



دانشگاه گیلان

دانشکده کشاورزی

گروه علوم دامی

### پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم دامی

### عنوان

بررسی اثر آنزیم‌های فیبرولیتیک برون‌زاد بر عملکرد گاوهای هلشتاین در  
اوایل شیردهی

استاد راهنما:

دکتر حسن علی عربی

استاد مشاور:

دکتر علی اصغر ساکی

پژوهشگر:

علی محمودی

زمستان ۱۳۸۸

۱..... مقدمه

### فصل اول: بررسی منابع

۳.....	۱-۱- آنزیم‌ها و اهمیت آنها
۴.....	۱-۱-۱- گلیکولیز هیدرولازها
۴.....	۱-۳- ویژگیهای فیزیوشیمیایی
۵.....	۱-۳-۱- فعالیت‌های آنزیمی پیچیده برای هضم دیواره سلولی
۶.....	۱-۴- منابع آنزیم‌های فیرولیتیک
۷.....	۱-۵- اثر آنزیم‌ها در حیوانات مختلف
۸.....	۱-۵-۱- گاوهای شیری
۸.....	۱-۵-۲- گاوهای گوشتی
۹.....	۱-۵-۳- گوساله‌های شیری
۹.....	۱-۵-۴- گوسفند پرواری
۱۰.....	۱-۶- روشهای افزودن آنزیم به خوراک
۱۰.....	۱-۶-۱- اسپری کردن آنزیم در حالت محلول به خوراک
۱۲.....	۱-۶-۲- افزودن پودر آنزیم به جیره
۱۳.....	۱-۷- اثر آنزیم بر روی عملکرد دام
۱۴.....	۱-۸- شرایط آنزیم‌های خوراکی تنظیم کننده
۱۴.....	۱-۹- تغذیه مستقیم میکروبی آنزیم
۱۶.....	۱-۱۰- فعالیت شکمبه‌ای و پایداری آنزیم در تغذیه مستقیم آنزیم
۱۷.....	۱-۱۱- فعالیت آنزیم
۱۸.....	۱-۱۲- سطح آنزیم
۱۹.....	۱-۱۳- مرحله شیردهی گاوهای شیری
۲۰.....	۱-۱۴- ویژگی آنزیم-خوراک
۲۰.....	۱-۱۵- زمان توزیع آنزیم
۲۱.....	۱-۱۶- جزئیات آنزیم-خوراک و بخشی از جیره که آنزیم به آن افزوده می‌شود
۲۲.....	۱-۱۷- سطح تولید حیوان
۲۳.....	۱-۱۸- طرز عمل، یک فرضیه تلفیقی

### فصل دوم: مواد و روشها

۲۵.....	۱-۲- محل آزمایش و حیوانات آزمایشی
۲۶.....	۲-۲- انتخاب و مدیریت نگهداری گاوهای شیری
۲۶.....	۳-۲- تنظیم جیره غذایی و خوراک دادن حیوانات
۲۷.....	۴-۲- نمونه‌برداری صفات مورد آزمایش
۲۷.....	۴-۲-۱- نمونه‌برداری مواد خوراکی
۲۸.....	۴-۲-۲- نمونه‌برداری از شیر
۲۸.....	۴-۲-۳- نمونه‌برداری از مدفوع
۳۰.....	۵-۲- اندازه گیری ترکیبات نمونه ها
۳۱.....	۶-۲- تنظیم و تجزیه و تحلیل اطلاعات

### فصل سوم: نتایج و بحث

۳۳.....	۱-۳- تجزیه آزمایشگاهی مواد خوراکی
۳۶.....	۲-۳- ماده خشک مصرفی

۳۵.....	۳-۳- تولید شیر.....
۳۷.....	۴-۳- شیر تصحیح شده.....
۳۹.....	۵-۳- ترکیب شیر.....
۳۹.....	۱-۵-۳- چربی شیر.....
۴۰.....	۲-۵-۳- پروتئین شیر.....
۴۲.....	۳-۵-۳- لاکتوز.....
۴۳.....	۴-۵-۳- مواد جامد بدون چربی.....
۴۵.....	۶-۳- قابلیت هضم ظاهری.....
۴۵.....	۱-۶-۳- قابلیت هضم ظاهری ماده خشک.....
۴۶.....	۲-۶-۳- قابلیت هضم ظاهری ماده آلی.....
۴۸.....	۳-۶-۳- قابلیت هضم ظاهری دیواره سلولی.....
۴۹.....	۴-۶-۳- قابلیت هضم ظاهری دیواره سلولی بدون همی سلولز.....
۵۰.....	۵-۶-۳- قابلیت هضم ظاهری پروتئین خام.....
۵۲.....	۷-۳- بازده ناخالص انرژی.....
۵۳.....	۸-۳- نتیجه گیری.....
۵۴.....	۹-۳- پیشنهادات و دورنمای تحقیقات آینده.....

جدول ۱-۱- اسپری آنزیم روی جیره قبل از خوراک‌دهی، روی تولید شیر در تحقیقات انتشار یافته بین سالهای ۱۹۹۹-۲۰۰۰.....	۱۰
جدول ۱-۲- مشخصات گاوهای شیری انتخابی .....	۲۵
جدول ۲-۲- ترکیب جیره غذایی گاوهای شیری .....	۲۷
جدول ۳-۲- میزان مصرف آنزیم (گرم) در هر دوره ۲۰ روزه .....	۲۷
جدول ۱-۳- نتایج تجزیه آزمایشگاهی مواد خوراکی .....	۳۳
جدول ۲-۳- مواد مغذی جیره‌های آزمایشی .....	۳۳
جدول ۳-۳- نتایج مقایسه میانگین میزان ماده خشک مصرفی در ۵ روز پایانی (کیلوگرم در روز).....	۳۵
جدول ۴-۳- اثر آنزیم سلولاز بر تولید شیر (کیلوگرم در روز) .....	۳۸
جدول ۵-۳- اثر آنزیم سلولاز بر ترکیب شیر (%) .....	۳۸
جدول ۶-۳- اثر آنزیم سلولاز بر ترکیب شیر (کیلوگرم) .....	۳۹
جدول ۷-۳- اثر آنزیم سلولاز بر قابلیت هضم ظاهری .....	۵۰
جدول ۸-۳- اثر آنزیم سلولاز بر بازده ناخالص انرژی .....	۵۲

