

اثر افزودن آنزیم خارج سلولی زایلاناز بر تولید گاز و خصوصیات تخمیر شکمبه‌ای کاه جو در شرایط

برون تنی

یاسمن احمدی بنگدار، سید علیرضا و کیلی و محسن دانش مسگران

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

Yasamanbonakdar@gmail.com

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثر افزودن آنزیم خارج سلولی زایلاناز بر ویژگی‌های تخمیر شکمبه‌ای کاه جو در شرایط برون تنی با استفاده از تکنیک تولید گاز انجام شد. چهار سطح آنزیم زایلاناز (۰، ۲/۵، ۵/۰ و ۷/۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک کاه جو) به محیط‌های کشت حاوی کاه جو افزوده و به مدت ۹۶ ساعت انکوباسیون شد. افزودن آنزیم زایلاناز، فراسنجه‌های مربوط به تولید گاز شامل پتانسیل تولید گاز (b)، نرخ جزئی تولید گاز (c) و فاز تاخیری (L) را افزایش داد. ناپدید شدن ماده خشک (IVDMD) در کلیه سطوح آنزیم نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد، همچنین افزودن آنزیم به کاه جو سبب افزایش میانگین نرخ تخمیر (AFR) شد. به‌هر حال، میزان تولید گاز در ۹۶ ساعت با افزودن آنزیم زایلاناز به کاه جو تفاوت معنی‌داری نداشت. نتایج این آزمایش نشان داد که افزودن آنزیم زایلاناز به کاه جو سبب بهبود فراسنجه‌های تولید گاز و همچنین ناپدید شدن ماده خشک می‌شود.

کلمات کلیدی: کاه جو - ترکیب شیمیایی - زایلاناز - تولید گاز

مقدمه

مواد اصلی فیبری قابل هضم هر علفه، سلولز و همی سلولز می‌باشد که ب‌فوسیل آنزیم‌های فیبرولیتیکی سلولاز و زایلاناز ترشح شده از باکتری‌ها و پروتوزوآهای شکمبه هضم می‌شوند (۲)، اما ساختار مواد فیبری موجود در کاه غلات، به‌گونه‌ای است که سلولز و همی سلولز را از دسترس آنزیم‌های شکمبه دور نگه می‌دارد (۱۱). استفاده از آنزیم‌های فیبرولیتیک با منشاء خارج سلولی باعث از بین رفتن پیوندهای استری بین لیگنین و پلی ساکاریدهای دیواره سلولی (سلولز و همی سلولز) می‌شود و میزان دسترسی آنزیم به ماتریکس دیواره سلولی را افزایش می‌دهد، در نتیجه قابلیت هضم فیبر بهبود می‌یابد (۴). زایلان در بیشتر گونه‌های گیاهی عمده‌ترین جزء همی سلولز در دیواره سلولی می‌باشد و بیشتر مطالعات در زمینه اثر آنزیم‌های فیبرولیتیک مربوط به سلولاز و زایلاناز می‌باشد (۱). از طرفی استفاده از آنزیم‌ها همیشه باعث بهبود قابلیت هضم فیبر نمی‌شود زیرا پاسخ حیوان یا شرایط آزمایشگاهی در هنگام مصرف آنزیم یکسان نیست و به‌عوامل مختلفی از قبیل ترکیب جیره، زمان کشت، نوع آنزیم، میزان فعالیت آنزیمی، مقدار آنزیم و روش کاربرد آن بستگی دارد (۹). هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر آنزیم زایلاناز بر تولید گاز و خصوصیات تخمیری برای کاه جو بود.

مواد و روش‌ها

از کاه جو خشک شده نمونه تصادفی برای انجام آزمایش‌های برون تنی گرفته شد که ترکیبات شیمیایی نمونه‌ها طبق روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد. داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS ویرایش ۹/۱ در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند (۱۴). تیمارهای آزمایشی شامل کاه جو (تیمار شاهد)، کاه جو به همراه ۲/۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک زایلاناز (تیمار ۲)، کاه جو به همراه ۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک زایلاناز (تیمار ۳) و کاه جو به همراه ۷/۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک زایلاناز (تیمار ۴) بودند.

