

اثر آنزیم تجزیه کننده فیبر بر تولید و ترکیب شیر، هضم مواد مغذی و pH شکمبه در گاوهای هلشتاین طی اوایل دوره شیردهی

محمد رضا دهقانی^۱، مهدی دهقان بنادکی^{۲*}، کامران رضا یزدی^۱ و هرمز منصوری^۳

تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۱/۳

^۱ استادیار گروه علوم دامی دانشگاه زابل

^۲ دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه تهران

^۳ استادیار موسسه تحقیقات علوم دامی کرج

*مسئول مکاتبه: Email: dehghanb@can.ut.ac.ir

چکیده

هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر آنزیم تجزیه کننده فیبر بر روی تولید و ترکیب شیر، قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی جیره و pH شکمبه در گاوهای شیرده هلشتاین در اوایل شیردهی بود. در این آزمایش، تعداد ۱۵ راس گاو هلشتاین چند بار زایش با روزهای شیردهی 30 ± 10 روز و وزن اولیه 616 ± 12 کیلوگرم، در قالب طرح چرخشی و به طور تصادفی با یکی از جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. جیره‌های مورد استفاده شامل: (۱) جیره شاهد (جیره پایه بدون افزودن مکمل آنزیم ناتوزیم) (۲) جیره پایه به همراه ۲/۵ گرم آنزیم ناتوزیم در کیلوگرم ماده خشک و (۳) جیره پایه به همراه ۵ گرم آنزیم ناتوزیم در کیلوگرم ماده خشک بودند. طرح دارای ۳ دوره بود و در هر دوره تعداد ۵ راس گاو به هر جیره اختصاص یافتند. در هر دوره ۲۱ روزه، ماده خشک مصرفی و شیر تولیدی روزانه گاوها به صورت انفرادی، ترکیبات شیر به صورت هفتگی و تغییرات امتیاز بدنی در ابتداء و انتهای هر دوره اندازه گیری شدند. قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی جیره پایه با استفاده از نشانگر خاکستر نامحلول در اسید، اندازه گیری گردید. مایع شکمبه از هر راس در هر دوره برای تعیین pH شکمبه در صفر و ۴ ساعت بعد از تغذیه گرفته شد. نتایج بدست آمده نشان داد که استفاده از مقدار ۲/۵ گرم آنزیم بر کیلوگرم ماده خشک جیره کاملاً مخلوط به طور معنی‌داری تولید شیر ($P < 0/01$)، شیر تصحیح شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی و تولید شیر تصحیح شده بر اساس انرژی را در مقایسه با جیره شاهد و جیره دارای ۵ گرم آنزیم افزایش داد ($P < 0/05$). چربی و پروتئین شیر تولیدی در گروه دریافت کننده مقدار ۲/۵ گرم آنزیم افزایش معنی‌داری یافت ($P < 0/05$).

ماده خشک مصرفی در گروه دریافت کننده آنزیم به میزان ۲/۵ و ۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/01$). مصرف آنزیم به میزان ۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک اثر معنی‌داری بر بهبود نمره وضعیت بدنی گاوها در مقایسه با گروه شاهد و گاوهای مصرف کننده مقدار ۲/۵ گرم آنزیم داشت ($P < 0/01$). راندمان تولید شیر در گاوهای مصرف کننده مقدار ۵ گرم آنزیم به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/01$). به علاوه، تنها مقدار ۵ گرم آنزیم بر کیلوگرم ماده خشک توانست قابلیت هضم دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز را افزایش دهد ($P < 0/05$). آنزیم تأثیری بر pH شکمبه و در زمان‌های صفر و ۴ ساعت بعد از مصرف خوراک نداشت. نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف ۲/۵ گرم آنزیم بر کیلوگرم ماده خشک در جیره کاملاً مخلوط در اوایل دوره شیردهی گاو هلشتاین می‌تواند در افزایش تولید شیر مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، گاو شیرده هلشتاین، تولید و ترکیب شیر، قابلیت هضم ظاهری

Investigation of fibrolytic enzyme on milk production and composition, nutrients digestibility and rumen pH in early lactating Holstein cows

MR Dehghani¹, M Dehghan-Banadaky^{*2}, K Rezayazdi² and H Masouri³

Received: November 21, 2011

Accepted: January 23, 2012

¹Assistant professor, Department of Animal Science, University of Zabol, Iran

²Associate Professor, Department of Animal Science, University of Tehran, Iran

³Assistant professor, Animal science Research Institute, Karaj, Iran

*Corresponding Author: Email: dehghanb@can.ut.ac.ir

Abstract

The aim of this experiment was to study the effect of fibrolytic enzyme on milk yield and composition, nutrient apparent digestibility and rumen pH of Holstein cows in early lactation period. Fifteen multiparous lactating cows (DIM 30 ± 10 , and initial body weight 616 ± 12) in change over design randomly were allocated to one of experimental diets. The experimental diets included: 1) control (with no Natuzyme enzyme added to basal diet), 2) basal diet with 2.5 g/kg of Natuzyme enzyme to kg of DM 3) basal diet with 5 g/kg of Natuzyme enzyme to kg of DM. Design had three periods and five cows allocated to each diet in each period. Individual dry matter intake and daily milk yield, milk composition weekly and body condition score (BCS) changes were measured at first and at the end of each period. Digestibility of nutrients of basal diet was measured with acid insoluble ash as marker. Rumen fluid collected for determining of pH from each cow in every period at zero and 4 h after feeding. Results indicated that 2.5 g/kg of enzyme of DM of TMR increased milk production, %3.5 fat corrected milk (FCM) and energy corrected milk (ECM) compared to the other groups ($P < 0.05$). Milk fat and protein yield increased significantly ($P < 0.05$) in group that consumed 2.5 g/kg of enzyme. Dry matter intake increased significantly in cows consumed 2.5 g and 5 g/kg of DM of enzyme ($P < 0.01$). Body condition score changes were improved significantly ($P < 0.01$) for cows consumed 5 g/kg of enzyme of DM compared to cows fed with 2.5 g/kg of enzyme and control groups. Milk efficiency decreased significantly in cows consumed 5 g/kg of enzyme ($P < 0.01$). Furthermore, just diet with 5 g/kg of enzyme could increase NDF and ADF digestibility in basal diet ($P < 0.05$). The Enzyme had no any effect on rumen pH at zero and 4 h after feeding. Results of the current study indicated that the enzyme with 2.5 g/kg of DM of TMR can be useful in increasing of milk yield of early lactation Holstein cows.