شکل ۱-۱- طرز عمل ترکیبات آنزیم سلولاز .....	۶
شکل ۲-۱- روشهای مختلف عملکردهای افزودنیهای قارچی .....	۱۶
شکل ۳-۱- سوبسترای ویژه- قفل و کلید بومن ، بیوجمین و شلفورد .....	۲۴
شکل ۱-۲- آماده سازی باکس های انفرادی و قرار دادن گاوها .....	۲۶
شکل ۲-۲- دستگاه میکرواسکن مدل فوس ۶۰۵ .....	۳۰
شکل ۳-۲- دستگاه تعیین الیاف مدل فوس ۲۰۱۰ .....	۳۱
شکل ۱-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر مصرف ماده خشک .....	۳۵
شکل ۲-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر تولید شیر .....	۳۷
شکل ۳-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر روی تولید شیر تصحیح شده بر اساس ۴ درصد چربی .....	۳۸
شکل ۴-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر درصد چربی شیر .....	۴۰
شکل ۵-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر چربی شیر (کیلوگرم در روز) .....	۴۰
شکل ۶-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر درصد پروتئین شیر .....	۴۱
شکل ۷-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر پروتئین شیر (کیلوگرم در روز) .....	۴۲
شکل ۸-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر درصد لاکتوز شیر .....	۴۳
شکل ۹-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر لاکتوز شیر (کیلوگرم در روز) .....	۴۳
شکل ۱۰-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر درصد مواد جامد بدون چربی .....	۴۴
شکل ۱۱-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر مواد جامد بدون چربی شیر (کیلوگرم در روز) .....	۴۵
شکل ۱۲-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر قابلیت هضم ماده خشک خوراک (درصد) .....	۴۶
شکل ۱۳-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر قابلیت هضم ماده آلی خوراک (درصد) .....	۴۷
شکل ۱۴-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر قابلیت هضم دیواره سلولی (درصد) .....	۴۹
شکل ۱۵-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر قابلیت هضم دیواره سلولی بدون همی سلولز (درصد) .....	۵۰
شکل ۱۶-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر قابلیت هضم پروتئین خام (درصد) .....	۵۱
شکل ۱۷-۳- اثر سطوح مختلف آنزیم بر بازده ناخالص انرژی (درصد) .....	۵۲

## چکیده

تعداد ۶ رأس گاو هلشتاین شکم اول در قالب دو مربع لاتین چرخشی  $3 \times 3$  ادغام شده جهت بررسی اثر سطوح مختلف آنزیم فیرولیتیک نوع سلولاز بر مصرف ماده خشک، قابلیت هضم مواد مغذی و صفات مربوط به تولید شیر استفاده شدند. این آزمایش به صورت چرخشی در سه دوره ۲۰ روزه انجام گرفت. جیره پایه حاوی ۵۰ درصد کنسانتره (جو آسیاب شده، سبوس گندم، تخم پنبه، کنجاله تخم پنبه و مکمل و بخش علوفه‌ای شامل ذرت سیلوشده و یونجه خشک) بود. تیمارهای آزمایشی شامل (۱) شاهد (بدون آنزیم)، (۲) جیره حاوی ۵/۰ گرم آنزیم سلولاز اسپری شده به روی یونجه و (۳) جیره حاوی ۱ گرم آنزیم اسپری شده به روی یونجه بودند. در هر دوره، اندازه گیری خوراک مصرفی و قابلیت هضم در روزهای ۱۴ تا ۱۸ و رکورد برداری و نمونه گیری از شیر تولیدی در روزهای ۱۹ و ۲۰ انجام شد. افزودن سطح ۵/۰ گرم آنزیم به بخش علوفه‌ای جیره‌های آزمایشی موجب افزایش معنی‌دار تولید شیر، تولید شیر تصحیح شده برای ۴ درصد چربی، قابلیت هضم ماده خشک، دیواره سلولی، ماده آلی و بهبود بازده انرژی ناخالص در گاوهای آزمایشی در مقایسه با جیره شاهد و جیره حاوی ۱ گرم آنزیم سلولاز گردید. هر چند ماده خشک مصرفی و قابلیت هضم پروتئین تحت تأثیر قرار نگرفت. استفاده از سطوح مختلف آنزیم‌های فیرولیتیک در جیره‌های آزمایشی بر درصد ترکیبات شیر شامل چربی، پروتئین، لاکتوز و مواد جامد بدون چربی و مقدار تولید روزانه لاکتوز شیر اثر معنی‌داری نداشت. تولید چربی، پروتئین و مواد جامد بدون چربی شیر در گاوهای دریافت کننده جیره حاوی ۵/۰ گرم آنزیم سلولاز در مقایسه با دو گروه دیگر بطور معنی‌داری بیشتر بود و چربی، پروتئین و مواد جامد بدون چربی شیر نیز در گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی ۱ گرم آنزیم سلولاز بطور معنی‌داری از گاوهای تغذیه شده با جیره شاهد بالاتر بود. نتایج کلی نشان دادند که استفاده از مکمل آنزیم سلولاز خارجی به مقدار ۵/۰ و یک گرم در روز در تغذیه گاوهای شیرده در اوایل شیردهی ضمن افزایش قابلیت هضم ماده خشک و فیبر جیره باعث افزایش شیر تولیدی می‌شود و بهترین اثر در سطح ۵/۰ گرم در روز می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم فیرولیتیک، قابلیت هضم، عملکرد شیردهی، گاو شیری

مقدمه

برای کاربرد یک نوع فناوری در صنعتی خاص، شناخت محیط تجاری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این موضوع درباره کاربرد آنزیم به عنوان یک فناوری در صنعت خوراک دام صادق است (بدفورد و پارتریج<sup>۱</sup>، ۲۰۰۰). فناوری آنزیم در واقع از سال ۱۸۷۴ به دنبال تولید اولین فرآورده آنزیمی خالص آغاز گردید. این آنزیم که به رنت<sup>۲</sup> نامیده می‌شود، امروزه نیز در صنعت لبنیات مورد استفاده قرار می‌گیرد (گودفری و وست<sup>۳</sup>، ۱۹۹۶). افزودنی‌های آنزیمی بطور معمول برای بهبود ارزش غذایی خوراکی‌های غیرنشخوارکنندگان بویژه جیره‌های جوجه‌های گوشتی و بعنوان افزودنی به سیلو استفاده می‌شوند در صورتی که استفاده از آنزیم‌های خوراکی در جیره نشخوارکنندگان چندان باب نبود زیرا فعالیت فیرولیتیک در محیط شکمبه معمولاً خیلی بالاست و اینگونه استنباط می‌شد که فعالیت فیرولیتیکی شکمبه نمی‌تواند تنها بوسیله افزودن آنزیم‌ها با منشأ خارجی بطور معنی‌داری افزایش یابد. به هر حال این موضوع بعدها پذیرفته شد، آنزیم‌ها با منشأ خارجی محلول هستند و نمی‌توانند در شکمبه هیدرولیز شوند. اثرات واقعی افزودن آنزیم‌های فیرولیتیک با منشأ خارجی در جیره نشخوارکنندگان برای افزایش تولید شیر در گاوهای شیری و رشد در گاوهای پرواری می‌باشد (رود و همکاران<sup>۴</sup>، ۱۹۹۹). اثرات مستقیم این آنزیم در جیره گاوهای شیری نیز گاهی متناقض بوده و به طور کلی در این امر نژاد گاو، ترکیب جیره، نوع و فعالیت آنزیم مصرفی و روش کاربرد بر عملکرد نهایی دام تاثیر دارد (نولتون و همکاران، ۲۰۰۲). نشخوارکنندگان نسبت وسیعی از گونه‌های جانوری اهلی شده در جهان را تشکیل می‌دهند و در میان حیوانات مزرعه بیشترین سازگاری را در مصرف دیواره سلول‌های گیاهی یافته‌اند (هانگیت<sup>۵</sup>، ۱۹۶۶). لیگنوسلولز همیشه در جیره نشخوارکنندگان خواهد بود بطوری که حتی در جیره دام‌های پرواری که در سیستم صنعتی و متراکم پرورش می‌یابند نیز یافت می‌شود برای اینکه وجود آن برای عملکرد نرمال شکمبه ضروری است. بهبود عملکرد میکروب‌های شکمبه جهت تجزیه بیشتر دیواره سلول‌های گیاهی در کل منجر به بهبود عملکرد دام می‌گردد (فوکس<sup>۶</sup>، ۱۹۹۵). علوفه‌ها مهمترین منابع انرژی در گاو شیری هستند و مواد قابل هضم ابتدائی هر علوفه سلولز و همی سلولز می‌باشد که بوسیله آنزیم‌های سلولاز و زایلاناز ترشح شده از باکتریها و پروتوزوآهای شکمبه هضم می‌شوند اما این پروسه‌های هضم ناقص است و محققین به دنبال روشهایی هستند که مقدار هضم فیبر توسط گاو را افزایش دهند (دیوید و همکاران<sup>۷</sup>، ۱۹۹۸) که این هدف با عوامل زیر قابل دسترسی است: ۱- یونوفرها ۲- خوردن مستقیم میکروبیالها ۳- آنزیم‌های فیرولیتیک که از کشت

