تأثير إضافة الإنزيمات الفطرية والخميرة في قابلية الهضم المختبري

خالد دفيك احمد[*]، عادل عبد الله يوسف[**] واحمد علاء الدين طه[***]

[*]مركز تنمية حوض أعالي الفرات/ جامعة الأنبار

[**]كلية الزراعة/ جامعة الأنبار

[***]دائرة البحوث الزراعية/ وزارة الزراعة

الخلاصة

أجريت تجربة الهضم المختبري في مختبر التغذية التابع لقسم علم الحيوان في كلية الزراعة في جامعة UPM في ماليزيا خلال الفترة من 2014/6/10 ولغاية 2014/9/25 وتضمنت التجربة تأثير إضافة الإنزيمات الفطرية والخميرة على قابلية الهضم ألمختبري قسمت التجربة إلى أربع مجاميع مجموعة السيطرة ومجموعة الإنزيمات الفطرية 3 غم ومجموعة الخميرة 3غم من الخميرة ومجموعة الخليط 3غم من الإنزيمات الفطرية و3 غم من الخميرة أظهرت النتائج ان استخدام الإنزيمات الفطرية اظهر تأثير معنوي ($P<0.05$) في كمية الغاز المنتج على باقي المعاملات كما تفوقت مجموعة الإنزيمات معنويا ($P<0.05$) على مجموعة الخميرة ومجموعة الخليط في قيمه pH كما أظهرت النتائج تأثير معنوي ($P<0.05$) عند استخدام الإنزيمات الفطرية في قابلية هضم المادة الجافة مقارنه بمجموعة السيطرة وتفوق مجموعة الإنزيمات الفطرية معنويا ($P<0.05$) على جميع المعاملات في قابلية هضم المادة العضوية.

Effect add the Fibrolytic Enzymes and Yeast on in vitro digestibility

K. D. Ahmed[*], A. A. Yousif[**], A. A. Taha[***]

[*]Euphrates Higher Basin Developing Center\ University of Anbar

[**]College of Agriculture\ University of Anbar

[***]Agricultural research center\ Ministry of Agriculture

Abstract

This study was conducted at the lab of Animal science Department College of Agriculture- University of UPM in Malaysia from period 10/6/2014 to 25/9/2014. This study was conducted to investigate the effect giving the fibrolytic Enzymes and Yeast on In vitro digestibility, the experiment included four equal group control group, fibrolytic enzymes group 3gm, Yeast group 3gm and mixed between fibrolytic enzymes 3gm and yeast 3gm, The results showed that use fibrolytic enzymes had significant effect ($P< 0.05$) on gas production in vitro compared with all group, significant effect ($P<0.05$) for fibrolytic enzymes on pH compared with mixed and yeast group, Use fibrolytic enzymes had significant effect ($P<0.05$) on IVDMD compared with control group and significant effect ($P<0.05$) with all treatment on IVOMD.

المقدمة

تمتاز المواد العلفية بارتفاع محتواها من الألياف وتأتي أهمية الألياف في تحفيز إفراز اللعاب وبالتالي المساهمة في عمليات التخمر في الكرش وان أداء الحيوانات المجترة من حيث استهلاك وهضم المواد العلفية قد ينخفض بسبب ارتفاع المواد الليفية مع عدم اكتمال هضم الألياف في منطقة الكرش وان جود المواد الليفية يعيق وصول الأحياء المجهرية إلى المواد العلفية وبالتالي يقل هضمها(1، 2، 3). لقد تم تطوير العديد من الإستراتيجيات لتحسن القيمة الغذائية للمواد العلفية وزيادة قابلية تحلل المواد العلفية عن طريق استخدام المعاملات الفيزيائية والكيميائية والبايلوجية ان التقنيات المستخدمة قد حسنت من تكسير جدران الخلايا النباتية للوصول إلى

المواد داخل تلك الخلايا إلا ان كمية الطاقة القابلة للهضم لا تزيد عن 50% (4). وظلت محاولات تحسن المواد العلفية المستخدمة في تغذية الحيوانات المجترة فترة طويلة وصولا إلى استخدام التكنولوجيا الحيوية المتمثل بإضافة الأنزيمات الفطرية الخارجية والخمائر من اجل تقليل كلفة التغذية وتحسين قابلية الهضم وزيادة إنتاجية الحيوانات (5، 6، 7، 8، 9، 10).