آزمون تولید گاز در دو مرحله و ۹ نقطه زمانی انجام شد (۸) و حجم گاز تولیدی در هر زمان و فراسنجه های b و c محاسبه گردید (۱۳ و ۱۱). برای تخمین ناپدید شدن ماده خشک (IVDMD) از فرمول های پیشنهادی منک و استینگاس (۸) استفاده شد. میزان اسید-های چرب کوتاه زنجیر نیز با استفاده از رابطه $GP - 0.00425 = SCFA (mmol) = 0.222 GP$ محاسبه گردید که GP تولید گاز مقدار ۲۰۰ میلی گرم نمونه خوراک پس از ۲۴ ساعت می باشد. متوسط نرخ تخمیر (AFR) نیز طبق معادله پیشنهادی فرانک و همکاران (۶) محاسبه گردید که b پتانسیل تولید گاز (۲۰۰ میلی گرم در ماده خشک) و c نرخ جزئی تولید گاز می باشند. برای محاسبه ناپدید شدن ماده خشک، محتوی بطری ها با پارچه با منافذ ۴۲ میکرومتر صاف شد و باقیمانده آن در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید. ویژگی های تخمیری شکمبه در شرایط برون تنی و بازدهی تخمیر خوراک محاسبه شد (۷). در مرحله بعد، آزمایش تخمیر پذیری در قالب سیستم کشت بسته ۱ آزمایشگاهی تعیین شد (۳). در پایان انکوباسیون یک نمونه ۱۰ میلی لیتری از محیط کشت با ۱۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط و میزان نیتروژن آمونیاکی اندازه گیری شد (۵).

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی کاه مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۱ و همچنین فراسنجه های مربوط به تولید گاز کاه جو در جدول های ۲ و ۳ ارائه شده است. مقادیر پتانسیل تولید گاز در تیمار شاهد، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب ۳۶۷/۷۲، ۳۷/۳۰، ۳۷/۳۳ و ۳۴/۹۷ میلی لیتر در ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک بود (جدول ۲) و اختلاف معنی داری در پتانسیل تولید گاز تیمارها مشاهده نشد ($p > 0.05$). بیشترین فاز تأخیر مربوط به تیمار ۴ (حداکثر آنزیم زایلاناز) و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد و تیمار ۲ بود ($p < 0.05$) و اختلاف معنی داری بین تیمارهای شاهد و ۲ مشاهده نشد ($p > 0.05$). نتایج نشان دادند که افزودن آنزیم زایلاناز به کاه جو سبب افزایش فاز تأخیر آنها می شود که نتایج تانگ و همکاران (۱۲) را تایید می کند، اما با نتایج یانگ و همکاران در سال (۱۵) مغایرت دارد. لذا می توان نتیجه گرفت اثرات آنزیم های فیبرولیتیک همیشه یکسان نبوده و بسته به ترکیب، نوع، سطح، مقاومت و روش به کار گرفته شده متفاوت می باشد. کریشنامورفی و همکاران (۱۹۹۱) گزارش کردند که فاز تأخیر منفی به دلیل تولید گاز سریع در مراحل اولیه تخمیر قبل از زمان صفر می باشد. نرخ ثابت تولید گاز با افزایش میزان زایلاناز به کاه جو افزایش خطی نشان داد ($p < 0.05$) به طوری که بیشترین مقدار نرخ ثابت تولید گاز مربوط به تیمار ۴ و کمترین مقدار آن مربوط به تیمارهای شاهد و ۲ بود (۰/۳۱ در مقابل ۰/۲۲ و ۰/۲۲). میزان تولید گاز در ۹۶ ساعت اختلاف معنی داری را در بین تیمارها نشان نداد ($p < 0.05$) اگرچه این میزان در تیمار ۳ بیشتر از سایر تیمارها بود.

میزان تولید گاز به طور عمده تحت تأثیر ترکیب شیمیایی گیاه قرار دارد و از آنجا که ترکیب شیمیایی تیمارها بر پایه یک علوفه بوده عدم اختلاف در بین تیمارها در تولید گاز نیز توجیه پذیر خواهد بود. میزان ناپدید شدن ماده خشک نیز با افزایش مقدار زایلاناز در تیمارها افزایش خطی نشان داد لذا میزان ناپدید شدن ماده خشک در کلیه تیمارها نسبت به تیمار شاهد به طور معنی داری افزایش داشت ($p < 0.05$). بیشترین مقدار مربوط به تیمار ۴ بود که بین تیمار ۲ و ۳ اختلافی مشاهده نشد. تانگ و همکاران (۱۲) در بررسی مشابه بر روی کاه گندم و برنج و افزودن آنزیم های فیبرولیتیک نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند. این افزایش می تواند به سبب اثرات مثبت در افزایش جمعیت میکروارگانیزم های فیبرولیتیک و پروتوزوا در شکمبه باشد. از سویی دیگر مطالعات نشان دادند که افزودن آنزیم های فیبرولیتیکی قبل از انجام کشت سبب افزایش میزان ناپدید شدن ماده خشک و دیواره سلولی شده است (۱۲).

