

تجزیه ماده خشک و الیاف پنج نوع ماده خوراکی به وسیله قارچ‌های بی‌هوایی شکمبه گوسفند

تقی قورچی^۱، شعبان رحیمی^۲، محمد رضائیان^۳ و غلامرضا قربانی^۴

چکیده

برای بررسی توان قارچ‌های بی‌هوایی شکمبه در تجزیه ماده خشک و الیاف، از یونجه، سبوس گندم، کنجاله پنبه‌دانه، باگاس و سیلیوی ذرت برای کشت قارچ‌های بی‌هوایی جدا شده از شکمبه گوسفند نژاد شال استفاده شد. قارچ‌ها به مدت صفر، ۳، ۶ و ۹ روز روی مواد خوراکی مذکور کشت داده شدند، و تعییرات تجزیه ماده خشک، pH، دیواره سلولی (NDF)، دیواره سلولی بدون همی‌سلولز (ADF)، سلولز، همی‌سلولز و لیگنین (ADL) اندازه‌گیری شد.

در مدت ۹ روز کشت، کاهش ماده خشک از ۱۰/۰٪ تا ۲۹/۴٪ و دیواره سلولی از ۱۱/۷٪ تا ۴۸/۷٪ متغیر بود، که به ترتیب کمترین مقدار در باگاس و بیشترین مقدار در یونجه به دست آمد. بیشترین مقدار تجزیه دیواره سلولی بدون همی‌سلولز، همی‌سلولز و سلولز در یونجه و به ترتیب ۳۹٪، ۶۵/۶٪ و ۵۰/۶٪ بود. داده‌ها و اطلاعات حاصله بیانگر توانایی قارچ‌های توپایی شکمبه گوسفند در تجزیه و کاهش ماده خشک، دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی‌سلولز و سلولز در انواع خوراک‌های مورد استفاده است.

واژه‌های کلیدی: قارچ‌های بی‌هوایی، شکمبه، دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی‌سلولز، لیگنین

۱. دانشجوی سابق دکتری علوم دامی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۲. استادیار دامپزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۳. استادیار میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۴. دانشیار علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

آنها در فرایند هضم در شکمبه ناشناخته است. همچنین، ارتباط ترکیبات دیواره سلولی با فعالیت قارچ به خوبی مشخص نشده است. با توجه به این که انواع خوراک‌های دامی از نظر ترکیب شیمیایی و قابلیت هضم با هم تفاوت دارند (۲۴ و ۱۹)، ممکن است قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه نسبت به تجزیه مواد الیافی هر ماده واکنش‌های متفاوتی نشان دهند.

در این پژوهش، تغییرات حاصله از تجزیه و کاهش ماده خشک، دیواره سلولی (Neutral detergent fiber NDF) یا Acid detergent fiber (ADF) یا Acid detergent fiber (ADL) یا سلولز (lignin) (یونجه، سبوس گندم، کنجاله پنهانه، باگاس و سیلوی ذرت طی ۶، ۳ و ۹ روز پس از رشد قارچ‌های بی‌هوازی اندازه‌گیری، و سعی شد تا توانایی این گروه از میکروارگانیسم‌های شکمبه در تجزیه مواد فیبری هر خوراک بررسی شود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از گوسفند نر نژاد شال استفاده شد. در طول مدت آزمایش، یک گوسفند در قفس متابولیکی انفرادی نگهداری و فیستول گذاری شد. جیره روزانه یونجه (۱۱۰۰ گرم) و جو (۲۰۰ گرم) بود. برای جداسازی قارچ‌های بی‌هوازی، نمونه‌برداری از محتویات شکمبه با سرنگ از طریق کانولا صورت گرفت، و از این نمونه به عنوان منبع قارچ برای تلقیح به محیط کشت استفاده گردید. محیط کشت قارچ‌های بی‌هوازی از اجزای زیر تشکیل شده بود:

محلول نمکی شماره یک، محلول نمکی شماره دو، مایع صاف شده شکمبه (سانتریفوژ به مدت ۳۰ دقیقه در دور $g \times 10000$)، عصاره مخمر، پیتون تریپتیکاز، بی‌کربنات سدیم، محلول ریزازورین و ال - سیستین هیدروکلرید.

محیط کشت کاملاً بی‌هوازی بود. برای حذف اکسیژن از محیط کشت، به مدت دو ساعت از گاز کربنیک استفاده شد. مقدار ۸۰ میلی‌لیتر از محیط کشت همراه با ۱/۲ گرم از خوراک‌های مورد آزمایش در ظروف شیشه‌ای دربسته ریخته

فرایند اصلی هضم خوراک در نشخوارکنندگان تجزیه و هضم دیواره سلولی است، که در نتیجه فرایندهای تخمیری باکتری‌ها، قارچ‌های بی‌هوازی و دیگر عوامل تجزیه الیاف در شکمبه پدید می‌آید (۱۰، ۱۹ و ۲۴).