Keywords: Enzyme, Holstein lactating cow, Milk production and composition, Apparent digestion

نوع، فعالیت و مقدار آنزیم، روش کاربرد و پایداری آن بستگی دارد (بوچمن و همکاران ۲۰۰۳). آنزیم‌ها را می‌توان به بخش‌های مختلف جیره از جمله علوفه، کنسانتره یا جیره کاملاً مخلوط (TMR) اضافه نمود. بوچمن و همکاران (۱۹۹۹) بیان کردند که اثر آنزیم‌ها هنگامی که در غذاهای خشک به کار روند، بیشتر است.

مقدمه

افزایش هزینه‌ها در صنعت گاو شیری باعث نیاز به ایحاد روش‌هایی برای افزایش بازده تولید شده است. یکی از راه‌های افزایش بازده، بهبود فراهمی مواد مغذی خوراک است که این کار را می‌توان با کاربرد آنزیم‌های تجزیه کننده الیاف خام انجام داد (لویس و همکاران ۱۹۹۹). پاسخ حیوان در هنگام مصرف آنزیم‌ها همواره یکسان نبوده است و به عواملی از قبیل ترکیب جیره،

¹ Total Mixed Ration

² - Crude Protein

شکمبه گاوهای شیری را هنگام تغذیه آنزیم گزارش نمودند. پاسخ به آنزیمها زمانی مثبت و قابل توجه است که هضم الیاف خام خوراک به خوبی در شکمبه انجام نشده و یا انرژی، اولین ماده مغذی محدود کننده در جیره باشد (رود و همکاران، ۱۹۹۹) که این در گاوهای شیری اوایل دوره شیردهی صادق است. لذا با توجه به موارد ذکر شده هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر آنزیم تجزیه کننده الیاف خام بر فراسنجه های تولیدی، هضم ظاهری مواد مغذی و pH شکمبه گاوهای شیرده در ابتدای دوره شیردهی بود.

مواد و روشها

مولتی آنزیم تجاری مورد استفاده در این پژوهش، ناتوزیم (Natuzyne) محصول شرکت بیوپروتون (Bioproton, Australia) بود که مخلوطی از آنزیمها مانند آمیلاز، پروتئاز، پکتیناز، سلولاز و زایلاناز بود. آنزیم به صورت جامد و پودری بوده و فعالیت سلولاز و زایلاناز آن با روش دی نیترو سالیسیلیک اسید مانند روش بیان شده به وسیله کلومباتو و بوچمن (۲۰۰۳) تعیین گردید. فعالیت سلولاز و زایلاناز در دمای $39^{\circ}C$ و $pH=6$ مشابه با شرایط شکمبه، اندازه گیری شد. از کاغذ فیلتر شماره ۱ واتمن^۱ و زایلان به عنوان سوبسترا برای اندازه گیری فعالیت سلولاز و زایلاناز (به ترتیب) استفاده شد. فعالیت در مورد سلولاز به صورت واحد کاغذ فیلتر^۲ (FPU) بیان می شود. یک واحد کاغذ فیلتر، مقدار آنزیم مورد نیاز برای آزاد سازی ۲ میلی گرم گلوکز از ۵۰ میلی گرم کاغذ فیلتر است (کلومباتو و بوچمن، ۲۰۰۳). سپس ۱۵ راس گاو شیرده هلشتاین با چند شکم زایش با میانگین روز شیردهی 30 ± 10 روز و میانگین تولید شیر 34 ± 10 کیلوگرم و میانگین وزن 12 ± 116 کیلوگرم، انتخاب

یانگ و همکاران (۲۰۰۰) اثر افزودن آنزیم به کنسانتره یا جیره کاملاً مخلوط (TMR) را مقایسه و مشاهده کردند که هنگامی که آنزیم به جیره کاملاً مخلوط (TMR) یا کنسانتره افزوده می شود، باعث بهبود قابلیت هضم ظاهری ماده آلی و پروتئین خام^۲ (CP) در مقایسه با گروه شاهد می شود. در حالی که فیپس و همکاران (۲۰۰۰) هیچ تفاوت معنی داری را بین روش های افزودن آنزیم به کنسانتره یا جیره کاملاً مخلوط مشاهده نکردند. در مطالعه دیگری برنارد و همکاران (۲۰۱۰) آنزیم سلولاز را به جیره کاملاً مخلوط دارای یونجه و برموداگراس افزودند و اثر معنی داری بر روی تولید و ترکیبات شیر و مصرف ماده خشک گاوهای شیری، مشاهده نشد.

افزایش تولید شیر هنگام کاربرد آنزیم به طور کلی مثبت بوده است (لویس و همکاران ۱۹۹۹، بوچمن و همکاران ۱۹۹۹، یانگ و همکاران ۱۹۹۹، شین گوت و همکاران ۱۹۹۹، رود و همکاران ۱۹۹۹، یانگ و همکاران ۲۰۰۰). در حالی که تغییرات در چربی و پروتئین شیر در برخی منابع مثبت (بوچمن و همکاران ۱۹۹۹) و در برخی دیگر بر چربی و پروتئین شیر تأثیر معنی داری نداشته است (یانگ و همکاران ۱۹۹۹، رود و همکاران ۱۹۹۹).