<sup>1</sup> - Bedford and Partridge

<sup>2</sup> - Rennet

<sup>3</sup> - Godfrey and West

<sup>4</sup> - Rode

<sup>5</sup> - Hungate

<sup>6</sup> - Fox

<sup>7</sup> - David

تخمیری قارچی و باکتری‌های جدا شده‌اند (مک آلیستر و همکاران، ۱۹۹۹). آنزیم‌های افزودنی به خوراک نشخوارکنندگان (زایلاناز و سلولاز) تخمیر باکتریایی و قارچی را زیاد و از این طریق کارایی حیوان را افزایش می‌دهند حیوانات هنگام کمبود انرژی در اثر محدودیت مواد مغذی به آنزیم‌های تجزیه کننده فیبر بیشتر واکنش نشان می‌دهند. از خصوصیات این آنزیم‌ها این است که نسبت به آنزیم مشابه طبیعی خود دارای حساسیت کمتری نسبت به نوسانات pH بوده بطوری که در pH کمتر از ۶ نیز فعالیت دارند (بیوچمین و همکاران، ۱۹۹۶). واکنش به آنزیم‌های خوراکی توسط نشخوارکنندگان متفاوت است این تفاوت ممکن است به دلیل موقعیت آزمایشگاهی، ویژگی‌های کاربردی آنزیم (فعالیت بالا یا پایین آنزیم)، روش تهیه و تولید آنزیم برای عرضه به حیوان باشد. نشخوارکنندگان قادرند پلی‌ساکاریدهای گیاهی مانند سلولز و زایلان را توسط فعالیت‌های ویژه میکروارگانیسم‌های موجود در شکمبه هضم کنند (وارگا و کالور<sup>۱</sup>، ۱۹۹۷). چهار فاکتور تنظیم کننده هضم فیبر در نشخوارکنندگان شامل ساختار و ترکیب گیاه، دانسته جمعیت میکروبی میکروارگانیسم‌های غالب هضم کننده فیبر، عوامل حیوانی و عوامل میکروبی می‌باشد. بنابراین در تحقیقات جدید در مورد مصرف فیبر در نشخوارکنندگان آزمایشات گوناگونی صورت گرفته است که شامل دستکاری ژنتیکی باکتری‌ها، دستکاری جیره حیوان و تیمارسازی بیولوژیکی و شیمیایی علوفه‌ها می‌باشند (وارگا و کالور، ۱۹۹۷). در همین راستا افزودن آنزیم‌های سلولاز و زایلاناز از منابع خارجی به جیره از جمله دستاوردهایی است که به منظور هضم بیشتر و کامل تر منابع فیبری انجام گرفته است (بیوچمین و کارن<sup>۲</sup>، ۱۹۹۹). در سالهای اخیر پیشرفت زیادی در جهت افزایش قابلیت هضم دیواره سلولی منابع علوفه‌ای صورت گرفته است که در این زمینه از روش کشت باکتریهای تولیدکننده سلولاز استفاده شده است. بنابراین اگر منبع علوفه‌ای که در دسترس دام قرار می‌گیرد با بازدهی بیشتری به مصرف دام برسد هزینه خوراک کاهش و بازدهی مصرف آن نیز افزایش می‌یابد. استفاده از آنزیم‌های فیبرولیتیک با منشأ خارجی باعث می‌شود که قابلیت استفاده از علوفه زیاد گردد که نتیجه آن افزایش تولید است (بیوچمین و همکاران، ۲۰۰۳). لذا تحقیق حاضر با اهداف زیر طراحی شده است.

۱- بررسی اثرات استفاده از سطوح مختلف آنزیم‌های فیبرولیتیک بر تولید و ترکیب شیر.

۲- بررسی اثرات استفاده از سطوح مختلف آنزیم‌های فیبرولیتیک بر قابلیت هضم ظاهری.