پژوهندگان پیشین بر این باور بودند که زئوسپور قارچ‌های بی‌هوازی تکیاخته‌های (پروتوزوا) تاژک‌دارند، ولی اُرپین (۲۰) ثابت کرد که این میکروارگانیسم‌ها زئوسپور قارچ هستند. قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه در همه نشخوارکنندگان وجود دارند، و چرخه زندگی آنها دو مرحله‌ای است. در مرحله نخست متحرک بوده و زئوسپور دارند. مرحله دوم که رویشی است، با اتصال زئوسپور قارچ به ذرات گیاهی داخل شکمبه آغاز، و تا تولید و آزاد شدن زئوسپورهای جدید از اسپورانژیوم ادامه می‌یابد (۶، ۱۵، ۲۱ و ۲۳).

اکین و ریگسبی (۵) اظهار داشتند که در سرعت و میزان هضم مواد لیگنوسلولزی، نقش قارچ‌ها با کل میکروارگانیسم‌های شکمبه برابر است، و ارتباط نزدیکی میان قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه و هضم فیبر گیاه وجود دارد. مهم‌ترین نقش این قارچ‌ها در شکمبه، هضم و تجزیه مواد فیبری است.

در پژوهش ویندهام و اکین (۲۵) کاهش ماده خشک گیاه یونجه پس از رشد قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه به مدت هفت روز بین $2/19\%$ تا $21/6\%$ بود. در پژوهش گاوانده و کامت (۱۲) سه سوبسترای سبوس گندم، باگاس نیشکر و کاه برنج به کار رفت. نتایج نشان داد که تجزیه و تبدیل همی‌سلولز سبوس گندم به وسیله قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه نسبت به خوراک دیگر پس از ۷۰ ساعت انکوباسیون بیشتر است، که این می‌تواند به دلیل مقدار لیگنین کم سبوس گندم در مقایسه با سوبسترهای دیگر باشد.

از هنگامی که قارچ‌های شکمبه کشف شده‌اند پژوهش‌های بسیاری در زمینه اکولوژی، فعالیت‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک آنها صورت گرفته، ولی هنوز نقش دقیق و سهم

زمان‌های ۳، ۶ و ۹ روز کشت قارچ‌های بی‌هوایی شکمبه روی پنج نوع سوبسترای مختلف است. قارچ‌های شکمبه با توجه به توان نفوذ به دیواره سلولی گیاه (۷، ۱۱ و ۱۳) و تولید آنزیم‌های سلولاز، گزیلاناز، آمیلاز، پروتئاز، پکتیناز و P-کوماریل استراز، علاوه بر تسریع هضم کربوهیدرات‌های ساختمانی (۲۱ و ۲۱)، باعث آزاد شدن کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی مانند مونوساکاریدها می‌شوند.

ماتسویی و همکاران (۱۷) انواع گونه‌های قارچ‌های شکمبه را روی علف تیموتی (*Phleum pratense*) به مدت هفت روز کشت دادند. مقدار کاهش ماده خشک از ۱۵٪ تا ۶۰٪ بود، که به ترتیب کمترین مقدار را جنس *Piromyces* و بیشترین مقدار را *Neocallimastix* داشت. یافته‌های پژوهندگان نشان داده است که بافت‌های مشابه در علوفه‌های مختلف، یا حتی در واریته‌های مختلف یک گونه، در میزان تجزیه شدن با هم اختلاف دارند، و این به ویژگی‌های ذاتی دیواره سلولی مانند ترکیبات شیمیایی پیوندهای بین ترکیبات بستگی دارد، که بر قابلیت هضم ماده خشک تأثیر می‌گذارد. هرچه مقدار ساقه در نمونه خوراک بیشتر باشد، قابلیت هضم ماده خشک آن نمونه کمتر است (۲۴).

مقدار تجزیه و کاهش ماده خشک کنجاله پنبه‌دانه نسبت به دیگر خوراک‌ها کم بود (جداول ۲، ۳ و ۴). جدول ۱ نشان می‌دهد که مقدار پروتئین و چربی خام کنجاله پنبه‌دانه از خوراک‌های دیگر بیشتر است. با توجه به زیاد بودن مقدار پروتئین خام کنجاله پنبه‌دانه انتظار می‌رفت که کاهش ماده خشک آن بیشتر باشد (۱۹ و ۲۴)، ولی احتمالاً به علت زیاد بودن مقدار لیگنین، که یک ممانعت کننده در هضم و تجزیه ماده خشک است، می‌توان نتیجه گرفت که کمی تجزیه احتمالاً به علت لیگنین زیاد خوراک بوده است (۷، ۱۹ و ۲۴). هم‌چنین، کنجاله پنبه‌دانه دارای گوسپیول است (۱۹)، که احتمالاً باعث کاهش تجزیه ماده خشک آن می‌شود.

مقدار کاهش ماده خشک پس از ۹ روز کشت با قارچ بی‌هوایی شکمبه از ۱۰٪ تا ۲۹٪ متغیر بود که بیشترین

شد. برای سترون کردن از اتوکلاو (با فشار اتمسفر، دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه) استفاده شد (۱، ۲ و ۲۴). به این محیط مقدار کمی نمونه گرفته شده از محتويات شکمبه تلقیح شد و به مدت ۴۸ ساعت در آون ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در طول این مدت قارچ‌ها در محیط کشت رشد می‌کردند. تأیید رشد آنها با مشاهده مستقیم میکروسکوپی انجام شد. از محیط مذکور نمونه برداشته و تجدید کشت شده، سپس از قارچ‌های جدا شده به عنوان منبع، برای رشد در محیط‌های کشت با سوبستراها مختلف استفاده شد.