در عین حال بهبود خوراک مصرفی هنگام کاربرد آنزیم، نامحسوس و متفاوت بوده است (یانگ و همکاران ۱۹۹۹، شین گوت و همکاران ۱۹۹۹، رود و همکاران ۱۹۹۹، کانگ و همکاران ۲۰۰۰، فیپس و همکاران ۲۰۰۰ و ویسینی و همکاران ۲۰۰۳). لویس و همکاران (۱۹۹۹) افزایش کم و معنی دار ماده خشک مصرفی را در گاوهای اواسط شیردهی هنگام مصرف آنزیم های سلولاز و زایلاناز گزارش نمودند. اغلب آزمایشها نشان داده اند که آنزیم های تجزیه کننده الیاف خام بر pH شکمبه تأثیری نداشته است (هریستو و همکاران ۲۰۰۸، رود و همکاران ۱۹۹۹، بوچمن و همکاران ۱۹۹۹). اما هریستو و همکاران (۲۰۰۰) کاهش در pH

^۱ - Whatman

^۲ - Filter paper unit

مانند چربی، پروتئین، لاکتوز و مواد جامد بدون چربی (SNF)^۲ تعیین گردید. در هفته سوم هر دوره، طی ۷ روز متوالی، نمونه‌ای از مدفوع هر راس جمع آوری گردید که پس از خشک شدن در آون (دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد) آسیاب شده و مدفوع هفت روز هر راس با هم مخلوط و تا زمان تجزیه در فریزر دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. نمونه‌های مدفوع و خوراک برای تعیین ماده خشک^۳ (DM)، پروتئین خام (CP) بر اساس روش AOAC (۲۰۰۰) و دیواره سلولی^۴ (NDF) و دیواره سلولی بدون همی سلولز^۵ (ADF) بر اساس روش ون سوست و همکاران (۱۹۹۱) آنالیز گردیدند. همچنین برای تعیین قابلیت هضم از نشانگر خاکستر نا محلول در اسید^۶ (AIA) طبق روش ون کولن و یونگ (۱۹۷۷) استفاده و این معیار برای نمونه‌های خوراک و مدفوع هر راس در هر دوره، اندازه گیری گردید. در هفته سوم هر دوره با استفاده از لوله شکمبه‌ای، قبل از تغذیه خوراک صبحگاهی و ۴ ساعت بعد از تغذیه، از هر راس، مایع شکمبه استخراج شده و سپس با پارچه چهار لایه صاف شده و به ظروف پلاستیکی که درون فلاسک آب با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داشتند، منتقل شدند. نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و با pH سنج، میزان pH نمونه‌ها تعیین شد.

مدل آماری مورد استفاده به شرح زیر بود:

$$y_{ijkl} = \mu + Ti + B_k + SUB(B)_{jk} + P_l + \varepsilon_{ijkl}$$

به طوری که μ میانگین جمعیت، Ti اثر تیمار، B_k اثر k امین ترتیب تیمار، $SUB(B)_{jk}$ اثر تصادفی حیوان j داخل ترتیب k ، P_l اثر دوره l ، ε_{ijkl} اثر اشتباه آزمایشی بود. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری

شدند. قبل از شروع آزمایش، هفته اول برای عادت‌دهی گاو به جایگاه مورد نظر اختصاص یافت.

جیره پایه (جیره کاملاً مخلوط) با نرم افزار Amino cow (۲۰۰۸) و بر اساس احتیاجات غذایی NRC (۲۰۰۱) برای تأمین احتیاجات گاوهای شیری در اوائل شیردهی تنظیم گردید. مواد خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره پایه در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است. بعد از دوره عادت پذیری، گاوها بر اساس تعداد زایش و تولید شیر به طور تصادفی بین جیره‌های آزمایشی تقسیم شدند. تعداد ۵ رأس گاو به هر جیره اختصاص یافت. گاوها در جایگاه انفرادی نگهداری شدند و در هر جایگاه آبخوری خودکار نصب گردیده و حیوانات دسترسی آزاد به آب و سنگ نمک را داشتند. گاوها در نوبت صبح (ساعت ۸) و عصر (ساعت ۱۶) به صورت آزاد و در حد اشتها تغذیه شدند و پسماند آخور آنها به شکل روزانه جمع آوری و توزین گردید. طرح مورد استفاده طرح چرخشی متوازن با سه دوره، سه جیره و پنج حیوان در هر تیمار بود. هر دوره ۲۱ روز بود که هفته اول به عنوان عادت‌دهی و دو هفته بعد دوره نمونه برداری و ثبت رکورد منظور گردید. جیره‌ها شامل جیره شاهد (بدون افزودن آنزیم)، جیره دو (جیره پایه به همراه مقدار ۲/۵ گرم آنزیم در کیلوگرم ماده خشک جیره) و جیره سوم (جیره پایه به همراه مقدار ۵ گرم آنزیم بر کیلوگرم ماده خشک جیره) بود (جدول ۱).