<sup>1</sup> - Varga and Kolver

<sup>2</sup> -Beauchemin and Karren

فصل اول

بررسی منابع

### ۱-۱- آنزیم ها و اهمیت آنها

آنزیم‌ها مولکولهای پروتئینی هستند که واکنش‌های شیمیایی ویژه‌ای را کنترل می‌کنند. آنزیم‌ها برای سوپستراهایشان همانند کلیدی برای یک قفل خاص، بطور ویژه عمل می‌کنند (شکل ۱-۳). آنزیم‌های هاضم برای حیوانات ضروری هستند زیرا ترکیبات خوراکیها برای جذب توسط لوله گوارشی آماده نمی‌شوند مگر اینکه به اجزای مولکولیشان تجزیه شوند (کانگ، ۲۰۰۱). باید توجه داشت که فرآیند هضم پیچیده است و آنزیم‌ها اغلب از چندین ترکیب ساخته شده‌اند. برای نمونه، اجزای کمپلکس آنزیم سلولاز دارای اندو و آگروبتا-۱ و ۴ گلوکاناز، بتاگلوکوزیداز و سلوبیاز است. اجزای همی سلولاز پیچیده‌تر هستند. آنزیم‌ها در pH و دمای خاصی بطور مؤثر عمل خواهند کرد. دلیل عمده برای این عمل ناشی از این حقیقت است که آنزیم‌ها پروتئین بوده و به نظر می‌آید این موضوع مربوط به تجزیه شدن آنها توسط پروتئازهای شکمبه و یا غیر فعال شدن آنزیم‌های افزودنی بوسیله پروتئازهای روده باریک باشد (کانگ، ۲۰۰۱). کاپنسی<sup>۱</sup> و همکاران (۱۹۸۷) گزارش دادند که یک کمپلکس آنزیم سلولاز براحتی توسط پروتئازهای باکتریایی شکمبه تجزیه شدند. بنابراین تغذیه آنزیم‌های حفاظت نشده ممکن است برای بهبود هضم در نشخوارکنندگان جوان که جمعیت میکروبی شکمبه آنها بطور کامل توسعه نیافته است، مفیدتر باشد. باران و کیمت<sup>۲</sup> (۱۹۸۷) گزارش دادند که افزودن آنزیم پکتیناز- سلولاز تخمیر شکمبه‌ای را در بره‌های تازه متولد شده بهبود می‌بخشد اما در گوسفندان بالغ این نتیجه حاصل نشد. اخیراً توجه مجددی به استفاده از آنزیم‌ها در جیره‌های نشخوارکنندگان شده است زیرا که برخی آنزیم‌های فیبرولیتیک (سلولاز و همی سلولاز) زمانی که با آنزیم‌های پروتئاز انکوبه می‌شوند، پایداری از خود نشان می‌دهند (کانگ، ۲۰۰۱). فونتس<sup>۳</sup> و همکاران (۱۹۹۵) گزارش کردند که چندین زیلاناز (آنزیم‌های تجزیه کننده همی سلولاز) به برخی پروتئازها مقاوم هستند اما فقط یک سلولاز از ارگانیزم مزوفیلیک به حمله پروتئولیتیک مقاوم بود. اکثر تحقیقات بر روی آنزیم‌ها در جیره نشخوارکنندگان عمدتاً بر استفاده از آنزیم‌های فیبرولیتیک سلولاز و همی سلولاز متمرکز شده است. استفاده از آمیلازها برای هضم نشاسته یا پروتئازها برای هضم پروتئین چندان موضوع پژوهش‌ها نبوده است، زیرا هضم این ترکیبات معمولاً در شکمبه محدود نیست (کانگ، ۲۰۰۱). چند نوع طبقه‌بندی برای آنزیم‌ها وجود دارد که در ادامه به سیستم کمیته بین‌المللی بیوشیمی و زیست‌شناسی مولکولی (۱۹۹۲) اشاره می‌شود این کمیته آنزیم‌ها را به ۶ گروه طبقه‌بندی کرده است که عبارت‌اند از:

<sup>1</sup> - Kopeny

<sup>2</sup> - Baran and Kmet

<sup>3</sup> - Fontz

الف- اکسیدوردوکتاز

ب- ترانسفراز

پ- لیاز

ت- ایزومراز

ث- لیگاز

ج- هیدرولاز

این آنزیم‌ها پیوندهای کربن-کربن، کربن-اکسیژن، کربن-نیتروژن و اکسیژن-فسفر را می-شکنند و وجود آب برای انجام وظیفه آنها لازم است. بعضی از آنزیم‌های این گروه در صنعت خوراک دام و طیور کاربرد دارند که می‌توان به آنزیم‌های آمیلاز، زایلاناز، سلولاز، پروتئاز و فسفاتاز اشاره کرد.

#### ۱-۲-۱. گلیکولیز هیدرولازها (GH)

اغلب آنزیم‌هایی که در تجزیه سلولز و همی سلولز موثرند متعلق به گروه گلیکولیز هیدرولازها هستند، که باندهای گلیکوزیدی بین کربوهیدرات‌ها و یا بین یک مولکول کربوهیدرات و یک غیر کربوهیدرات را می‌شکنند (هنریست و بایروچ<sup>۱</sup>، ۱۹۹۳). تجزیه کارآمد سلولز در شکمبه معمولاً نیاز به تعدادی گلیکولیز هیدرولاز شامل اندوگلوکاناز، آگزوگلوکاناز و بتاگلوکوسیداز دارد که به صورت همکوشی با هیدرولیز سلولز وارد عمل می‌شوند (فورسبرگ و همکاران<sup>۲</sup>، ۱۹۹۷). مدلی (شکل ۱-۱) که برای همکوشی بین سه آنزیم فرض شده، اینست که اندوگلوکاناز به مناطق آمورفوس فیبرهای سلولزی حمله می‌کند و محللهایی را برای سلویو هیدرولاز که بر منطقه کریستالین سلولز موثر است، ایجاد می‌کند سلویوز تقسیم شده و سلود کسترین‌های کوتاه زنجیره، سپس توسط بتاگلوکوزیداز تبدیل به گلوکز می‌شوند همه سه نوع گلیکولیز هیدرولاز از میکروارگانیزم‌های مختلف شکمبه جداسازی شده‌اند (لایند و همکاران<sup>۳</sup>، ۲۰۰۲).

#### ۱-۲-۲. ویژگی‌های شیمیایی سلولاز

بیشتر آنزیم‌های اندوگلوکاناز قارچی و آنزیم‌های سلویو هیدرولاز وزن مولکولی در دامنه ۲۰ تا ۱۰۰ کیلودالتون دارند، در حالی که وزن مولکولی بتاگلوکوزیداز در دامنه ۵۰ تا ۳۰۰ کیلودالتون قرار دارد (کوغلان و لانگرال<sup>۴</sup>، ۱۹۹۸؛ بات و همکاران<sup>۵</sup>، ۱۹۹۳). pH مطلوب آنزیم‌های سلولاز

<sup>۱</sup>- Henrissat, Bairoch

<sup>۲</sup>- Forsberg

<sup>۳</sup>- Lynd

<sup>۴</sup>-Coughlan, Ljungdahl

<sup>۵</sup>- Bhat

قارچی بین ۴ تا ۶ قرار دارد؛ در حالی که آنزیم‌های باکتریایی pH مطلوب بین ۶ تا ۷ دارند (وود<sup>۱</sup>، ۱۹۸۵). آنزیم‌های اندوگلوکاناز، سلویویدرولاز و بتاگلوکوزیداز قارچ‌های مزوفیلیک و باکتریها در دمای ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد بیشترین فعالیت را دارند (وود و بات<sup>۲</sup>، ۱۹۸۸، بات و همکاران، ۱۹۹۳). آنزیم‌های سلولاز میکروارگانیسم‌های ترموفیلیک و هیپرتروفیلیک بیشترین فعالیت را به ترتیب در دمای ۸۰-۶۰ و ۱۱۰-۹۰ درجه سانتی‌گراد دارند (خاندک<sup>۳</sup> و همکاران، ۱۹۸۹؛ بات و همکاران، ۱۹۹۳؛ آنترانیکیان<sup>۴</sup>، ۱۹۹۴). کمپلکس آنزیم سلولاز از گونه‌های قارچی تریکودرما به ترتیب در pH و دمای ۵/۴ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد بهترین عملکرد را دارد. چندین آنزیم هضم‌کننده جهت افزایش عملکرد حیوانات بعنوان افزودنی خوراکی با موفقیت در جیره‌های خوک و طیور استفاده شدند اما استفاده از آنها در جیره نشخوارکنندگان کمتر بوده است (کانگ<sup>۵</sup>، ۲۰۰۱).