خوراک‌های مورد استفاده عبارت بود از: یونجه، سبوس گندم، سیلوی ذرت، کنجاله پنبه‌دانه و باگاس نیشکر. از هر سوبسترای به مقدار ۱/۲ گرم و به تعداد سه تکرار تهیه، و برای مدت صفر، ۳، ۶ و ۹ روز کشت داده شد. ترکیب شیمیایی هر ماده خوراکی در جدول ۱ نوشته شده است.

تغییرات pH محیط کشت به وسیله pH متر، و کاهش ماده خشک، دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی‌سلولز و لیگنین با استفاده از دستگاه فیروتک و آون اندازه‌گیری شد (۵).

همی‌سلولز از تفاوت NDF و ADF و سلولز از تفاوت ADF و ADL محاسبه شد.

درصد کاهش مقدار ADF، لیگنین، همی‌سلولز و سلولز با فرمول زیر محاسبه شد (۷).

$$L = [(WP - Wt Pt) / WP] \times 100$$

که در آن، L درصد کاهش، Wt مقدار ماده خشک سوبسترای به ترتیب در آغاز و پایان تجزیه بر حسب گرم، و P درصد ترکیبات ADF، NDF، لیگنین، همی‌سلولز و سلولز در آغاز و پایان تجزیه است.

تجزیه آماری داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS با کاربرد مدل آماری طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار، و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

کاهش ماده خشک

داده‌های جداول ۲، ۳ و ۴ نمایانگر کاهش ماده خشک در

جدول ۱. ترکیب شیمیایی پنج نوع خوراک مورد آزمایش بر اساس ماده خشک

ترکیب شیمیایی								خوارک
سلولز	همی سلولز	لیگنین	بدون همی سلولز	دیواره سلولی	چربی	پروتئین خام		
۱۹/۹ ± ۱/۲	۸/۱ ± ۰/۷	۵/۳ ± ۰/۲	۲۵/۷ ± ۱/۵	۳۳/۹ ± ۱/۷	۱/۱ ± ۰/۰۲	۲۱/۳ ± ۲/۴	یونجه	
۱۳/۱ ± ۱/۱	۳۱/۷ ± ۱/۴	۴/۲ ± ۰/۲	۱۸/۰ ± ۰/۸	۴۹/۷ ± ۳/۲	۲/۹ ± ۰/۳۳	۱۴/۸ ± ۱/۲	سبوس گندم	
۲۲/۷ ± ۲/۰	۱۷/۸ ± ۱/۲	۱۳/۸ ± ۱/۰	۳۷/۴ ± ۲/۲	۵۵/۲ ± ۳/۸	۰/۹ ± ۰/۷	۲۸/۶ ± ۲/۴	کنجاله پنبه‌دانه	
۳۱/۲ ± ۲/۱	۱۵/۰ ± ۰/۸	۳/۷ ± ۰/۱	۳۵/۱ ± ۱/۰	۵۰/۱ ± ۱/۷	۱/۴ ± ۰/۰۴	۷/۰ ± ۰/۶	سیلوی ذرت	
۳۴/۳ ± ۲/۱	۱۸/۰ ± ۱/۲	۱۰/۳ ± ۰/۴	۴۴/۹ ± ۲/۴	۶۲/۸ ± ۱/۶	۰/۴ ± ۰/۰۱	۷/۳ ± ۰/۴	باگاس	

جدول ۲. درصد کاهش ماده خشک و ترکیبات الیافی و تغییرات pH انواع خوراک پس از ۳ روز رشد قارچ‌های بی‌هوایی شکمبه گوسفند

صفات								خوارک
سلولز	همی سلولز	لیگنین	بدون همی سلولز	دیواره سلولی	pH	ماده خشک		
۱۹/۲ ± ۲/۴ ^a	۴۰/۵ ± ۴/۳ ^a	۸/۸ ± ۱/۱ ^a	۸/۳ ± ۰/۹ ^{ab}	۳۴/۸ ± ۲/۳ ^a	۷/۷ ± ۰/۱۳ ^{ab}	۱۹/۰ ± ۱/۷ ^b	یونجه	
۱۲/۳ ± ۱/۲ ^b	۲۲/۳ ± ۱/۱ ^b	۱/۷ ± ۰/۸ ^b	۹/۸ ± ۱/۳ ^a	۲۹/۳ ± ۲/۷ ^b	۵/۲۰ ± ۰/۰۸ ^c	۲۱/۶ ± ۱/۱ ^a	سبوس گندم	
۳/۸ ± ۱/۲ ^c	۱۱/۲ ± ۱/۱ ^c	۲/۱ ± ۰/۸ ^b	۵/۰ ± ۰/۳ ^c	۷/۳ ± ۱/۱ ^c	۷/۶۶ ± ۰/۰۳ ^{ab}	۷/۶ ± ۱/۳ ^{dc}	کنجاله پنبه‌دانه	
۳/۰ ± ۰/۷ ^c	۱۵/۶ ± ۰/۷ ^c	۱/۲ ± ۰/۶۴ ^b	۲/۶ ± ۰/۸ ^d	۴/۲ ± ۲/۷ ^{cd}	۶/۹۶ ± ۰/۳۰ ^a	۱۴/۸ ± ۱/۵ ^c	سیلوی ذرت	
۳/۷ ± ۰/۵ ^c	۱۳/۶ ± ۱ ^c	۸/۰ ± ۰/۵۳ ^a	۲/۶ ± ۰/۳ ^d	۴/۰ ± ۰/۸ ^{cd}	۶/۵۰ ± ۰/۱۳ ^b	۵/۳ ± ۰/۷ ^e	باگاس	

میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه در ستون، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد دارند (آزمون دانکن).

جدول ۳. درصد کاهش ماده خشک و ترکیبات الیافی و تغییرات pH انواع خوراک پس از ۶ روز رشد قارچ‌های بی‌هوایی شکمبه گوسفند

صفات								خوارک
سلولز	همی سلولز	لیگنین	بدون همی سلولز	دیواره سلولی	pH	ماده خشک		
۵۰/۵ ± ۳/۲ ^a	۶۲/۴ ± ۲/۲ ^a	۱۳/۳ ± ۱/۹ ^a	۳۵/۷ ± ۱/۶ ^a	۳۷/۹ ± ۳/۷ ^a	۶/۶۵ ± ۰/۱۲ ^a	۲۶/۷ ± ۳/۴ ^a	یونجه	
۲۳/۷ ± ۱/۱ ^b	۳۲/۹ ± ۰/۹ ^b	۳/۱ ± ۰/۷ ^c	۲۵/۶ ± ۰/۷ ^b	۳۷/۰ ± ۳/۲ ^a	۵/۱۸ ± ۰/۳۳ ^a	۲۷/۱ ± ۱/۲ ^a	سبوس گندم	
۱۳/۳ ± ۲/۵ ^c	۲۵/۵ ± ۱/۲ ^c	۹/۵ ± ۱/۰ ^b	۹/۰ ± ۳/۴ ^c	۲۰/۷ ± ۳/۲ ^b	۶/۵۴ ± ۰/۰۷ ^a	۱۴/۴ ± ۲/۴ ^b	کنجاله پنبه‌دانه	
۱۵/۵ ± ۲/۳ ^c	۲۶/۷ ± ۰/۹ ^c	۱۰/۰ ± ۱/۰ ^b	۸/۸ ± ۰/۲ ^c	۱۶/۹ ± ۱/۶ ^c	۶/۴۸ ± ۰/۰۴ ^a	۱۵/۴ ± ۱/۶ ^b	سیلوی ذرت	
۱۳/۶ ± ۲/۵ ^c	۲۹/۷ ± ۴/۱ ^{bc}	۱۰/۴ ± ۰/۴ ^b	۷/۰ ± ۱/۶ ^d	۱۰/۳ ± ۱/۸۶ ^d	۶/۲۴ ± ۰/۰۳ ^a	۱۰/۰ ± ۱/۵ ^c	باگاس	

میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه در ستون، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد دارند (آزمون دانکن).

جدول ۴. درصد کاهش ماده خشک و ترکیبات الیافی و تغییرات pH انواع خوراک پس از ۹ روز رشد قارچ های بی هوایی شکمبه گوسفند

خوارک	صفات						
	ماده خشک	pH	دیواره سلولی	بدون	لیگنین	همی سلولز	سلولز
بیونجه	۲۹/۴±۳/۶ ^a	۷/۴۱±۰/۰۱ ^a	۴۸/۷±۴/۰ ^a	۳۹/۰±۴/۴ ^a	۱۶/۳±۲/۴ ^a	۶۵/۶±۳/۵ ^a	۵۵/۶±۷/۰ ^a
سبوس گندم	۲۸/۰±۰/۶ ^{ab}	۴/۴۸±۰/۰۳ ^d	۳۸/۴±۰/۸ ^b	۲۸/۴±۵/۱ ^b	۶/۹±۱/۱ ^c	۳۶/۱±۲/۸ ^b	۲۶/۵±۵/۱ ^b
کنجاله پینه دانه	۱۸/۰±۱/۸ ^c	۷/۴۴±۰/۰۴ ^a	۲۳/۴±۴/۷ ^c	۱۲/۶±۱/۲ ^c	۱۲/۹±۱/۳ ^b	۲۷/۲±۲/۹ ^{cd}	۱۵/۲±۲/۰ ^d
سیلولی ذرت	۱۸/۸±۱/۶ ^c	۷/۳۱±۰/۲۰ ^{ab}	۱۱/۲±۰/۰۷ ^c	۱۱/۲±۱/۱ ^b	۱۲/۳±۱/۱ ^c	۳۰/۶±۲/۴ ^c	۱۹/۵±۲/۷ ^{dc}
باگاس	۱۰/۶±۱/۲ ^d	۷/۰۶±۰/۰۴ ^c	۱۱/۷±۱/۳ ^c	۹/۰±۱/۶ ^c	۱۲/۷±۱/۳ ^b	۳۵/۵±۵/۴ ^b	۱۶/۱±۴/۰ ^d

میانگین های دارای حروف غیر مشابه در ستون، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد دارند (آزمون دانکن).