دو ساعت قبل از توزیع خوراک، آنزیم به صورت سرک (Top dress) به جیره پایه اضافه شد. گاوها سه بار در روز شیردوشی شدند. نمره وضعیت بدنی^۱ (BCS) بر اساس روش ادمونسون و همکاران (۱۹۸۹) در ابتداء و انتهای هر دوره تعیین گردید. در دو هفته آخر هر دوره، رکورد تولید شیر روزانه ثبت شده و نمونه شیر هر وعده، در سه روز متوالی در هر دوره جمع آوری شد و با دستگاه میکواسکن اجزای شیر

² - Solid Not Fat

³ - Dry Matter

⁴ - Neutral Detergent Fiber

⁵ - Acid Detergent Fiber

⁶ - Acid Insoluble Ash

¹ - Body Condition Score

میکروبی، ۳- تغییر در ویسکوزیته دستگاه گوارش و ۴- کامل کردن آنزیم‌های نشخوارکنندگان و بهبود هضم مواد مغذی (بوچمن و همکاران ۱۹۹۹). این نتیجه با یافته‌های لويس و همکاران (۱۹۹۹) رود و همکاران (۱۹۹۹) و کانگ و همکاران (۲۰۰۲) مطابقت دارد. اما ساتون و همکاران (۲۰۰۳) یانگ و همکاران (۲۰۰۰) بومن و همکاران (۲۰۰۲) هنگامی که آنزیم را به جیره کاملاً مخلوط افزودند، تأثیری بر تولید شیر را مشاهده نکردند.

پاسخ به آنزیم‌ها زمانی مثبت و قابل توجه است که هضم الیاف خام خوراک به خوبی در شکمبه انجام نشده و یا انرژی اولین ماده مغذی محدود کننده در جیره باشد (رود و همکاران ۱۹۹۹) که با گزارش‌های شین گوت و همکاران (۱۹۹۹) و رود و همکاران (۱۹۹۹) کاملاً هماهنگ است که آنزیم بر گاوهای شیری در اوائل دوره شیردهی بر تولید شیر مؤثرتر بوده است. در این آزمایش گاوهای شیری در اوایل دوره شیردهی بوده و در تعادل منفی انرژی قرار داشته و به دلیل زمان کم ماندگاری خوراک در شکمبه و یا pH کم آن، ممکن است هضم الیاف خام مختل شود و این آنزیم‌ها می‌توانند به بهبود هضم الیاف خام در شکمبه در این شرایط کمک کنند. افزودن آنزیم به بخش بزرگتر جیره گاوهای شیری، تأثیر بهتری بر تولید شیر دارد. کاربرد آنزیم در بخش کوچکی از جیره می‌تواند سبب خروج سریع آن از شکمبه شود (بوچمن و همکاران ۲۰۰۳).

SAS (۱۹۹۶) و Proc Mixed استفاده شد و مقایسه میانگین تیمارها در سطح $P < 0.05$ انجام شد.

نتایج و بحث

میزان فعالیت سلولاز و زایلاناز برطبق روش دی نیترو سالیسیلیک اسید در آنزیم ناتوزیم به ترتیب ۰/۵ واحد کاغذ فیلتر و ۰/۸ میکرومول بر دقیقه بر میلی لیتر آنزیم بود. با استفاده از کاغذ فیلتر، کل فعالیت آنزیمی سلولاز (اندوگلوکوناز و اگزوگلوکوناز) اندازه گیری می‌شود و تجزیه سلولز نیاز به فعالیت هر دو آنزیم دارد (کلومباتو و بوچمن ۲۰۰۳). فعالیت آنزیم‌های تجاری اغلب در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و pH ۵-۴ اندازه گیری می‌شود که نماینده شرایط موجود در شکمبه نیست (کلومباتو و بوچمن ۲۰۰۳) و لذا فعالیت آنزیم ناتوزیم جهت شبیه سازی شرایط شکمبه در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد و pH ۶ اندازه گیری شد. فعالیت زایلاناز این آنزیم بیش از سلولاز است و نشان داده شده است که بالا بودن فعالیت زایلاناز رابطه مثبتی با تجزیه پذیری (در آزمایشگاه) علوفه یونجه دارد (نسرکو و همکاران ۲۰۰۰; کلومباتو و همکاران ۲۰۰۳) به علاوه والاس و همکاران (۲۰۰۱) رابطه مثبت بالایی را بین فعالیت سلولاز و تولید گاز برای سیلاژ ذرت گزارش نمودند ($r=0.78$). در مقابل فعالیت زیاد زایلاناز هنگامی که فعالیت سلولاز کم بود، تأثیری بر تولید گاز نداشت.

تأثیر آنزیم بر تولید و ترکیب شیر گاوها در جدول ۳ نشان داده شده است. مقدار ۲/۵ گرم آنزیم بر کیلوگرم ماده خشک جیره کاملاً مخلوط، سبب بهبود تولید شیر، تولید شیر تصحیح شده با ۳/۵ درصد چربی و تولید شیر تصحیح شده بر اساس انرژی در مقایسه با گروه شاهد شد ($P < 0.05$). احتمالاً افزایش تولید شیر به دلیل افزایش قابلیت دسترسی مواد مغذی جیره و اثر مستقیم آنزیم بر هضم مواد مغذی در کل دستگاه گوارش باشد که می‌تواند سازوکارهای مختلفی داشته باشد که عبارتند از: ۱- هیدرولیز مستقیم غذا، ۲- بهبود اتصال

جدول ۱- مواد خوراکی جیره پایه (بر حسب درصد در ماده خشک)

ماده خوراکی	درصد
یونجه	۲۱/۳
سیلاژ ذرت	۱۸/۷
دانه جو	۱۵
دانه ذرت	۸/۴
دانه گندم	۵/۶
سبوس گندم	۱/۵۳
کنجاله کلزا	۹/۵
کنجاله سویا	۷/۸
کنجاله گلوتن ذرت	۰/۵۸
تخم پنبه	۲/۹
تفاله چغندر	۲/۵
پودر چربی	۱/۸
مکمل معدنی ویتامینی ^۱	۰/۶۷
جوش شیرین	۰/۹
نمک طعام	۰/۲۶
کربنات کلسیم	۰/۱۹
دی کلسیم فسفات	۰/۳۷
زئولیت	۲

^۱ هر کیلوگرم از این مکمل دارای ۵۰۰ هزار واحد بین المللی ویتامین A، ۲۰۰ هزار واحد بین المللی ویتامین D₃، ۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۵۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان، ۱۲۰ گرم کلسیم، ۴۰ گرم فسفر، ۲۱ گرم منیزیم، ۳۰۰ میلی‌گرم آهن، ۶۰ گرم سدیم، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۲۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۳۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۰۰ میلی‌گرم ید و ۳۵ میلی‌گرم سلنیوم بود.