المواد وطرائق العمل

أجريت تجربة الهضم المختبري باستخدام طريقة (11) في مختبر التغذية التابع لقسم علم الحيوان في كلية الزراعة في جامعة UPM في ماليزيا خلال الفترة من 2014/6/10 ولغاية 2014/9/25 وتضمنت التجربة تقدير إنتاج الغازات وقابلية هضم المادة الجافة وقابلية هضم المادة العضوية والأس الهيدروجيني pH استخدم في التجربة تبن الرز في ماليزيا وقسمت التجربة إلى أربع مجاميع مجموعة السيطرة ومجموعة الإنزيمات الفطرية 3 غم ومجموعة الخميرة 3 غم من الخميرة ومجموعة الخليط 3 غم من الإنزيمات الفطرية و3 غم من الخميرة. تم جمع عينات سائل الكرش بطريقة Fistulate من 3 كباش بالغة قبل التغذية الصباحية بعدها جرى عملية تصفية عينه الكرش باستخدام القماش القطني في دورق مخروطي ثم أخذت العينات إلى المختبر وتم توجيه غاز CO_2 إلى عينة سائل الكرش في المختبر للحفاظ على طبيعية محتويات العينة. تم تحضير الوسط McDougall's الذي تتم إضافته إلى سائل الكرش وبعد إكمال عملية تحضير الوسط يمزج مع عينه سائل الكرش في بيكر كبير يتم إضافة 30 مل من المزيج إلى سرنجات زجاجية سعة 200 مل وتوضع في الحمام المائي وعلى درجة حرارة 39 م° يتم إضافة عينات التجربة إلى السرنجات وبوزن 0.2 غم لكل معاملة (صورة 1) بعدها يتم عملية قراءة إنتاج الغازات بعد 2، 4، 6، 8، 10، 12، 24، 48 ساعة من بداية التجربة بعد الانتهاء من القراءة تم تفريغ العينات في جفنه ثم يتم قياس الأس الهيدروجيني pH وبعدها تم حفظ العينات في الفرن على درجة حرارة 105 م° لمدة 24 ساعة لتقدير معامل هضم المادة الجافة (*IVDMD) In Vitro dry matter digestibility وبعدها حولت العينات إلى فرن وعلى درجة حرارة 550 م° ولمدة 5 ساعات لتقدير الرماد من اجل تقدير المادة العضوية بطرح قيمه المادة الجافة من الرماد وتم حساب معامل هضم المادة العضوية (**IVOMD) In Vitro organic matter digestibility.

$$\text{IVDMD} = \frac{\text{المادة الجافة للعينة} - \text{المادة الجافة غير المهضومة}}{\text{المادة الجافة للعينة}} \times 100$$

$$\text{IVOMD} = \frac{\text{المادة العضوية للعينة} - \text{المادة العضوية غير المهضومة}}{\text{المادة العضوية للعينة}} \times 100$$

صورة (1) توضح عينات الهضم المختبري

أجري التحليل الإحصائي باتجاه واحد (One Way Analysis) إذ شمل الاتجاه تأثيرات المعاملات الأربع وبإتباع الأنموذج الخطي العام (General Linear Model) وباستعمال برنامج SAS الإحصائي الجاهز الإصدار 9.1 (12)، واختبرت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستعمال اختبار Duncan متعدد الحدود عند مستوى معنوية 0.05 و 0.01.