بی هوایی شکمبه گذشته از سویه قارچ و نوع خوارک، توانایی زیادی برای هضم نشاسته دارند. هضم ماده خشک گیاه بیونجه در پژوهش ویندهام و اکین (۲۵)، پس از رشد قارچ های شکمبه به مدت هفت روز، بین ۱۹/۲٪ تا ۲۱/۶٪ گزارش شد. در این پژوهش کاهش ماده خشک بیونجه بیش از پژوهش ویندهام و اکین (۲۵) بود، که این شاید به علت اختلاف در نوع واریته و مدت زمان رشد قارچ و مرحله رویشی گیاه است.

باگاس نسبت به دیگر مواد خوراکی مورد بررسی، کمترین مقدار کاهش ماده خشک را داشت (جدول ۴). به دلیل زیاد بودن لیگنین باگاس، قابلیت هضم آن کم است (۲۱ و ۲۴).

تغییرات pH در محیط کشت

کاهش pH محیط کشت با طولانی شدن زمان کشت (جداول ۲، ۳ و ۴)، با گزارش مک آلیستر و همکاران (۱۸) و رضائیان (۲۲) هم خوانی دارد. تغییر در pH محیط کشت یکی از نشانه های رشد قارچ است. تولید اسیدهای چرب فرار، دی اکسید کربن و تولید گاز هیدروژن می تواند باعث کاهش pH محیط کشت گردد (۱۸).

کاهش دیواره سلولی (NDF)

نتایج مندرج در جداول ۲، ۳ و ۴ گویای کاهش و تجزیه دیواره

مقدار را بیونجه و کمترین مقدار را باگاس داشت. بین سبوس گندم و بیونجه اختلاف معنی داری وجود نداشت (جدول ۴). بیونجه و سبوس گندم بیشترین مقدار کاهش ماده خشک را در مدت ۹ روز کشت با قارچ های بی هوایی شکمبه دارا بودند (جدول ۴). زیاد بودن مقدار پروتئین و کربوهیدرات های غیر ساختمانی و ترشح انواع آنزیم های تجزیه کننده پروتئین و نشاسته به وسیله قارچ های بی هوایی شکمبه می تواند عامل هضم و تجزیه بیشتر ماده خشک این مواد خوارک باشد (۱۸ و ۲۱). در محیط کشت دارای بیونجه، به علت وجود محتویات سلولی زیاد و کربوهیدرات های ساختمانی و لیگنین کم (جدول ۱)، آنزیم های آمیلولیتیک و پروتئاز تولید شده از قارچ های بی هوایی شکمبه تأثیر بیشتری داشته، در نتیجه باعث کاهش ماده خشک بیونجه می گردد. گفته شده است که قارچ ها در ماتریکس پروتئین نفوذ کرده و آنزیم پروتئاز ترشح می کنند (۲۱). فعالیت پروتئولیتیک در گونه *Neocallimastix frontalis* روی سوبسترا بررسی و ترشح آنزیم تجزیه کننده پروتئین به وسیله این قارچ تأیید شده است (۲۱). اگر چه هضم ماتریکس پروتئین به نوع گیاه و نوع قارچ بستگی دارد، قارچ های شکمبه قادر به تجزیه پروتئین به اسیدهای آمینه و تجزیه اسیدهای آمینه هستند (۲۱).

مک آلیستر و همکاران (۱۸) نشان دادند که قارچ های

همکاران (۸) بیان کردند که موجودات در محیط بی‌هوای قادر به تجزیه لیگنین نبوده و برای تجزیه لیگنین به وجود اکسیژن نیاز است. لیگنین معمولاً یک ماده غیر قابل هضم تلقی می‌شود، ولی برخی آزمایش‌هایی که در این زمینه انجام شده نشان می‌دهد که گاهی لیگنین به مقدار کم تجزیه می‌شود (۲۲). اکین و ریگسبی (۴) کاہش لیگنین را در نوعی از غلات از ۵ تا ۲۰ درصد گزارش کردند. تخمیر بی‌هوای مونومرات فنولیک در آزمایشگاه به وسیله پژوهندگان مختلف گزارش شده است (۷).

گردن و فلیپس (۱۲) در پژوهش خود هیچ کاہشی در لیگنین ندیدند. در این زمینه برخی از پژوهندگان گزارش کردند که روش استفاده از اسید سولفوریک ۷۲٪ برای اندازه‌گیری کاہش لیگنین روش مناسبی نیست، و باستی از روش‌های لیگنین نشان‌دار (C^4) و تولیدات نهایی حاصل از تجزیه لیگنین در اندازه‌گیری این ماده استفاده کرد. فرایند تجزیه لیگنین در محیط کشت به وسیله قارچ‌های بی‌هوای شکمبه متأثر از گونه و شرایط رشد قارچ، ترکیب ساختمانی و زمان تخمیر است (۴، ۱۳ و ۲۱).