حاوی سطح بالای آنزیم در این پژوهش نیز همین موضوع باشد.

آنزیم تأثیر معنی‌داری بر درصد چربی و پروتئین نداشت. اگرچه از لحاظ عددی درصد چربی و پروتئین شیر در گروه مصرف‌کننده سطح کم آنزیم بالاتر بود. در پژوهش‌های دیگر نیز که افزایش تولید شیر را به دلیل اثر آنزیم گزارش کرده‌اند، آنزیم بر درصد چربی و پروتئین شیر اثر معنی‌داری نداشته است (رود و همکاران ۱۹۹۹، کانگ و همکاران ۲۰۰۰ و یانگ و همکاران ۱۹۹۹). چربی شیر تولیدی (کیلوگرم/روز) در گروه مصرف‌کننده سطح کم آنزیم به صورت معنی‌داری ($P < 0.05$) به دلیل افزایش تولید شیر افزایش

در این آزمایش سطح بالای آنزیم (۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک) سبب افزایش معنی‌دار تولید شیر در مقایسه با شاهد نگردید که این نتیجه مطابق با یافته لویس و همکاران (۱۹۹۵) است که در پژوهش آنها میزان کم آنزیم توانست تولید شیر را افزایش دهد و سطح بالای آنزیم بر تولید شیر تأثیری نداشت. در اکثر آزمایش‌ها، پاسخ به سطوح مختلف آنزیم مصرفی، خطی نبوده است (بوچمن و همکاران ۲۰۰۰). آنزیم در غلظت زیاد ممکن است با باکتری‌های شکمبه برای اتصال به ذرات غذا رقابت کند و بنابراین کل فعالیت باکتریایی شکمبه کاهش یابد (بوچمن و همکاران ۲۰۰۰) و ممکن است دلیل عدم افزایش تولید شیر در جیره

میکروبیهای شکمبه باشد. این با یافته بوچمن و همکاران (۱۹۹۹) ساتون و همکاران (۲۰۰۳) هماهنگ است که آنزیم توانست مقدار پروتئین شیر را افزایش دهد.

یافت. پروتئین شیر تولیدی در گروه دریافت کننده سطح کم آنزیم افزایش معنی داری یافت ($P < 0.05$) و این (مقدار پروتئین شیر) در گروه دریافت کننده سطح زیاد آنزیم با شاهد تفاوت معنی داری نداشت. این ممکن است به دلیل افزایش سنتز پروتئین میکروبی از اثر آنزیم بر

جدول ۲- غلظت انرژی و مواد مغذی جیره پایه (بر حسب ماده خشک)

مقدار	انرژی و ماده مغذی
۱/۶۶	انرژی خالص شیردهی (مگا کالری در کیلوگرم)
۱۷/۰	پروتئین خام (درصد)
۶۹/۱	پروتئین تجزیه پذیر از پروتئین خام (درصد)
۳۰/۹	پروتئین تجزیه ناپذیر از پروتئین خام (درصد)
۳۷/۴	دیواره سلولی (درصد)
۱۸/۸	دیواره سلولی عاری از همی سلولز (درصد)
۳/۱	عصاره اتری (درصد)
۰/۸۶	کلسیم (درصد)
۰/۴۸	فسفر (درصد)
۵۹/۶	ماده خشک (درصد)

به جز انرژی خالص شیردهی که از نرم افزار بدست آمد، سایر موارد از تجزیه شیمیایی در آزمایشگاه تعیین گردید.

آنزیم مورد استفاده احتمالاً توانسته است سبب محلول شدن بخشی از دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز جیره شده که می تواند باعث افزایش سرعت عبور ذرات خوراک از شکمبه شود (فنج و همکاران ۱۹۹۶). به علاوه افزایش مصرف خوراک می تواند احتمالاً به دلیل هضم بهتر الیاف خام در شکمبه باشد (زین و سالیناس ۱۹۹۹). بهبود مصرف ماده خشک می تواند به دلیل خوشخوراک شدن جیره هنگام افزودن آنزیم باشد (بوچمن و همکاران ۲۰۰۰).

راندمان تولید شیر در گاوهای دریافت کننده مقدار ۲/۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک از آنزیم در مقایسه با سطح ۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک آنزیم به طور معنی داری بهبود یافت ($P < 0.05$). کاهش راندمان تولید شیر (نسبت تولید شیر تصحیح شده بر اساس ۳/۵٪

کل مواد جامد شیر نیز در گاوهای مصرف کننده سطح ۵ گرم آنزیم در مقایسه با شاهد و گروه مصرف کننده سطح ۲/۵ گرم آنزیم، کاهش معنی داری یافت ($P < 0.05$). ماده خشک مصرفی به طور معنی داری در گاوهای مصرف کننده مقدار ۲/۵ و ۵ گرم آنزیم در مقایسه با شاهد افزایش یافت ($P < 0.05$). اثر مثبت آنزیم بر ماده خشک مصرفی با نتایج آزمایش بوچمن و همکاران (۲۰۰۰) لوچینی و همکاران (۱۹۹۷) و لویس و همکاران (۱۹۹۹) هماهنگ است که آنزیم هنگام استفاده در جیره کاملاً مخلوط باعث افزایش ماده خشک مصرفی گردید اما با پژوهش شین گوت و همکاران (۱۹۹۹) کانگ و همکاران (۲۰۰۰ و ۲۰۰۲) و فیپس و همکاران (۲۰۰۰) توافق ندارد. این تفاوت در نتایج پژوهشها می تواند به دلیل تفاوت در نوع و فعالیت آنزیم، ترکیب جیره و روش کاربرد آنزیم باشد.