النتائج والمناقشة

يوضح جدول (1) تأثير إعطاء الإنزيمات الفطرية والخميرة والمزيج بينهما على كمية الغاز المنتج حيث نلاحظ تفوق مجموعة الإنزيمات الفطرية معنويا ($p<0.05$) على مجموعة السيطرة في كمية الغاز المنتج خلال الفترات 2، 4، 6، 8، 10، 12، 24، 48 ساعة من بداية التجربة كما تفوقت مجموعة الإنزيمات الفطرية معنويا ($p<0.05$) على باقي المعاملات خلال فترة 12، 24، 48 ساعة من بداية التجربة في كمية الغاز المنتج هذه النتائج جاءت متفقة مع (13، 14) لما دور للإنزيمات الفطرية في تحليل المواد السليلوزية ولم تتفق هذه النتائج مع (15، 16) الذين بينوا عدم وجود تأثير للإنزيمات الفطرية خلال 24 ساعة من الحضن في كمية الغاز المنتج يعود هذا الاختلاف في النتائج إلى طبيعة التبن المستخدم أو بسبب اختلاف المنتوج المستعمل في التجربة حيث هناك اختلاف بين تبن الشعير وتبن الأرز حيث كمية البروتين في تبن الأرز اقل من تبن الشعير كذلك إن زيادة كمية الغاز المنتج مختبريا دليل على زيادة عمليات التخمر التي تقوم بها الأحياء المجهرية وبالتالي زيادة في تحلل المواد الليفية وزيادة الأحماض الدهنية الطيارة وتحسن في قابلية الهضم (17، 18). ولم يلاحظ وجود فروق معنوية بين بقية المعاملات مع مجموعة السيطرة في كمية الغاز المنتج خلال فترة الحضن المختبري ولم تتفق هذه النتائج مع (14) الذي بين وجود تأثير معنوي للخليط بين الأنزيمات الفطرية والخميرة في زيادة كمية الغاز المنتج خلال الحضن المختبري للتبن.

جدول (1) يبين تأثير استخدام الأنزيمات الفطرية والخميرة وخليطهما في كمية الغاز المنتج مختبريا

الصفات	المعاملات				مستوى المعنوية
	مجموعة السيطرة	مجموعة الأنزيمات الفطرية	مجموعة الخميرة	مجموعة الخليط بين الأنزيمات الفطرية والخميرة	
إنتاج الغاز (مل)					
بداية التجربة	0.66±28.66 a	0.34±29.00 a	0.27±30.00 a	0.28± 28.50 a	غ.م
بعد 2 ساعة	0.57±35.00 b	0.57±40.00 a	2.33±37.33 ab	1.20±35.33 ab	0.05
4 ساعة	0.88±38.66 b	1.00±47.00 a	3.51±42.00 ab	1.83±41.16 ab	0.05
6 ساعة	1.20±42.33 b	0.88± 52.67 a	4.50±46.00 ab	2.84±44.66 ab	0.05
8 ساعة	1.33 ±45.66 b	1.20±58.33 a	5.50±50.00 ab	3.17±48.33 ab	0.05
10 ساعة	0.66±49.33 bc	1.52±63.00 a	6.35±54.33 abc	3.84±51.66 abc	0.05
12 ساعة	0.88±51.66 bc	1.20±67.33 a	7.02±58.00 bc	4.17±55.33 bc	0.05
24 ساعة	2.08±64.00 bc	1.33±81.66 a	5.19 ±73.16 b	5.53±69.50 b	0.05
48 ساعة	1.20±71.66 b	1.52±89.00 a	4.48±79.33 b	6.82±75.83 b	0.05

***القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي.**

****غ.م.: تعني عدم وجود فروق معنوية بين متوسطات المعاملات.**

a, b, c,d: الحروف المختلفة ضمن الصف الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى معنوية ($P\leq0.01$) و ($P\leq0.05$).

