

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

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

چکیده

برای بررسی توان قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه در تجزیه ماده خشک و الیاف، از یونجه، سبوس گندم، کنجاله پنبه‌دانه، باگاس و سیلوی ذرت برای کشت قارچ‌های بی‌هوازی 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 تغییرات تجزیه ماده خشک، pH، دیواره سلولی (NDF)، دیواره سلولی بدون همی سلولز (ADF)، سلولز، همی سلولز و لیگنین (ADL) اندازه‌گیری شد.

در مدت ۹ روز کشت، کاهش ماده خشک از ۱۰/۶٪ 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 همی سلولز، همی سلولز و سلولز در یونجه و به ترتیب ۳۹٪، ۶۵/۶٪ و ۵۵/۶٪ بود. داده‌ها و اطلاعات حاصله بیانگر توانایی قارچ‌های شکمبه گوسفند در تجزیه و کاهش ماده خشک، دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی سلولز و سلولز در انواع خوراک‌های مورد استفاده است.

واژه‌های کلیدی: قارچ‌های بی‌هوازی، شکمبه، دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی سلولز، 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

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 ۱۹/۲٪ تا ۲۱/۶٪ بود. در پژوهش گاوآنده و کامت (۱۲) سه سوبسترای سبوس گندم، باگاس نیشکر و کاه برنج به کار رفت. نتایج نشان داد که تجزیه و تبدیل همی سلولز 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

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 خوراکی‌های دامی از نظر ترکیب شیمیایی و قابلیت هضم با هم تفاوت دارند (۱۹ و ۲۴)، 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 (NDF یا Neutral detergent fiber)، دیواره سلولی بدون همی سلولز (ADF یا Acid detergent fiber)، سلولز، همی سلولز و لیگنین (ADL یا Acid detergent lignin) یونجه، سبوس گندم، کنجاله پنبه‌دانه، باگاس و سیلوی ذرت طی ۳، ۶ 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 فیستول‌گذاری 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 \times g ۱۰۰۰)، عصاره مخمر، پپتون 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 خوراکی‌های مورد آزمایش در ظروف شیشه‌ای دربسته ریخته

زمان‌های ۳، ۶ و ۹ روز کشت قارچ‌های بی‌هوازی 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 (۱۶ 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 (۲ و ۲۴).

مقدار تجزیه و کاهش ماده خشک کنجاله پنبه‌دانه نسبت به دیگر خوراکی‌ها کم بود (جداول ۲، ۳ و ۴). جدول ۱ نشان می‌دهد که مقدار پروتئین و چربی خام کنجاله پنبه‌دانه از خوراکی‌های 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 گوسیپول است (۱۹)، که احتمالاً باعث کاهش تجزیه ماده خشک آن می‌شود.

مقدار کاهش ماده خشک پس از ۹ روز کشت با قارچ بی‌هوازی شکمبه از ۱۰/۶٪ تا ۲۹/۴٪ 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 محتویات شکمبه تلقیح شد و به مدت ۴۸ ساعت در آن 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 سوبستراهای مختلف استفاده شد.

خوراک‌های مورد استفاده عبارت بود از: یونجه، سبوس گندم، سیلوی ذرت، کنجاله پنبه‌دانه و باگاس نیشکر. از هر سوبسترا 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 همی سلولز و لیگنین با استفاده از دستگاه فیروتک و آن اندازه‌گیری شد (۵). همی سلولز از تفاوت NDF و ADF و سلولز از تفاوت ADF و ADL محاسبه شد.

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

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

که در آن، L درصد کاهش، W و Wt مقدار ماده خشک سوبسترا به ترتیب در آغاز و پایان تجزیه برحسب گرم، و P و Pt درصد ترکیبات NDF، ADF، لیگنین، همی سلولز 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

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

جدول ۲. درصد کاهش ماده خشک و ترکیبات الیافی و تغییرات pH انواع خوراک پس از ۳ روز رشد قارچ های بی هوازی شکمبه گوسفند

خوراک	صفات					
	ماده خشک	pH	دیواره سلولی	دیواره سلولی بدون همی سلولز	لیگنین	همی سلولز
یونجه	۱۹/۰ ± ۱/۷ ^b	۶/۷۰ ± ۰/۱۳ ^{ab}	۳۴/۸ ± ۲/۳ ^a	۸/۳ ± ۰/۹ ^{ab}	۸/۸ ± ۱/۱ ^a	۴۰/۵ ± ۴/۳ ^a
سبوس گندم	۲۱/۶ ± ۱/۱ ^a	۵/۲۰ ± ۰/۰۸ ^c	۲۹/۳ ± ۲/۷ ^b	۹/۸ ± ۱/۳ ^a	۱/۷ ± ۰/۸ ^b	۲۲/۳ ± ۱/۱ ^b
کنجاله پنبه دانه	۷/۶ ± ۱/۳ ^{dc}	۶/۶۶ ± ۰/۰۳ ^{ab}	۷/۳ ± ۱/۱ ^c	۵/۰ ± ۰/۳ ^c	۲/۱ ± ۰/۸ ^b	۱۱/۲ ± ۱/۱ ^c
سیلوی ذرت	۱۴/۸ ± ۱/۵ ^c	۶/۹۶ ± ۰/۳۰ ^a	۴/۲ ± ۲/۷ ^{cd}	۲/۶ ± ۰/۸ ^d	۱/۲ ± ۰/۶۴ ^b	۱۵/۶ ± ۰/۷ ^c
باگاس	۵/۳ ± ۰/۷ ^e	۶/۵۰ ± ۰/۱۳ ^b	۴/۰ ± ۰/۰۸ ^{cd}	۲/۶ ± ۰/۳ ^d	۸/۰ ± ۰/۵۳ ^a	۱۳/۶ ± ۱ ^c