اختلاف در تجزیه و کاہش لیگنین در خوارک‌های مورد بررسی (جدول ۲، ۳ و ۴) احتمالاً به علت وجود انواع لیگنین می‌باشد (۳). لیگنین از نظر نوع بسیار متفاوت است، و انواع مختلف لیگنین در گونه‌های مختلف گیاه موجود بوده، حتی در یک گونه گیاه هم انواع متعددی از لیگنین ممکن است وجود داشته باشد (۳). مولکول لیگنین از یک پلیمر بسیار پیچیده تشکیل شده که ماهیت و موقعیت‌های مونومرهای آن ثابت نیستند (۳).

به رغم یافته‌های فوق و نتایج حاصل از این پژوهش در باره کاہش مقدار لیگنین در انواع خوارک‌های مورد استفاده پس از رشد قارچ‌های بی‌هوایی، با توجه به این که برخی از پژوهندگان وجود اکسیژن را برای تجزیه لیگنین ضروری می‌دانند (۸)، و نیز اشکالاتی در روش اسید سولفوریک ۷۲٪ وجود دارد (۱۳)، نمی‌توان به طور حتم کاہش مذکور را به معنی تجزیه لیگنین تلقی کرد، و پژوهش‌های بیشتری برای

سلولی (NDF) در طول مدت ۳، ۶ و ۹ روز کشت قارچ بی‌هوایی شکمبه است، که با گزارش‌های پژوهندگان دیگر هم خوانی دارد (۴ و ۲۲).

یونجه و سبوس گندم دارای بیشترین مقدار کاہش NDF در طول مدت ۹ روز کشت قارچ بودند. با توجه به مقدار کم لیگنین در یونجه و سبوس گندم (جدول ۴)، انتظار می‌رفت که کاہش مقدار NDF چشم‌گیر باشد، زیرا لیگنین یک عامل بازدارنده در هضم و کاہش دیواره سلولی است (۴).

دیواره سلولی بدون همی‌سلولز (ADF)

نتایج جدول ۴ نشان می‌دهد که به طور کلی ADF به وسیله قارچ‌های بی‌هوایی شکمبه تجزیه شده و مقدار آن کاہش یافته است. بیشترین مقدار تجزیه ADF از آن یونجه است. در این پژوهش مشخص شد که درصد لیگنین یونجه کم است؛ در نتیجه احتمال تجزیه بیشتر ADF نسبت به سایر خوارک‌ها داده می‌شود (۲۴).

کاہش لیگنین

در مدت ۹ روز کشت قارچ‌های بی‌هوایی شکمبه در کلیه سوبستراهای مورد بررسی کاہش مقدار لیگنین وجود داشت (جدول ۴).

أربین (۲۱) بیان کرد که حدود ۱۶٪ از لیگنین خوارک در اثر رشد قارچ‌های بی‌هوایی شکمبه کاہش یافت. ون سوست (۲۴) گزارش کرد که در استفاده از لیگنین به عنوان مارکر داخلی برای استفاده در تعیین قابلیت هضم باستی احتیاط کرد، چون مقداری از لیگنین در شکمبه هضم می‌شود. همچنین، بیان کرده‌اند که امکان دارد لیگنین به مواد دیگری تبدیل شود (۷). برخی از پژوهندگان گزارش کرده‌اند که باکتری‌های بی‌هوایی می‌توانند لیگنین را در دستگاه گوارش به مونومرهای فنولیک و الیگومر تبدیل، و بعد از جذب به CO_2 تبدیل کنند (۷ و ۱۳). اکین و ریگسبی (۴) گزارش کردند که قارچ‌های بی‌هوایی احتمالاً توانایی تجزیه ترکیبات فنولیک را ندارند. چسون و

هضم همی سلولز بیش از هضم سلولز است (۴). با توجه به جداول ۲، ۳ و ۴، مشخص می گردد که سوبستراهای مختلف از نظر تجزیه همی سلولز با هم اختلاف معنی دار دارند ($P < 0.05$). در این زمینه گزارش شده است که فاکتورهای ذاتی مختلفی بر هضم گریلان تأثیر می گذارند، که مهم ترین آنها فاکتورهای ذاتی مواد علوفه ای، از جمله چگونگی ارتباط گزیلان - سلولز، گزیلان - لیگنین و گزیلان - استیل است (۹ و ۱۲). این تنوع ممکن است حتی در قسمت های مختلف گیاه و مرحله رشد گیاه وجود داشته باشد. مهم ترین فاکتوری که در این مورد تأثیر دارد باند لیگنین با گزیلان است. در این آزمایش نیز مشخص شده که مقدار لیگنین کنجاله پنهانه زیاد بوده (جدول ۱)، در نتیجه تجزیه همی سلولز در این خوراک کمترین مقدار را در مدت ۹ روز داشت (۱۴).