چربی بر کیلوگرم ماده خشک مصرفی) در گاوهای دریافت کننده سطح ۵ گرم آنزیم می‌تواند به دلیل افزایش ماده خشک مصرفی و کاهش تولید شیر باشد.

جدول ۳- تأثیر سطوح مختلف آنزیم بر تولید و ترکیب شیر و امتیاز بدنی گاوها

SEM ^۲	P value	سطح ۲ آنزیم ^۲	سطح ۱ آنزیم ^۱	شاهد
۰/۹۰	*	۳۷/۹ ^{ab}	۳۹/۲ ^a	۳۶/۸ ^{bz} تولید شیر (کیلوگرم در روز)
۰/۹۹	*	۳۵/۳ ^{ab}	۳۷/۱ ^a	۳۴/۶ ^b تولید شیر تصحیح شده بر اساس ۳/۵٪ چربی (کیلوگرم در روز)
۰/۹۴	*	۳۲/۳ ^{ab}	۳۴/۱ ^a	۳۱/۴ ^b تولید شیر تصحیح شده بر اساس انرژی (کیلوگرم در روز) ^۱
۰/۰۵۶	NS	۳/۱۵	۳/۱۶	۳/۱۳ درصد چربی شیر
۰/۰۳۷	*	۱/۱۶ ^b	۱/۲۵ ^a	۱/۱۵ ^b چربی شیر تولیدی (کیلوگرم در روز)
۰/۰۷۷	NS	۲/۹۱	۲/۹۲	۲/۸۲ درصد پروتئین شیر
۰/۰۴۱	*	۱/۱۰ ^{ab}	۱/۱۵ ^a	۱/۰۴ ^b پروتئین شیر تولیدی (کیلوگرم در روز)
۰/۰۴۳	NS	۴/۸۷	۴/۹۴	۴/۸۹ لاکتوز شیر (درصد)
۰/۱۸۲	**	۱۰/۰۳ ^b	۱۰/۵۲ ^a	۱۰/۵۴ ^a کل مواد جامد شیر (درصد)
۰/۰۹۷	NS	۷/۹۷	۸/۰۸	۸/۰۲ مواد جامد بدون چربی شیر (درصد)
۰/۲۷۸	**	۲۵/۲ ^a	۲۳/۸ ^b	۲۲/۴ ^c ماده خشک مصرفی (کیلوگرم در روز)
۰/۱۱	**	۰/۳ ^a	-۰/۱ ^b	-۰/۱ ^b تغییرات نمره بدنی
۰/۰۵۴	**	۱/۴۰ ^b	۱/۵۷ ^a	۱/۵۴ ^a بازده تولید شیر ^۷

۱. مقدار ۲/۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک جیره کاملاً مخلوط

۲. مقدار ۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک جیره کاملاً مخلوط

۳. Standard error of the mean .

۴. حروف انگلیسی متفاوت در یک ردیف به معنای اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

۵. NS: معنی دار نبود

$$۶. \left(\frac{3140}{\% \text{ لاکتوز} \times 163.2 + \% \text{ پروتئین} \times 242 + \% \text{ چربی} \times 383} \right) \times \text{شیر تولیدی}$$

۷. نسبت تولید شیر تصحیح شده بر اساس ۳/۵٪ چربی بر کیلوگرم ماده خشک مصرفی

* معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۵

** معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۱

قابلیت هضم دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز در سطح ۵ گرم آنزیم بر کیلوگرم ماده خشک بهبود معنی‌داری یافت (P < ۰/۰۵). افزایش هضم لیاف

قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در جدول ۴ گزارش شده است. استفاده از آنزیم تأثیری بر هضم ظاهری ماده خشک، پروتئین و ماده آلی جیره پایه نداشت اما

فعال شوند (بوچمن و همکاران ۲۰۰۴). در این پژوهش نیز آنزیم‌ها چند ساعت قبل از تغذیه به جیره کاملاً مخلوط هر راس گاو شیری اضافه شد تا زمان کافی برای اتصال آنزیم به غذا وجود داشته باشد و آنزیم بتواند در شکمبه هم فعال باشد.

pH شکمبه گاوهای آزمایشی قبل و ۴ ساعت بعد از تغذیه جیره‌های آزمایشی در جدول ۵ نشان داده شده است. مقادیر کم و زیاد آنزیم تأثیر معنی‌داری بر pH شکمبه در ساعت‌های صفر و ۴ ساعت بعد از تغذیه نداشت. این نتایج با یافته‌های یانگ و همکاران (۱۹۹۹)؛ بوچمن و همکاران (۲۰۰۰) و پینوس -رودریگوئز و همکاران (۲۰۰۲) هماهنگ است که هنگام تغذیه آنزیم تفاوت معنی‌داری را در pH شکمبه در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نکردند. اما لویس و همکاران (۱۹۹۶) و هریستو و همکاران (۲۰۰۰) به ترتیب هنگام تغذیه با علوفه فرآوری شده و دانه جو فرآوری شده با آنزیم، کاهش معنی‌داری در pH شکمبه را گزارش نمودند.