### ۱-۳- فعالیت‌های آنزیمی پیچیده برای هضم دیواره سلولی

بیشتر تحقیقات روی نشخوارکنندگان در مورد هضم آنزیمی دیواره سلولهای گیاهی است. سلولز و همی سلولز از پلی ساکاریدهای ساختاری اصلی در گیاهان هستند که با آنزیم سلولاز و همی سلولاز به قندهای محلول تبدیل می‌شوند. نوع سلولاز و همی سلولاز ممکن است در انواع تجاری آنزیم‌ها متفاوت باشند، حتی تفاوت در نسبت‌های هر بخش (هر کدام از آنزیم‌ها) و فعالیت آنزیمی هر کدام ممکن است عملکرد تجزیه دیواره سلولی را توسط این آنزیم‌ها تحت تأثیر قرار دهد. همچنین علاوه بر آنزیم‌های تجزیه‌فیر می‌توان به آمیلاز و پروتئاز و پکتینازها نیز در این رابطه اشاره نمود. سلولز از طریق پروسه‌های پیچیده‌ای توسط سلولاز، هیدرولیز می‌شود. آنزیم‌های اصلی که در هیدرولیز سلولز مؤثر هستند؛ شامل اندوسلولازها، آگزوسلولازها و بتا گلوکوسیدازها هستند. در حالت کلی اندوسلولازها شاخه‌های سلولز را به صورت تصادفی (برای تولید الیگومرهای سلولز) هیدرولیز می‌کنند و در پایان درجه‌های مختلفی از پلیمریزاسیون ایجاد می‌کنند و آگزوسلولازها شاخه‌های سلولز را از انتهای غیراحیایی آن هیدرولیز کرده و سلویوز تولید می‌کنند و بتا-گلوکوسیدازها شاخه‌های کوتاه الیگومرهای سلولز را هیدرولیز کرده و گلوکز تولید می‌کنند (بیوچمین<sup>۶</sup> و همکاران، ۲۰۰۲).

<sup>1</sup> - wood

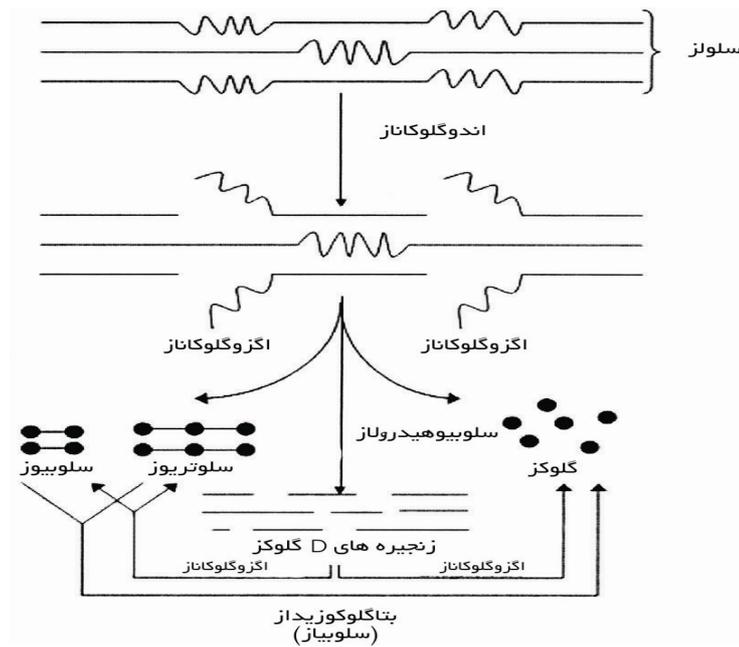
<sup>2</sup> - wood and Bhat

<sup>3</sup> - Khandke

<sup>4</sup> - Antranikian

<sup>5</sup> - Kung

<sup>6</sup> - Beauchemin



شکل ۱-۱ طرز عمل ترکیبات آنزیم سلولاز (لایند، ۲۰۰۲)

#### ۴-۱- منابع آنزیم‌های فیرولیتیک

موارد استفاده از آنزیم برای نشخوارکنندگان بر اساس ظرفیت آنها در تجزیه دیوار سلولی گیاه است، به همین دلیل بیشتر آنزیم‌های تجاری در تغذیه این حیوانات اغلب به نام آنزیم‌های سلولاز یا زایلاناز ارائه می‌شوند. فرآورده‌های آنزیمی تجاری با نامهای ذکر شده مجموعه‌ای از چند آنزیم است و آنزیم‌های دیگری از جمله آمیلاز، پروتئاز و پکتیناز در این فرآورده‌ها وجود دارند. تجزیه‌پذیری سلولز و همی سلولز نیازمند حضور چند آنزیم است. تفاوت در مقدار نسبی و فعالیت هر یک از این آنزیم‌ها، مقدار تجزیه دیواره سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. سطح فعالیت آنزیم‌ها تحت تأثیر گونه میکروبی، نوع سوبسترای که روی آن رشد داده می‌شود و وضعیت محیط کشت قرار دارد (کانسیدین و کوغلان<sup>۱</sup>، ۱۹۸۹؛ گاش<sup>۲</sup>، ۱۹۹۲). آنزیم‌های تجاری استفاده شده در صنعت خوراک دام محصول تخمیر میکروبی هستند. آنزیم‌های تولید شده توسط فرآیند تخمیر حرارتی با کشت بذرها آغاز شد (کوان<sup>۳</sup>، ۱۹۹۶). پس از تکمیل شدن تخمیر، آنزیم از باقیمانده‌های تخمیر و ارگانیک منبع جدا می‌شوند. گرچه تعداد زیادی از ارگانیک‌های منبع مشابه محصولات آنزیمی وجود دارند، اما انواع و فعالیت آنزیم‌های تولید شده می‌توانند بطور وسیع مستقل از سویه انتخاب شده و رشد سوبسترا و شرایط استفاده شده برای کشت متنوع باشند (کانسیدین و کوغلان، ۱۹۸۹؛ لی<sup>۴</sup> و همکاران، ۱۹۹۸). آنزیم‌های مورد استفاده در جیره

<sup>۱</sup> - Concidine and Coughlan

<sup>۲</sup> - Gashe

<sup>۳</sup> - Cowan

<sup>۴</sup> - Li

نشخوارکنندگان منشأ قارچی (اغلب *تریکودرما لوجی براچیوم*<sup>۱</sup>، *آسپرژیلوس نایگر*<sup>۲</sup> و *آسپرژیلوس اریزا*<sup>۳</sup>) و باکتریای (باسیلوسها) دارند. علاوه بر این، اغلب محصولات آنزیمی قابل دسترس تجاری که به جیره نشخوارکنندگان افزوده می‌شوند برای کاربردهای غیر خوراکی تولید می‌گردند. سلولازها و زایلانازها بطور وسیعی در صنایع غذایی، تفاله و کاغذ و سوخت استفاده می‌شوند (بهات و هازلیوود<sup>۴</sup>، ۲۰۰۰).