کاهش سلولز

در این پژوهش مشخص گردید که قارچ های بی هوازی شکمبه می توانند سلولز سوبستراهای مختلف را تجزیه کنند. یافته های پژوهندگان دیگر نیز این موضوع را تأیید می کنند (۲، ۲۱ و ۲۴). قارچ های بی هوازی شکمبه را روی سلولز خالص کشت دادند و کاهش سلولز خالص را در محیط کشت مشاهده کردند (۲۱). کمترین مقدار کاهش سلولز در مدت ۹ روز مربوط به کنجاله پنهانه بود (جدول ۴). برابر جدول ۱، مشخص شد که مقدار لیگنین عامل بازدارنده در هضم و کاهش سلولز است (۲۴). در این پژوهش، در مجموع بین سوبستراهای مختلف، از نظر تجزیه و کاهش سلولز در مدت ۳، ۶ و ۹ روز اختلاف وجود داشت (جدوال ۲، ۳ و ۴). این اختلافات می توانند ناشی از مقدار سلولز خوراک های مختلف، مقدار لیگنین، نوع باند لیگنین - پلی ساکارید، مقادیر اسید p - کوماریک و اسید فریولیک باشد (۷).

مشاهدات زیر میکروسکپ نوری، رشد قارچ های بی هوازی شکمبه روی انواع خوراک های دام مورد آزمایش را تأیید می کند. داده ها و یافته های حاصله کویای توئایی قارچ های

مشخص شدن این موضوع مورد نیاز است.

کاهش همی سلولز

در مدت سه روز کشت قارچ بی هوازی شکمبه، بین باگاس، سیلوی ذرت و کنجاله پنهانه اختلاف معنی داری وجود نداشت ($P > 0.05$). در مدت ۶ و ۹ روز کشت قارچ بی هوازی شکمبه گوسفند، برابر جدول ۳، بیشترین مقدار کاهش همی سلولز را یونجه داشت.

همی سلولز همراه با سلولز نزدیک به آن در دیواره سلولی گیاه وجود دارد، ولی به صورت کووالانسی به آن متصل نمی شود، و پیوند آنها از نوع هیدروژنی است (۱۴ و ۱۷). تجزیه همی سلولز در این آزمایش از ۱۶٪ تا ۶۵٪ در خوراک های مختلف متفاوت بود. در حیوانات نشخوار کننده در حدود ۵۰٪ از گزیلان جیره تجزیه می شود (۲۱). پژوهندگان دیگر نیز گزارش کردند که قارچ های بی هوازی موجود در دستگاه گوارش نشخوار کنندگان و غیر نشخوار کنندگان نقش مهمی در هضم سلولز و همی سلولز دارند (۲۱ و ۲۵).

در پژوهش گاوانده و کامت (۱۲) سه سوبسترای سبوس گندم، باگاس نیشکر و کاه برج آزمایش شد. نتایج نشان داد که تجزیه و تبدیل همی سلولز سبوس گندم به وسیله قارچ های بی هوازی شکمبه نسبت به خوراک دیگر پس از ۷۰ ساعت انکوباسیون بیشتر است، که این می تواند به دلیل مقدار لیگنین کم در سبوس گندم، در مقایسه با سوبستراهای دیگر باشد. با توجه به جدول ۱ گزارش فوق، مشخص شده که سبوس بیشترین درصد همی سلولز و کمترین درصد لیگنین را دارد. جداول ۱ و ۴ این آزمایش نشان می دهد که هرچند مقدار درصد تجزیه همی سلولز در سبوس گندم بیشتر از یونجه مقدار همی سلولز تجزیه شده در سبوس گندم بیشتر از یونجه می باشد.

برابر جدول ۴، تجزیه و کاهش همی سلولز در بیشتر خوراک ها در مدت ۹ روز کشت قارچ بیشتر از سلولز بود. پژوهندگان گزارش کرده اند که در مواد گیاهی غیر لیگنینی

سپاسگزاری

بدین وسیله از گروه تغذیه و اصلاح نژاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران که امکانات آزمایشگاهی را فراهم کردند، و از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس که در تأمین اعتبار لازم برای انجام این پژوهش همکاری لازم را مبذول داشته‌اند، و همچنین از همکاری آقایان دکتر قمری در فیستول گذاری گوسفند و مهندس پورمحمدی کارشناس آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی در کمک به انجام آزمایش‌های تجزیه خوراک سپاسگزاری می‌شود.

بی‌هوایی شکمبه گوسفند در تجزیه و کاهش ماده خشک، NDF با همی‌سلولز و سلولز در انواع خوراک‌های مورد آزمایش است. حتی به رغم یافته‌ها و نتایج این پژوهش در باره کاهش مقدار لیگنین، با توجه به این که برخی از پژوهندگان وجود اکسیژن را برای تجزیه ضروری می‌دانند، نمی‌توان به طور یقین کاهش مزبور را به معنی تجزیه لیگنین دانست. نتایج نشان ADF و NDF می‌دهد که بیشترین تجزیه و کاهش ماده خشک، pH و سلولز را یونجه در مدت ۹ روز پس از کشت قارچ داشته است. pH محیط کشت از زمان ۳ تا ۹ روز کاهش یافت.