میانگین های 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 قارچ های بی هوازی شکمبه گوسفند

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

میانگین های 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 خوراکی پس از ۹ روز رشد قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه گوسفند

خوراک	صفات		دیواره سلولی			
	ماده خشک	pH	دیواره سلولی	بدون همی سلولز	لیگنین	همی سلولز
یونجه	۲۹/۴±۳/۶ ^a	۶/۴۱±۰/۰۱ ^a	۴۸/۷±۴/۰ ^a	۳۹/۰±۴/۴ ^a	۱۶/۳±۳/۴ ^a	۵۵/۶±۶/۰ ^a
سبوس گندم	۲۸/۰±۰/۶ ^{ab}	۴/۴۸±۰/۰۳ ^d	۳۸/۴±۰/۰۸ ^b	۲۸/۴±۰/۱ ^b	۶/۹±۱/۱ ^c	۲۶/۵±۰/۱ ^b
کنجاله پنبه‌دانه	۱۸/۰±۱/۸ ^c	۶/۴۴±۰/۰۴ ^a	۲۳/۴±۴/۷ ^c	۱۲/۶±۱/۲ ^c	۱۲/۹±۱/۳ ^b	۱۵/۲±۲/۰ ^d
سیلوی ذرت	۱۸/۸±۱/۶ ^c	۶/۳۱±۰/۲۰ ^{ab}	۱۸/۳±۲/۳ ^d	۱۱/۲±۰/۷ ^c	۱۳/۳±۱/۱ ^b	۱۹/۵±۲/۷ ^{dc}
باگاس	۱۰/۶±۱/۲ ^d	۶/۰۶±۰/۰۴ ^c	۱۱/۷±۱/۳ ^c	۹/۰±۱/۶ ^c	۱۲/۷±۱/۳ ^b	۱۶/۱±۴/۰ ^d

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

بی‌هوازی شکمبه گذشته از سویه قارچ و نوع خوراک، توانایی زیادی برای هضم نشاسته دارند. هضم ماده خشک گیاه یونجه در پژوهش ویندهام و اکین (۲۵)، پس از رشد قارچ‌های شکمبه به مدت هفت روز، بین ۱۹/۲٪ تا ۲۱/۶٪ گزارش شد. در این پژوهش کاهش ماده خشک یونجه 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 (جدول ۲، ۳ و ۴)، با گزارش مک آلیستر و همکاران (۱۸) و رضائیان (۲۲) هم‌خوانی دارد. تغییر در pH محیط کشت یکی از نشانه‌های رشد قارچ است. تولید اسیدهای چرب فرار، دی‌اکسید کربن و تولید گاز هیدروژن می‌تواند 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 یونجه و کمترین مقدار را باگاس داشت. بین سبوس گندم و یونجه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۴). یونجه و سبوس گندم بیشترین مقدار کاهش ماده خشک را در مدت ۹ روز کشت با قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه دارا بودند (جدول ۴). زیاد بودن مقدار پروتئین و کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی و ترشح انواع آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین و نشاسته به وسیله قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه می‌تواند عامل هضم و تجزیه بیشتر ماده خشک این مواد خوراک باشد (۱۸) و در محیط کشت دارای یونجه، به علت وجود محتویات سلولی زیاد و کربوهیدرات‌های ساختمانی و لیگنین کم (جدول ۱)، آنزیم‌های آمیلولیتیک و پروتئاز تولید شده از قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه تأثیر بیشتری داشته، در نتیجه باعث کاهش ماده خشک یونجه می‌گردند. گفته شده است که قارچ‌ها در ماتریکس پروتئین نفوذ کرده و آنزیم پروتئاز ترشح می‌کنند (۲۱). فعالیت پروتئولیتیک در گونه *Neocallimastix frontalis* روی سویسترا بررسی و ترشح آنزیم تجزیه‌کننده پروتئین به وسیله این قارچ تأیید شده است (۲۱). اگر چه هضم ماتریکس پروتئین به نوع گیاه و نوع قارچ بستگی دارد، قارچ‌های شکمبه قادر به تجزیه پروتئین به اسیدهای آمینه و تجزیه اسیدهای آمینه هستند (۲۱).