### ۱-۵- اثر افزودن آنزیم‌ها به جیره نشخوارکنندگان

بطور کلی افزودن آنزیم‌ها به جیره غذایی برای اهداف تکمیل و جبران نقایص سیستم آنزیمی دستگاه گوارشی، حذف مواد ضد مغذی و افزایش قابلیت دسترسی مواد مغذی در بدن مورد استفاده قرار می‌گیرند (آنیسون<sup>۵</sup>، ۱۹۹۳؛ بدفورد و اسکولز<sup>۶</sup>، ۱۹۹۸؛ سیمون<sup>۷</sup>، ۱۹۹۸). آنزیم‌ها با منشأ خارجی برای حذف عوامل ضد مغذی در مواد خوراکی، افزایش قابلیت هضم مواد مغذی و کمک به آنزیم‌های دستگاه گوارش حیوانات تک‌معددهای بخصوص طیور استفاده می‌شوند (بدفورد، ۱۹۹۳). آنزیم‌ها باید در شرایط فیزیولوژیکی دستگاه گوارشی حیوان فعال باقی بمانند، در برابر آنزیم‌های پروتئاز دستگاه گوارش مقاوم باشند و اثر مکملی برای آنزیم‌های دستگاه گوارش داشته باشند (پاتریچ، ۱۹۹۳). گونه‌های حیوانی به لحاظ آناتومی و فیزیولوژی دستگاه گوارشی با یکدیگر اختلاف دارند، به همین دلیل واکنش‌های متفاوتی در برابر افزودن آنزیم به جیره غذایی نشان می‌دهند. استفاده از آنزیم‌های خارجی افزودنی تجزیه‌کننده فیبر اولین بار در سال ۱۹۶۰ در نشخوارکنندگان مورد استفاده قرار گرفت و بعد توسط بیوچمین و رود<sup>۸</sup> در سال ۱۹۹۶ مورد مطالعه قرار گرفت. واکنش حیوانات به این آنزیم‌ها متفاوت بود و محققین بعداً شروع به بررسی مجدد آنزیم‌ها با منشأ خارجی در خوراکی‌های مختلف نشخوارکنندگان کردند که به پاره‌ای از آنها اشاره می‌شود.

<sup>۱</sup> - *Trichoderma logibrachiatum*

<sup>۲</sup> - *Aspergillus niger*

<sup>۳</sup> - *Aspergillus oryzae*

<sup>۴</sup> - Bhat and Hazlewood

<sup>۵</sup> - Anison

<sup>۱۰</sup> - Bedford and Schulz

<sup>۷</sup> - Simon

<sup>۸</sup> - Beauchemin and Rode

## ۱-۵-۱- گاوهای شیری

در سالهای ۱۹۹۹ و ۲۰۰۰ چندین پژوهش اثرات مثبت افزودن آنزیم‌ها به جیره بر تولید شیر را اثبات کردند (جدول ۱-۲). مطالعات زیادی برای بررسی اثرات آنزیم‌های فیبرولیتیک با منشأ خارجی بر روی قابلیت هضم و تولید شیر گاوهای شیری انجام شده است. در یک پژوهش جامع با ۲۰ آزمایش و ۴۱ تیمار میزان ماده خشک مصرفی بین ۱ تا ۱/۳ کیلوگرم و تولید شیر بین ۱ تا ۱/۵ کیلوگرم در روز افزایش نشان داد. اگر چه واکنش‌ها متفاوت بودند اما به طور کلی مثبت بودند (بیوچمین و همکاران، ۲۰۰۲). لوئیس<sup>۱</sup> و همکاران (۱۹۹۹) یک میلی لیتر مخلوط سلولاز-زایلاناز به ازای کیلوگرم علوفه در جیره گاوهای اوایل شیردهی استفاده کردند و ۳/۶ کیلوگرم در روز (۱۶ درصد) تولید شیر بیشتری مشاهده نمودند. یانگ<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۰) نیز مخلوط آنزیم را به بخش علوفه جیره گاوهای اوایل شیردهی اضافه کردند و ۹/۵ درصد افزایش تولید شیر را گزارش کردند. در حالی که با افزودن همان آنزیم به جیره کاملاً مخلوط افزایش معنی‌داری را در تولید شیر مشاهده نکردند. با اینکه تأثیر مثبت آنزیم با منشأ خارجی بر عملکرد شیردهی واضح است اما بررسی شرایط تأثیر آن نیز بر نوع واکنش حیوان بسیار مؤثر می‌باشد. جدول ۱-۳ نشان می‌دهد که واکنش به مصرف مستقیم آنزیم در خوراک دامنه وسیعی از پاسخ‌ها را در پی دارد. در حالت کلی واکنش گاوهای شیری و گوشتی (حتی زمانی که واکنش مثبت بود) متفاوت بود. عقیده بر این است که علت این اختلافات می‌تواند شامل نوع آنزیم مصرفی، ترکیبات آنزیم، سطح آنزیم، مرحله شیردهی در گاوهای شیری مورد آزمایش، زمان و روش کاربرد آنزیم و بالانس انرژی گاوهای مورد آزمایش باشد (بیوچمین و همکاران، ۲۰۰۲). علاوه بر این اثرات مثبت افزودن آنزیم به جیره بر روی تولید شیر در چندین مطالعه در فصل زمستان که دمای هوا در حد ۵- درجه سانتیگراد بود به اثبات رسید (کانگ و همکاران، ۲۰۰۰a و ۲۰۰۰b).

## ۱-۵-۲- گاوهای گوشتی

پنجاه سال پیش برای نخستین بار گزارش شد که افزودن آنزیم‌ها با منشأ خارجی می‌تواند متوسط افزایش وزن روزانه و بازده تبدیل خوراک را در گاوهای گوشتی بهبود دهد (بروگس<sup>۳</sup> و همکاران، ۱۹۶۰). به کار بردن سطوح مختلف (۲۵/۰ تا ۴ لیتر در تن) مخلوطی از فرآورده‌های آنزیمی زایلاناز و سلولاز یا سلولاز به تنهایی سبب افزایش ۳۰ و ۳۶ درصدی متوسط افزایش وزن روزانه گوساله‌های نر اخته شد، که به ترتیب از علوفه یونجه و علوفه تیموتی تغذیه می‌کردند اما وقتی که گوساله‌ها از جو سیلو شده تغذیه می‌کردند این سطوح از آنزیم اثری بر متوسط افزایش

<sup>1</sup> - Lewis

<sup>2</sup> - Yang

<sup>3</sup> - Burroughs

وزن روزانه نداشت (بیوچمین و همکاران، ۱۹۹۵). وقتی مخلوط‌های آنزیمی مذکور به جیره حاوی ۸۵ درصد دانه غلات اضافه شد بازده غذایی گاوهای تغذیه شده با جو ۱۱ درصد بهبود یافت، ولی عملکرد گاوهای تغذیه شده با ذرت تحت تاثیر قرار نگرفت (بیوچمین و رود<sup>۱</sup>، ۱۹۹۶). افزودن آنزیم چند گانه به جیره حاوی ۵/۸۲ درصد ذرت، متوسط افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی را در گاوهای پرواری به ترتیب ۱۰ و ۵/۷ درصد افزایش داد (ویچنتال<sup>۲</sup> و همکاران، ۱۹۹۶).