جدول ۱- ترکیب شیمیایی کاه جو

ترکیب شیمیایی	درصد ماده خشک
ماده خشک	۹۷/۳
پروتئین خام	۳/۲
NDF	۷۶/۷
ADF	۵۲/۱
خاکستر	۵/۲

جدول ۲- فراسنجه های تولید گاز و متوسط نرخ تخمیر کاه جو به همراه مقادیر مختلف آنزیم زایلاناز (گرم بر کیلوگرم)

SEM	تیمار				فراسنجه
	کاه جو + ۷/۵ زایلاناز	کاه جو + ۵ زایلاناز	کاه جو + ۲/۵ زایلاناز	کاه جو	
۰/۴۷۲	۳۴/۹۷	۳۷/۳۳	۳۷/۳۰	۳۶/۷۲	b
۰/۰۰۱	a.۰/۰۳۱	b.۰/۰۲۶	c.۰/۰۲۲	c.۰/۰۲۲	c
۰/۴۱۸	a.۰/۸۶	b.۰/۰۹	c.۰/۱/۸۲	c.۰/۱/۴۱	L
۰/۰۲۵	a.۰/۷۶	a.۰/۷	b.۰/۵۶	b.۰/۵۴	AFR

b، پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر در ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)؛ c، نرخ جزئی تولید گاز در هر ساعت؛ L، فاز تأخیر (ساعت)؛ AFR، میانگین نرخ تخمیر (میلی لیتر در ساعت).

جدول ۳- فراسنجه های برآورد شده در روش تولید گاز و کشت تخمیری بسته به همراه مقادیر مختلف آنزیم زایلاناز (گرم بر کیلوگرم)

SEM	تیمار				فراسنجه
	کاه جو + ۷/۵ زایلاناز	کاه جو + ۵ زایلاناز	کاه جو + ۲/۵ زایلاناز	کاه جو	
۰/۷۷۸	۳۳/۱	۳۳/۶	۳۳/۵	۳۲/۵	تولید گاز در ۹۶ ساعت
۰/۲۷۱	a.۴۶/۳	ab.۴۵/۸	b.۴۵/۱	c.۳۷/۸	IVDMD
۰/۰۲۵	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۳۵	SCFA
۰/۰۷۹	a.۱۱/۶	a.۱۱/۴	a.۱۱/۳	b.۹/۴	FFE
۰/۰۲۴	۶/۶	۶/۷	۶/۶	۶/۷	*pH
۰/۰۹۶	a.۳/۴	a.۳/۴	a.۳/۴	b.۲/۳	*N-NH ₃

IVDMD، ناپدید شدن ماده خشک در شرایط برون تنی؛ SCFA، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول)؛ FFE؛ میلی گرم ماده خشک ناپدید شده به ازای میلی لیتر گاز تولید شده پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون،* برآورد شده از سیستم کشت بسته، (ازت آمونیاکی بر حسب میلی گرم به ازای هر گرم پروتئین خام).

منابع

1. Ariolla, K. G., Kim, S. C., Staples, C. R., and Adesogan, A. T. ۲۰۱۱. Effect of fibrolytic enzyme application to low- and high-concentrate diets on the performance of lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. ۹۴: ۸۳۲-۸۴۱
2. Beauchemin, K. A., Colombatto, D., Morgavi, D. P., and Yang, W. Z. ۲۰۰۲. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. J. Anim Sci. ۸۱: E۳۷-E۴۷.

