۲۲۵.
- AFRC(1993). Energy and protein requirements of ruminants. An advisory manual prepared by the technical committee on responses to nutrients, CAB International, Walingford, UK. p.159.
- Akin, D. E.(1989). Histological and physical factor affecting digestibility of forages. *Agronomy Journal*., 81, 17-25.

- Jalilvand, G., A. Naserian, E. Kebreab, N.E. Odongo, R. Valizadeh, F. Eftekhar-Shahroodi, S., Lopez, S. and France, J. (2008a). Rumen degradation kinetics of Alfaalfa hay, maize silage and wheat straw treated with fibrolytic enzymes. *Archivos de Zootecnia*, 57 (218): 155-164.
- Jalilvand, G., Odongo, N.E., Lopez, S., Naserian, A., Valizadeh, R., Eftekhar-Shahroodi, F., Kabreab, E. and France, J.(2008b). Effects of different levels of an enzyme mixture on in vitro gas production parameters of contrasting forages. *Animal Feed Science and Technology*. 146:289-301.
- Kung, L., Treacher, R.J., Nauman, G.A., Smagala, A.M., Endres, K.M. and Cohen, M.A.(2000). The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 83: 115-122.
- Mirzaei-Aghsaghali, A., Maheri-Sis, N., Mirza-Aghazadeh, A., Safaei, A.R., Houshang, A.F. and Aghajanzadeh-Golshani, A.(2008). Use of nylon bag technique to determine nutritive value and degradation kinetics of Iranian alfalfa varieties. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 3: 214-221
- McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D. and Morgan, C.A.(1995). Animal Nutrition. Longman Scientific and Technical, Harlow(4 ed.) Pp. 232-233.
- Menke, K.H. and Steingass, H.(1988). Estimation of energetic feed value obtained From chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*. 28: 7-55.
- Muhammad Abubakar, M., Saeed, A. and Kul, O.(2016). The role of biotechnology in improvement of livestock: Animal health and biotechnology illustrated, reprint Springer Berlin Heidelberg, Pp.146-147.
- [NRC] National Research Council. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Committee on the Nutrient Requirements of Small Ruminants. Washington, DC: The National Academies Press.
- Olivera, R.M.P.(1998). Use of *in vitro* production technique to assess the contribution of both soluble and insoluble fraction on the nutritive value of forages. A thesis submitted to the University of Aberdeen, Scotland, in partial fulfillment of the degree of Master of science in animal nutrition.
- Orskov, E.R., Hovel, F., Deb, D. and Mould, F.(1980). The use of nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production*. 5:3 195-213.
- Orskov. E.R., and McDonald, P.(1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*, 92, 499-503
- Rode, L.M. and Beauchemin, K.A.(1998). Enzymes to enhance utilization of feed in dairy cows. *Journal of Animal Science*.75:641.648.
- SAS. (2001). SAS Users Guide. Version 8.2. Cary, NC:SAS Institute Inc.
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H.(1980). Principles and procedures of statistics. A biometrical approach. 2nd ed. McGraw – Hill book company, singapore.
- Sutton, J.D., Phipps, R.H., Beever, D.E., Humphries, D.J., Hartnell, G.F., Vicini, J.L. and Hard, D.L.(2003). Effect of method of application of a fibrolytic enzyme product on digestive processes and milk production in Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science*. 86: 546-556.