#### ۱-۵-۳- گوساله‌های شیری

سیستم آنزیمی نشخوارکنندگان تازه متولد شده بسیار ضعیف است و ظرفیت هضمی محدودی دارند سطح کنسانتره و علوفه‌های آغازین در جیره نشخوارکنندگان تازه متولد شده تاثیر معنی-داری در تحریک و گسترش رتیکول شکمبه‌ای و هضم بهتر خوراک و زمان از شیرگیری دارد. گوساله‌ها در بدو تولد قابلیت هضم سلولز و همی سلولز را ندارند برخی از کربوهیدراتهای ساختاری مانند سلولز و همی سلولز وقتی هضم نشوند چسبنده شده و قابل هضم و جذب نیستند و استفاده از آنزیم باعث شکسته شدن و به صورت سیال درآمدن آنها می‌شود. افزودن آنزیم به خوراک گوساله‌ها می‌تواند پتانسیل هضم فیبر را افزایش دهد و این عمل ممکن است اثرات مثبت روی کارایی در طی شیرخوارگی و بهبود رشد و ارزش غذایی داشته باشد به هر حال افزودن آنزیم‌های فیرولیتیک در ابتدای تغذیه باعث بهبود کارایی حیوانات شیرخوار خواهد شد (برنال<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۶).

#### ۱-۵-۴- گوسفند پرواری

در دهه ۶۰ مشخص شد که تغذیه مخلوطی از آنزیم‌های سلولیتیک، آمیلولیتیک و پروتئولیتیک (اگزوزایم، ۵/۱، ۳ و ۶ گرم در روز) و همچنین آنزیم پروتئولیتیک (فیسین، محصول شرکت مرک، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در روز) ضریب تبدیل غذایی یا افزایش وزن روزانه را در بره‌های پرواری تغذیه شده با ذرت یا علوفه یونجه تغییر نداد (تیورر<sup>۴</sup> و همکاران، ۱۹۶۳). مک آلیستر<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۰۰) نیز دریافتند آنزیم‌های فیرولیتیک مصرف غذا و افزایش وزن روزانه را در بره-های تغذیه شده با جیره‌هایی بر پایه یونجه یا جو تغییر نمی‌دهد. در آزمایشی که توسط پینوز<sup>۶</sup> و

<sup>۱</sup> - Beauchemin and Rode

<sup>۲</sup> - Weichenthal

<sup>۳</sup> - Bernal

<sup>۴</sup> - Theurer

<sup>۵</sup> - McAllister

<sup>۶</sup> - Pinos

همکاران (۲۰۰۰) انجام شد، هضم دیواره سلولی در بره‌هایی که آنزیم به جیره آنها اضافه شد افزایش یافت.

جدول ۱-۱- تأثیر اسپری آنزیم روی جیره قبل از خوراک‌دهی، بر تولید شیر در تحقیقات انتشار یافته بین سالهای ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۰

مطالعه	افزایش در تولید شیر (کیلوگرم در روز)
بیوچمین و همکاران (۱۹۹۹)	+۳/۰ و +۵/۱
لوئیس و همکاران (۱۹۹۹)	+۲/۱ و $(0.5/0 > p)$ +۳/۶ و +۶/۱
رود و همکاران (۱۹۹۹)	$(11/0 > p)$ +۶/۳
کینگوت و همکاران (۱۹۹۹)	آزمایش ۱: +۲/۱ و +۹/۰ و +۷/۲ آزمایش ۲: $(0.1/0 > p)$ +۳/۱
یانگ و همکاران (۱۹۹۹)	+۹/۰ و +۹/۱ و +۶/۱
بیوچمین و همکاران (۲۰۰۰)	-۵/۰ و -۵/۰
کانگ و همکاران (۲۰۰۰)	آزمایش ۱: $(1.0/0 > p)$ +۵/۲ و +۸/۰ آزمایش ۲: $(0.1/0 > p)$ +۳/۱
یانگ و همکاران (۲۰۰۰)	-۱/۰ و $(0.5/0 > p)$ +۱/۲
ژنگ و همکاران (۲۰۰۰)	+۰/۲ و +۱/۴ و $(0.7/0 > p)$ +۵/۱
میانگین کل تیمارها	افزایش ۶/۱ کیلوگرم در روز

### ۱-۶- روشهای افزودن آنزیم به خوراک

کاربرد آنزیم در خوراک موضوع قابل توجهی می‌باشد زیرا به وسیله عمل آنزیم سوبستراهای قابل تخمیری آزاد می‌گردند که می‌توانند بوسیله باکتری‌های شکمبه تخمیر و انرژی‌زا شوند و در نتیجه در تولید شیر و گوشت موثر واقع گردند. در حالت کلی می‌توان آنزیم را به دو روش به خوراک اضافه نمود: (کانگ، ۲۰۰۱).

۱- اسپری کردن آنزیم در حالت محلول بطور مستقیم روی خوراک

۲- افزودن پودر آنزیم به خوراک

#### ۱-۶-۱- اسپری کردن آنزیم در حالت محلول به خوراک

در گذشته استفاده از آنزیم‌ها محدود به کاربردشان بروی علوفه در زمان سیلو کردن می‌شد. با این حال، این روش کاربرد نتایج متناقضی داشت (کانگ و موک<sup>۱</sup>، ۱۹۹۷). یک روش برای حفاظت یا حداقل سازی تجزیه آنزیم توسط پروتئازهای شکمبه، تیمار سازی خوراک با آنزیم‌ها قبل از خوراک‌دهی است. زمانی که آنزیم‌ها با این روش به خوراک اضافه می‌شوند با سوبسترا باند