ويوضح جدول (2) تفوق مجموعة الأنزيمات الفطرية على باقي المعاملات معنويا($p<0.05$) في قيمة pH خلال فترة الحضن المختبري ولم يلاحظ فرق معنوي في قيمه pH بين مجموعة الأنزيمات الفطرية ومجموعة السيطرة مع عدم وجود فروق بين باقي المعاملات ومجموعة السيطرة في قيمه pH إن قيمه الأس الهيدروجيني من أهم العوامل المؤثرة في عمل الإنزيمات الفطرية داخل الكرش وان عدم الاستجابة للإنزيمات الفطرية يعزى إلى ارتفاع الأس الهيدروجيني الكرش وانخفاض درجة الحرارة لذا يجب التحقق من استقرار الكرش قبل الاستخدام كذلك إن الأس الهيدروجيني من العوامل الرئيسية لعمل البكتريا المحللة للسليلوز إن نمو وتكاثر الإحياء المجهرية تتأثر بقيمه الأس الهيدروجيني لسائل الكرش (19). كما بين جدول (2) تفوق مجموعة الأنزيمات الفطرية معنويا ($p<0.05$) على باقي المعاملات في قابلية هضم المادة الجافة IVDMD وقابلية هضم المادة العضوية IVMOD اتفقت هذه النتائج مع (14، 20) حيث إن إضافة الإنزيمات الفطرية يعزز النمو الميكروبي ويقلل من حجم جسيمات الألياف ويزيد من عملية الهضم وإن ارتفاع معامل الهضم المختبري للمادة الجافة والمادة العضوية يكون نتيجة التحسن الحاصل في القيمة الغذائية للتبن نتيجة لتحرر السيليلوز بسبب تكسير الأواصر بين السليلوز والهيميسليلوز وبين اللجنين مما يؤدي إلى زيادة تعرضها للأحياء المجهرية الموجودة في الكرش بالتالي زيادة في درجة التحلل مما أدى إلى زيادة الاستفادة من العناصر الغذائية في التبن المعامل وتحسن في كفاءة الهضم. ولم يلاحظ في جدول (2) وجود فروق معنوية بين مجموعة الخميرة ومجموعة الخليط مع مجموعة السيطرة في قابلية هضم المادة الجافة IVDMD وقابلية هضم المادة العضوية IVMOD ولم تتفق هذه النتائج مع (14، 20).

جدول (2) يبين تأثير استخدام الأنزيمات الفطرية والخميرة وخليطهما في قيمه PH وقابلية هضم المادة الجافة والعضوية

الصفات	المعاملات				مستوى المعنوية
	مجموعة السيطرة	مجموعة الأنزيمات الفطرية	مجموعة الخميرة	مجموعة الخليط	
pH	0.03±6.80 bcd	0.03 ± 6.73 d	0.03±6.86 abc	0.04±6.90 ab	0.05
%IVDMD	0.63±77.73 cb	0.34 ± 80.45 a	0.25±78.85 abc	1.21±78.35 abc	0.05
%IVMOD	0.54±65.76 bcd	0.23 ± 68.37 a	0.18±66.26 bc	0.24±65.10 cd	0.05

* القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي.

** غ.م.: تعني عدم وجود فروق معنوية بين متوسطات المعاملات.

a, b, c,d: الحروف المختلفة ضمن الصف الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى معنوية ($P\leq0.01$) و($P\leq0.05$).

المصادر

1. Krause, D. O.; Denman, S. T.; Mackie, R. I.; Morrison, M.; Rae, A. L.; Attwood, G. T. & McSweeney, C. S. (2003). Opportunities to improve fibre degradation in the rumen: Microbiology, ecology, and genomics. FEMS Microbiol. Rev., 27: 663-693.
2. Krueger, N. A.; Adesogan, A. T.; Staples, C. R.; Krueger, W. K.; Dean, D. B. & Littell, R. C. (2008). The potential to increase digestibility of tropical grasses with a fungal, ferulic acid esterase enzyme preparation. Anim. Feed Sci. Technol., 145: 95-108.
3. Weimer, P. J.; Russell, J. B. & Muck, R. E. (2009). Lessons from the cow: What the ruminant animal can teach us about consolidated bioprocessing of cellulosic biomass. Bioresour. Technol., 100: 5323-5331.
4. McDonald, P.; Edwards, R.; Greenhalgh, J. F. D. & Morgan, C. A. (2002). Animal nutrition. 6th ed., Harlow, Pearson education, Prentice Hall, England.