۳. Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, and Kamel. ۲۰۰۶. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. J. Dairy.Sci. ۸۹:۷۶۱-۷۷۱.
۴. Dean, D. B., Adesogan, A. T., Krueger, N. and Littell, R. C. ۲۰۰۵. Effect of fibrolytic enzymes on the fermentation characteristics, aerobic stability, and digestibility of bermudagrass silage. J. Dairy Sci. ۸۸:۹۹۴-۱۰۰۳
۵. Durmic, Z., P. Hutton, D. K. Revell, J. Emms, S. Hughes, and P. E. Vercoe. ۲۰۱۰. In vitro fermentative traits of Australian woody perennial plant species that may be considered as potential sources of feed for grazing ruminants. Anim. Feed Sci. Technol. ۱۶۰:۹۸-۱۰۹.
۶. France, J., J.Dijkstra, M. S. Dhanoa, S. Lopez, and A. Bannink. ۲۰۰۰. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed in vitro: derivation of models and other mathematical considerations. Br. J. Nutr. ۸۳:۱۴۳-۱۵۰.
۷. Jahani-Azizabadi, H., M. DaneshMesgaran, A. R. Vakili, K. Rezayazdi, and M. Hashemi. ۲۰۱۱. Effect of various medicinal plant essential oils obtained from semi-arid climate on rumen fermentation characteristics of a high forage diet using in vitro batch culture. African J. Microb. Res. ۵(۲۷): ۴۸۱۲-۴۸۱۹.
۸. Menke, K. H., and H. Staingass. ۱۹۸۸. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Anim. Res. Develop. ۲۸: ۷-۵۵.
۹. Ranilla, M. j., Tejido, M. L., Giraldo, L. A. and Tricárico, J. M. ۲۰۰۸. Effects of an exogenous fibrolytic enzyme preparation on in vitro ruminal fermentation of three forages and their isolated cell walls. Anim. Feed Sci. Technol. ۱۴۵:۱۰۹-۱۲۱.
۱۰. Omar, S.A.S., M.A. Razzaque and F. Alsdarawi (eds): Range management in Arid Zones, pp.۲۵-۴۰. Kegan Paul international, London.
۱۱. Tan, Z. L., Chen, H. P., He, L. H., Fang, R. J. and Xing, T. X. ۱۹۹۵. Variation in the nutritional characteristics of wheat straw. Anim. Feed Sci. Technol. ۵۳:۳۳۷-۳۴۴.
۱۲. Tang, S. X., Tayo, G. O., Tan, Z. L., Sun, Z. H., Shen, L. X., Zhou, C. S., Xiao, W. J., Ren, G. P., Han, X. F. and Shen, S. B. ۲۰۰۸. Effects of yeast culture and fibrolytic enzyme supplementation on in vitro fermentation characteristics of low-quality cereal straws. J. Anim. Sci. ۸۶:۱۱۶۴-۱۱۷۲.
۱۳. Theodorou, M. K, B. A. Williams, M. S. Dhanoa, A. B. McAllan, and J. France. ۱۹۹۴. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Anim.Feed Sci.Technol. ۴۸:۱۸۵-۱۹۷.
۱۴. Towhidi. A., T. Saberifar., and E. Dirandeh. ۲۰۱۱. Nutritive value of some herbage for dromedary camels in the central arid zone of Iran. Trop. Anim. Health Prod. ۴۳:۶۱۷- ۶۲۲.
۱۵. Yang, W. Z., K. A. Beauchemin, and L. M. Rode. ۲۰۰۰. A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. J. Dairy Sci. ۸۳:۲۵۱۲-۲۵۲۰.

Effects of xylanase exogenous enzyme on *in vitro* gas production and fermentation characteristics of barely straw

Yasaman Ahmadi Bonakdar, Seyed Alireza Vakili and Mohsen Danesh Mesgaran

Department of Animal science, Faculty of Agricultural, Ferdowsi University of Mashhad

Yasamanbonakdar@gmail.com

Abstract

In vitro gas production technique was used to evaluate the effects of exogenous xylanase on fermentation characteristics of barley straw. Four levels of the enzyme (۰,۰, ۲,۵, ۵,۰ and ۷,۵ g/kg DM of barley straw) were added to barley straw as substrate and subsequently incubated in rumen batch cultures. The gas production parameters including potential of gas production (b), partial gas production rate (c) and lag time were

increased by enzyme supplementation of barely straw. Moreover, exogenous xylanase improved in vitro dry matter degradability (IVDMD) and average fermentation rate of barley straw (AFR). However, no difference was observed among treatments for total gas production. The results showed that exogenous xylanase have a positive effect on fermentation characteristics as well as dry matter degradability of barley straw.

KEYWORDS: BARELY STRAW, CHEMICAL COMPOSITION, XYLANASE, GAS PRODUCTION