<sup>۱</sup> - Kung and Muck

شده و تغییرات ساختمانی ایجاد می کنند که ممکن است به حفاظت از این آنزیم ها در برابر تجزیه شکمبه ای کمک کند (کانگ، ۲۰۰۱). مارگاو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۰b) گزارش کردند که اسپری کردن آنزیم های فیرولیتیک روی خوراک قبل از تخمیر در شرایط *In vitro* موجب بهبود در هضم می گردد اما افزودن مستقیم آنزیم ها در زمان انجام تخمیر خوراک پاسخ مثبتی را ایجاد نمی کند. بنابراین اسپری کردن آنزیم به خوراک احتمال بهبود هضم مواد مغذی، مصرف و بهره-وری در نشخوارکنندگان و همزمان کاهش مواد دفعی و آلودگی حیوانات را می افزاید. این راهکار، همچنین انعطاف پذیری مدیریتی برای تغذیه و کاهش هر اثر متقابل منفی حین افزودن آنزیم ها به سیلو را بهبود می دهد (کانگ، ۲۰۰۱). تعدادی از تئوریهای ارائه شده برای پاسخ به این اثرات مثبت آنزیم ها، شامل هیدرولیز مستقیم، بهبود در خوشخوراکی، تغییرات در ویسکوزیته دستگاه گوارش و تغییرات در محل هضم می شوند (بیوچمین و رود، ۱۹۹۶). اخیراً مارگاو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۰a) پیشنهاد کردند که بر هم کنش بین آنزیم های فیرولیتیک شکمبه و آنزیم های اضافه شده به جیره ممکن است عامل بهبود در تولید حیوان زمانی که نشخوارکنندگان با خوراک های تیمار شده با آنزیم تغذیه می شوند، باشد. فنک<sup>۲</sup> و همکاران (۱۹۹۲) گزارش دادند که بعد از افزودن آنزیم های فیرولیتیک به علوفه خشک، هضم فیبر شکمبه ای در شرایط *in vitro* بهبود یافت. لوئیس و همکاران (۱۹۹۶) اظهار کردند که زمانی که آنزیم ها به جیره حاوی علف خشک و جو اضافه شدند، تولید اسیدهای چرب فرار و هضم دیواره سلولی افزایش پیدا کرد. اسپری کردن آنزیم ها روی سیلو آزادسازی قندهای احیایی و میزان هضم دیواره سلولی را افزایش می دهد (لوئیس و همکاران، ۱۹۹۶). شواهد فزاینده ای در مورد بهبود بهره وری حیوانات در زمان افزودن آنزیم ها به جیره قبل از خوراکدهی، وجود دارد. در برخی مواقع آنزیم ها مستقیماً به غلات و در برخی مطالعات آنزیم ها فقط بر روی اجزای علوفه ای جیره اضافه شدند. برخی تحقیقات پیشنهاد می کنند که جهت کارایی بیشتر آنزیم های فیرولیتیک باید به کنسانتره یا بخش خشک جیره اسپری شوند. یانگ و همکاران (۲۰۰۰) اظهار کردند که آنزیم های اسپری شده به جیره کاملاً مخلوط بی اثر خواهد بود. بیوچمین و همکاران (۱۹۹۵) نیز گزارش کردند که آنزیم ها زمانی که روی سیلو اسپری می شوند تأثیر در عملکرد حیوان نخواهند داشت. از این رو آنها پیشنهاد کردند که آنزیم های اسپری شده به جیره کاملاً مخلوط یا سیلو ممکن است بلافاصله در شکمبه آزاد بشوند و به سرعت قبل از اینکه بتوانند تأثیر خود را در این مرحله بگذارند، عبور کنند. این می تواند توصیف گر نتایج پیشین باشد. به هر حال مطالعات انجام شده توسط کینگوت و همکاران (۱۹۹۹)، کانگ و همکاران (۲۰۰۰a و ۲۰۰۰b) و ژنگ و همکاران (۲۰۰۰) که آنزیم ها را

<sup>۱</sup> - Morgavi

<sup>۲</sup> - Feng

به بخش سیلوی جیره قبل از مخلوط شدن کامل اسپری کردند، افزایش در تولید شیر را مشاهده نمودند. البته در برخی از پژوهش‌ها آنزیم‌ها بطور مستقیم به بخش دانه‌ای یا علوفه‌ای یا جیره کاملاً مخلوط افزوده شدند. تمامی یافته‌ها در رابطه با مصرف بصورت محلول آنزیم (اسپری کردن) روی خوراک نشان دهنده این موضوع است که آنزیم‌های فیرولیتیک بایستی روی کنسانتره یا علوفه خشک اسپری گردد تا مؤثر واقع شوند. سرکو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۰) پیشنهاد کردند که اسیدهای آلی موجود در سیلو عامل بازدارنده و کاهنده فعالیت سلولاز هستند اما در مورد زیلاتناز عکس آن می‌باشد. در همین راستا کانگ<sup>۲</sup> (۲۰۰۱)، ژنگ<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۰) و کینگوت<sup>۴</sup> و همکاران (۱۹۹۹) آنزیم را قبل از اینکه جیره کاملاً مخلوط تهیه شود، به بخش سیلو اسپری کردند که در نتیجه تولید شیر افزایش یافت. با توجه به اینکه در تمامی این آزمایشات آنزیم از یک منبع واحد تهیه شده بود، نتایج مختلف نشان داد که آنزیم‌ها در پیوند یافتن با سوبستراهای مختلف کاملاً متفاوت عمل می‌کنند.

#### ۱-۶-۲- افزودن پودر آنزیم به جیره

هریستو<sup>۵</sup> (۱۹۹۸) گزارش کرد زمانی که آنزیم فیرولیتیک مستقیماً به شکمبه افزوده شود به طور کامل عمل نخواهد کرد. در واقع آنزیم‌ها باید طوری بکار روند که بتوانند با سوبسترا پیوند برقرار نموده و واکنش‌ها را کاتالیز کنند. تریکاریکو و داوسون<sup>۶</sup> (۱۹۹۹) گزارش کردند که افزودن آنزیم‌های سلولاز و زیلاتناز آماده باعث بهبود در هضم فستوکای خشک می‌شود. زین و سالیناز<sup>۷</sup> (۱۹۹۹) گزارش کردند که آنزیم‌های فیرولیتیک پایدار در شکمبه میزان هضم شکمبه‌ای دیواره سلولی و ازت خوراک را به ترتیب ۲۳ و ۵ درصد افزایش می‌دهند. آنها همچنین مشاهده کردند که در میزان ماده خشک مصرفی و افزایش وزن روزانه گوساله‌ها بهبود حاصل شده است. در تحقیق شاور و ال-جوییل<sup>۷</sup> (۲۰۰۰) هیچ تغییری در میزان گوارش ماده خشک، تولید و ترکیب شیر گاوهای شیری مشاهده نشد، این نتایج نشان می‌دهد که برای مطالعه روش کاربرد آنزیم تحقیقات جامع‌تری مورد نیاز است.

<sup>۱</sup>- Nsereco

<sup>۲</sup>- Zheng

<sup>۳</sup>- Schingoethe

<sup>۴</sup>- Hristov

<sup>۵</sup>- Tricarico and Dawson

<sup>۶</sup>- Zinn and Salinas

<sup>۷</sup>- Al- Jobeile and Shaver