منابع مورد استفاده

۱. قورچی، ت.، م. رضائیان، ش. رحیمی و غ. قربانی. ۱۳۸۰. تجزیه ماده خشک و مواد فیبری کاه غلات توسط قارچ‌های بی‌هوایی شکمبه. مجله دامپزشکی ۵۶(۱): ۱-۶.
۲. قورچی، ت.، ش. رحیمی، م. رضائیان و غ. قربانی. ۱۳۸۱. تولید آنزیم زایلاناز بر روی ده نوع خوراک توسط قارچ‌های بی‌هوایی شکمبه. علوم کشاورزی و منابع طبیعی ۹(۲): ۱۷۹-۱۹۱.
3. Abreu, H., S. A. M. Nascimento and M. A. Maria. 1999. Lignin structure and wood properties . Wood and Fiber Sci. 31: 433-462.
4. Akin, D. E. and L. L. Rigsby. 1987. Mixed fungal population and lignocellulosic tissue degradation in the bovine rumen . Appl. Environ. Microbiol. 53: 1987-1995.
5. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th Ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington D. C., USA.
6. Bauchop, T. 1979. Rumen anaerobic fungi of cattle and sheep. Appl. Environ. Microbiol. 38: 148-158.
7. Borneman, W. S., R. D. Hartley, W. H. Morrison, D. E. Akin and L. Lijundahi. 1990. Feruloyl and P-coumaroyl esterase from anaerobic fungi in relation to plant cell wall degradation. Appl. Environ. Microbiol. 56: 345-353.
8. Chesson, A., C. S. Stewart and R. J. Wallace. 1982. Influence of plant phenolic acids on growth and cellulolytic activity of rumen bacteria . Appl. Environ. Microbiol. 44: 597-603.
9. Dahiya, D. S., N. S. Mann, V. K. Khatta and N. Kumer. 1999. Effect of fungal treatment on the quality of cellulosic crop residues . Indian J. Dairy Sci. 52: 183-186.
10. Davis, D. R., M. K. Theodorou, M. I. G. Lawrence and A. P. J. Trinci. 1993. Distribution of anaerobic fungi in the digestive tract of cattle and their survival in faeces. J. General Microbiol. 139: 1395-1400.
11. Fonty, G. M. Chavarot, J. Lepetit and R. Favier. 1999. Mechanical resistance of wheat straw after incubation in cultures of ruminal cellulolytic microorganisms. Anim. Feed Sci. Technol. 80: 297-307.
12. Gawande, P. V. and M. Y. Kamat. 1999. Production of *Aspergillus xylanase* by lignocellulosic waste fermentation and its application. J. Appl. Microbiol. 87: 511-519.
13. Gordon, L. R. and M. W. Phillips. 1989. Degradation and utilization of cellulose and straw by three different anaerobic fungi from the ovine rumen. Appl. Environ. Microbiol. 55: 1703-1710.

14. Hespell, R. B. and T. R. Whitehead. 1990. Physiology and genetics of xylan degradation by gastrointestinal tract bacteria . *J. Dairy Sci.* 73: 3013–3022.
15. Ho, Y. W. and D. G. S. Barr. 1995. Classification of anaerobic gut fungi from herbivores with emphasis on the rumen fungi from Malaysia. *Mycologia* 87: 655–677.
16. Lee, S. S., J. K. Ha and K. J. Cheng. 2000. Influence of an anaerobic fungi culture administration on *In vivo* ruminal-fermentation and nutrient digestion. *Anim. Feed Sci. Technol.* 88: 201–217.
17. Matsui, H., K. Ushida, K. Miyazaki and L. Kojima. 1998. Use of ratio of digested xylan to digested cellulose (X/C) as an index of fiber digestion in plant cell-wall material by ruminal microorganisms . *Anim. Feed Sci. Technol.* 71: 207–215.
18. McAllister, T. A., Y. Dong, L. J. Yanke, H. D. Bae and K. G. Cheang. 1993. Cereal grain digestion by selected strains of ruminal fungi. *Can. J. Microbiol.* 39: 367–376.
19. McDonald, P., R. A. Edwards and J. F. D. Greenhalgh. 1995. Animal Nutrition. Longman Publishers, UK.
20. Orpin, C. G. 1975. Studies on the rumen flagellate *Neocallimastix frontalis* . *J. General Microbiol.* 91: 249–262.
21. Orpin, C. G. and K. N. Joblin. 1997. The rumen anaerobic fungi. PP. 129-151. In: P. N. Hobson and C. S. Stewart (Eds.), The Rumen Microbiology Ecosystem. Elsevier Science Publishers, Ltd., The Netherlands.
22. Rezaeian, M. 1996. Assessment and distribution of anaerobic fungi in the ruminant gut. Ph.D. Thesis, University of Newcastle.
23. Trinci, A. P. J., D. R. Davies, K. I. Lawrence, B. B. Nielsen, A. Rickers and M. K. Theodorou. 1994. Anaerobic fungi in herbivorous animals. *Mycolog. Res.* 98: 129–152.
24. Van Soest, P. J. 1996. Nutritional Ecology of the Ruminant. O & B Books, Inc., Corvallis, OR.
25. Windham, W. R. and D. E. Akin. 1984. Rumen fungi and forage fiber degradation. *Appl. Environ. Microbiol.* 48: 473–476.