خام در گروه دریافت کننده سطح بالای آنزیم مؤید این است که آنزیم به دلیل دارا بودن فعالیت سلولاز و زیلاناز توانسته است بخشی از الیاف خام را محلول و هضم آن را افزایش دهد که این با یافته‌های یانگ و همکاران (۱۹۹۹) رود و همکاران (۱۹۹۹) و بوچمن و همکاران (۱۹۹۹) هماهنگ است که آنزیم تجزیه کننده الیاف خام، سبب بهبود هضم دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز در جیره گاوهای شیری گردید اما ساتون و همکاران (۲۰۰۳) و یانگ و همکاران (۲۰۰۰) تفاوتی را در هضم ظاهری دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز هنگام تغذیه آنزیم در گاو شیری مشاهده نکردند. در آزمایش بوچمن و همکاران (۲۰۰۰) میزان ۲/۵ گرم آنزیم، هضم مواد مغذی را افزایش داد. یانگ و همکاران (۱۹۹۹) نیز همانند نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر بهبود هضم را با سطوح زیاد آنزیم گزارش نمودند. البته تفاوت نتایج این پژوهش با سایر پژوهش‌ها می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع و فعالیت آنزیم، روش کاربرد آنزیم و ترکیب جیره باشد.

استفاده از سطح بالای آنزیم (۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره) سبب بهبود معنی‌دار نمره وضعیت بدنی گاوها گردید ($P < 0.01$) که می‌تواند به دلیل انتقال بیشتر انرژی دریافتی به سمت ذخایر بدنی باشد که با یافته‌های لویس و همکاران (۱۹۹۹) رود و همکاران (۱۹۹۹) و یانگ و همکاران (۲۰۰۰) مطابقت دارد. این با افزایش مصرف ماده خشک در این گروه از گاوها مطابقت دارد.

با توجه به این که افزودن آنزیم به جیره کاملاً مخلوط پیش از تغذیه باعث افزایش اتصال آنزیم به غذا می‌شود و این حالت می‌تواند مقاومت آنزیم به پروتئولیز را بهبود داده و سبب افزایش طول عمر آنزیم در شکمبه گردد (بوچمن و همکاران ۲۰۰۰). آنزیم‌هایی که آزادانه به درون مایع شکمبه رها شوند، می‌توانند به وسیله آنزیم‌های تجزیه کننده میکروارگانیسم‌های شکمبه غیر

جدول ۴- تأثیر سطوح مختلف آنزیم بر قابلیت هضم مواد مغذی (بر حسب درصد)

P value	SEM ^۲	سطح ۲ آنزیم ^۲	سطح ۱ آنزیم ^۱	کنترل	
°NS	۲/۱	۶۲	۶۱	۶۰	ماده خشک
NS	۲/۲	۶۳	۶۳	۶۱	پروتئین خام
NS	۲/۸	۶۶	۶۵	۶۲	ماده آلی
*	۲/۹	۴۹ ^b	۴۳ ^a	۴۲ ^{ae}	دیواره سلولی
*	۳/۱	۴۴ ^b	۴۱ ^a	۴۰ ^a	دیواره سلولی بدون همی سلولز

۱. مقدار ۲/۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک جیره کاملاً مخلوط

۲. مقدار ۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک جیره کاملاً مخلوط

۳. Standard error of the mean .

۴. حروف انگلیسی متفاوت در یک ردیف به معنای اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است

۵. NS: معنی‌دار نیست

* معنی‌دار در سطح $P < 0.05$

نتیجه‌گیری

در اوایل زایش، توانست تولید شیر، مقدار چربی و پروتئین شیر و ماده خشک مصرفی را به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد افزایش دهد.

نتایج این آزمایش نشان داد که افزودن ۲/۵ گرم آنزیم ناتوزیم در کیلوگرم ماده خشک جیره گاوهای شیرده

جدول ۵- pH شکمبه گاوهای آزمایشی قبل و ۴ ساعت بعد از تغذیه جیره‌های آزمایشی

۴ ساعت بعد از تغذیه	صفر ساعت	
۶/۱	۶/۳	کنترل
۶/۰	۶/۴	سطح ۱ آنزیم ^۱
۶/۰	۶/۲	سطح ۲ آنزیم ^۲
NS	NS	P تیمار
۰/۱۰	۰/۱۱	SEM ^۳

۱. مقدار ۲/۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک جیره کاملاً مخلوط

۲. مقدار ۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک جیره کاملاً مخلوط

۳. Standard error of the mean .

سیاسگزاری

کشاورزی دانشگاه تهران در اجرای این طرح تشکر می‌گردد. از مدیریت شرکت تک فرآورده‌های آریا نیز به دلیل تهیه آنزیم برای انجام پژوهش قدردانی می‌شود.

از همکاری‌ها و مساعدت معاونت پژوهشی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران و پرسنل گروه و مزرعه آموزشی - پژوهشی علوم دامی پردیس