5. McAllister, T. A.; Hristov, A. N.; Beauchemin, K. A.; Rode, L. M. & Cheng, K. J. (2001). Enzymes in ruminant diets. In: Enzymes in farm animal nutrition. Eds. Bedford M.R. & G.G. Partridge. CAB inter., PP. 273-298.
6. Colombatto, D.; Mould, F. L.; Bhat, M. K. & Owen, E. (2003). Use of fibrolytic enzymes to improve the nutritive value of ruminant diets. A biochemical and *in vitro* rumen degradation assessment. Anim. Feed Sci. Technol., 107: 201-209.
7. Eun, J. S. & Beauchemin, K. A. (2007). Assessment of the efficacy of varying experimental exogenous fibrolytic enzymes using *in vitro* fermentation characteristics. Anim. Feed Sci. Technol., 132: 298-315.
8. Beauchemin, K. A.; Colombatto, D.; Suksombat, W. & Phakachoed, N. (2013). Use of fibrolytic enzymes additives to enhance in vitro ruminal fermentation of corn silage. J. Liv. Sci., 157: 100-112.
9. Abdou, A. R. (2011). Utilization of *Saccharomyces cerevisiae*supplementation for feeding goats in South Sinai. Egyptian J. Nutrition and Feeds, 14 (2):169-181.
10. Zabek, K.; Milewski, S.; Wojcik, R. & Siwicki, A. K. (2014). The effects of supplementing diets fed to pregnant and lactating ewes with *Saccharomyces cerevisiae*dried yeast. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 38 (79):1621-1630.
11. Tilley, J. M. A. & Terry, R. A. (1963). The relationship between the soluble constitutent herbage and theirdry matter digestibility. J. British Feed Sci., 18:104-111.
12. SAS, (2004). SAS User's guide: statistical system, Inc. Cary, NC. USA.
13. Eun, J. S.; Beauchemin, K. A.; Hong, S. H. & Bauer, M. W. (2006). Exogenous enzymes added to untreated or ammoniated rice straw: Effects on *in vitro* fermentation characteristics and degradability. Anim. Feed Sci. Technol., 131: 86-101.
14. 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. & Shen, S. B. (2008). Effects of yeast culture and fibrolytic enzyme supplementation on *invitro* fermentation characteristics of low-quality cereal straws. J. Anim. Sci., 86:1164-1172.
15. Liu, J. X. & Ørskov, E. R. (2000). Cellulase treatment of untreated and steam pre-treated rice straw-effect on in vitro fermentation characteristics. Anim. Feed Sci. Technol., 88: 189-200.
16. Kung, L.; Cohen, M. A.; Rode, L. M. & Treacher, R. J. (2002). The effect of fibrolytic enzymes sprayed onto forages and fed in a total mixed ratio to lactating dairy cows. J. Dairy Sci., 85: 2396-2402.
17. Walli, T. K.; Ørskov, E. R. & Bhargava, P. (1988). Rumen degradation of straw. 3. Botanical fractions of two rice straw varieties and effects of ammonia treatment. Anim. Prod., 46: 347-352.
18. Colombatto, D.; Mould, F. L.; Bhat, M. K. & Owen, E. (2003). Use of fibrolytic enzymes to improve the nutritive value of ruminant diets. A biochemical and *in vitro* rumen degradation assessment. Anim. Feed Sci. Technol., 107: 201-209.
19. Ha, J.; Emerick, K. & Embry, L. B. (1983). *In vitro* effect of buffers in lambs before and after adaptation to high concentrate diets. J. Anim. Sci., 56:698-670.
20. Tan, Z. L.; Shah, M. A. & Murphy, M. R. (2004). Effects of dietary concentrate and forage ratio, energy and yeast culture supplementon in vitro dry matter degradability for lactating dairy cows. ActaZoonutrimenta Sinica, 16:26-32.