منابع مورد استفاده

- Association of Official Analytical Chemists, 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC, Washington, DC.
- Beauchemin KA, Colombatto D, Morgavi DP and Yang WZ, 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. J Dairy Sci 81:E37-E47.
- Beauchemin KA, Colombatto D, Morgavi DP, Yang WZ and Rode LM, 2004. Mode of action of exogenous cell wall degrading enzymes for ruminants. Can J Anim Sci 84:13-22.
- Beauchemin KA, Rode LM, Maekawa M, Morgavi DP and Kampen R, 2000. Evaluation of a nonstarch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets. J Dairy Sci 83: 543-553.
- Beauchemin KA, Yang WZ and Rode LM, 1999. Effect of grain source and enzyme additive on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. J Dairy Sci 82: 378-390.
- Bernard JK, Castro JJ, Mullis NA, Adesogan AT, West JW and Morantes G, 2010. Effect of feeding alfalfa hay or Tifon 85 bermudagrass haylage with or without cellulase enzyme on performance of Holstein cows. J Dairy Sci 93: 5280-5285.
- Bowman GR, Beauchemin KA and Shelford JA, 2002. The proportion of feed to which a fibrolytic enzyme additive is applied affects nutrient digestion by lactating dairy cows. J Dairy Sci 85:3420-3429.
- Colombatto D and Beauchemin KA, 2003. A proposed methodology to standardize the determination of enzymic activities present in enzyme additives used in ruminant diets. Can J Anim Sci 83: 559-568.
- Colombatto D, Mould FL, Bhat MK, Morgavi DP, Beauchemin KA and Owens E, 2003. Influence of fibrolytic enzymes on the hydrolysis and fermentation of pure cellulose and xylan by mixed ruminal microorganism *in vitro*. J Anim Sci 81:1040-1050.
- Edmonson A, Lean IJ, Weaver LD, Farver T and Webster G, 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. J Dairy Sci 72:68-78.
- Feng P, Hunt CW, Pritchard GT and Julien WE, 1996. Effect of enzyme preparations on *in situ* and *in vitro* degradation and *in vivo* digestive characteristics of mature cool-season grass forage in beef steers. J Anim Sci 74: 1349-1357.
- Hristov AN, Basel CE, Melgar A, Foley AE, Ropp JK, Hunt CW and Tricarico JM, 2008. Effect of exogenous polysaccharide degrading enzyme preparations on ruminal fermentation and digestibility of nutrients in dairy cows. Anim Feed Sci Technol 145:182-193.
- Hristov AN, McAllister TA and Cheng KJ, 2000. Intraruminal supplementation with increasing levels of exogenous polysaccharide- degrading enzymes: effects on nutrient digestion in cattle fed a barley grain diet. J Anim Sci 78: 477-487.
- Kung LJr, Cohen MA, Rode LM and Treacher RJ, 2002. The effect of fibrolytic enzymes sprayed onto forages and fed in a total mixed ration to lactating dairy cows. J Dairy Sci 85: 2396-2402.
- Kung LJr, Treacher RJ, Nauman GA, Smagala AM, Endres KM and Cohen MA, 2000. The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. J Dairy Sci 83: 115-122.
- Lewis GE, Hunt CW, Sanchez WK, Treacher R, Pritchard GT and Feng P, 1996. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. J Anim Sci 74:3020-3028.

- Lewis GE, Sanchez WK, Hunt CW, Guy MA, Pritchard GT, Swanson BI and Treacher R, 1999. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the lactational performance of dairy cows. *J Dairy Sci* 82:611–617.
- Luchini ND, Broderick GA, Hefner DL, Derosa R, Reynal S and Treacher R, 1997. Production response to treating forage with fibrolytic enzymes prior to feeding to lactating cows. *J Dairy Sci* 80 (Suppl. 1):262.
- Nsereko VL, Morgavi DP, Rode LM, Beauchemin KA and McAllister TA, 2000. Effects of fungal enzyme preparations on hydrolysis and subsequent degradation of alfalfa hay fiber by mixed rumen microorganisms *in vitro*. *Anim Feed Sci Technol* 88:153–170.
- Phipps RH, Sutton JD, Beever DE, Bhat MK, Hartnell GF, Vicini J and Hard DL, 2000. Effect of cell-wall degrading enzymes and method of application on feed intake and milk production of Holstein-Friesian dairy cows. *J Dairy Sci* 83(Suppl. 1):23. (Abstr.).
- Pinos- Rodriguez JM, Gonzalez SS, Mendoza GD, Bareena R, Cobos MA, Hernandez A and Ortega ME, 2002. Effect of exogenous fibrolytic enzyme on ruminal fermentation and digestibility of alfalfa and ryegrass hay fed to lambs. *J Anim Sci* 80:3016-3020.
- Rode LM, Yang WZ and Beauchemin KA, 1999. Fibrolytic enzyme supplements for dairy cows in early lactation. *J Dairy Sci* 82:2121–2126.
- SAS Institute, 1996. SAS/STAT User's Guide. Release 9.1. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
- Schingoethe DJ, Stegeman GA and Treacher RJ, 1999. Response of lactating dairy cows to a cellulase and xylanase enzyme mixture applied to forage at the time of feeding. *J Dairy Sci* 82:996–1003.
- Sutton JD, Phipps RH, Beever DE, Humphries DJ, Hartnell GF, Vicini JL and Hard DL, 2003. Effect of method of application of a fibrolytic enzyme product on digestive processes and milk production in Holstein-Friesian cows. *J Dairy Sci* 86:546–556.
- Van Keulen J and Young BA, 1977. Evaluation of acid insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *J Anim Sci* 44:282–287.
- Van Soest PJ, Roberts JB and Lewis BA, 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 74:3583-3597.
- Vicini JL, Bateman HG, Bhat MK, Clark JH, Erdman RA, Phipps RH, Van Amburgh ME, Hartnell GF, Hintz RL and Hard DL, 2003. Effect of feeding supplemental fibrolytic enzymes or soluble sugars with malic acid on milk production. *J Dairy Sci* 86:576–585.
- Wallace RJ, Wallace SJ, McKain AN, Nsereko VL and Hartnell GF, 2001. Influence of supplementary fibrolytic enzymes on the fermentation of corn and grass silages by mixed ruminal microorganisms *in vitro*. *J Anim Sci* 79: 1905-1916.
- Yang WZ, Beauchemin KA and Rode LM, 1999. Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 82: 391–403.
- Yang WZ, Beauchemin KA and Rode LM, 2000. A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets *J Dairy Sci* 83: 2512–2520.
- Zinn RA and Salinas J, 1999. Influence of fibrozyme on digestive function and growth performance of feedlot steers fed a 78% concentrate growing diet. Pages 313–319. in Proc. Alltech's Fifteenth Annual Symposium, Nottingham university Press, Loughborough, UK.