مک آلیستر و همکاران (۱۸) نشان دادند که قارچ‌های

همکاران (۸) بیان کردند که موجودات در محیط بی‌هوازی 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) کاهش لیگنین را در نوعی از غلات از ۵ تا ۲۰ درصد گزارش کردند. تخمیر بی‌هوازی مونومرای فنولیک در آزمایشگاه به وسیله پژوهندگان مختلف گزارش شده است (۷).

گوردن و فیلیپس (۱۳) در پژوهش خود هیچ کاهش‌ی در لیگنین ندیدند. در این زمینه برخی از پژوهندگان گزارش کردند که روش استفاده از اسید سولفوریک ۷۲٪ برای اندازه‌گیری کاهش لیگنین روش مناسبی نیست، و بایستی از روش‌های لیگنین نشان‌دار (C^{14}) و تولیدات نهایی حاصل از تجزیه لیگنین در اندازه‌گیری این ماده استفاده کرد. فرایند تجزیه لیگنین در محیط کشت به وسیله قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه متأثر از گونه و شرایط رشد قارچ، ترکیب ساختمانی و زمان تخمیر است (۴، ۱۳، ۱۴ و ۲۱).

اختلاف در تجزیه و کاهش لیگنین در خوراک‌های 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 کاهش مقدار لیگنین در انواع خوراک‌های مورد استفاده پس از رشد قارچ‌های بی‌هوازی، 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 کاهش مذکور را به معنی تجزیه لیگنین تلقی کرد، و پژوهش‌های بیشتری برای

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

یونجه و سبوس گندم دارای بیشترین مقدار کاهش 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 کاهش مقدار NDF چشم‌گیر باشد، زیرا لیگنین یک عامل بازدارنده در هضم و کاهش دیواره سلولی است (۴).

دیواره سلولی بدون همی سلولز (ADF)

نتایج جدول ۴ نشان می‌دهد که به طور کلی ADF به وسیله قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه تجزیه شده و مقدار آن کاهش 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 خوراک‌ها داده می‌شود (۲۴).

کاهش لیگنین

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

آرپین (۲۱) بیان کرد که حدود ۱۶٪ از لیگنین خوراک در اثر رشد قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه کاهش یافت. ون سوست (۲۴) گزارش کرد که در استفاده از لیگنین به عنوان مارکر داخلی برای استفاده در تعیین قابلیت هضم بایستی 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 بی‌هوازی 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 بی‌هوازی احتمالاً توانایی تجزیه ترکیبات فنولیک را ندارند. چسون و

مشخص شدن این موضوع مورد نیاز است.

کاهش همی سلولز

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

همی سلولز همراه با سلولز و نزدیک به آن در دیواره سلولی گیاه وجود دارد، ولی به صورت کووالانسی به آن متصل نمی‌شود، و پیوند آنها از نوع هیدروژنی است (۱۴ و ۱۷).

تجزیه همی سلولز در این آزمایش از ۱۶٪ تا ۶۵/۷٪ در خوراک‌های مختلف متفاوت بود. در حیوانات نشخوار کننده در حدود ۵۰٪ از گزیلان جیره تجزیه می‌شود (۲۱). پژوهندگان دیگر نیز گزارش کردند که قارچ‌های بی‌هوازی 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 سویسترای سبوس گندم، باگاس نیشکر و کاه برنج آزمایش شد. نتایج نشان داد که تجزیه و تبدیل همی سلولز 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 در سبوس گندم، در مقایسه با سویستراهای 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 می‌دهد که هرچند مقدار درصد تجزیه همی سلولز در سبوس کمتر از یونجه است، ولی مقدار همی سلولز تجزیه شده در سبوس گندم بیشتر از یونجه می‌باشد.

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

هضم همی سلولز بیش از هضم سلولز است (۴). با توجه به جداول ۲، ۳ و ۴، مشخص می‌گردد که سویستراهای مختلف از نظر تجزیه همی سلولز با هم اختلاف معنی‌دار دارند ($P < 0.05$). در این زمینه گزارش شده است که فاکتورهای ذاتی مختلفی بر هضم گزیلان تأثیر می‌گذارند، که مهم‌ترین آنها فاکتورهای ذاتی مواد علوفه‌ای، از جمله چگونگی ارتباط گزیلان - سلولز، گزیلان - لیگنین و گزیلان - استیل است (۹ و ۱۲). این تنوع ممکن است حتی در قسمت‌های مختلف گیاه و مرحله رشد گیاه وجود داشته باشد. مهم‌ترین فاکتوری که در این مورد تأثیر دارد باند لیگنین با گزیلان است. در این آزمایش نیز مشخص شده که مقدار لیگنین کنجاله پنبه‌دانه 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 قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه می‌توانند سلولز سویستراهای مختلف را تجزیه کنند. یافته‌های پژوهندگان دیگر نیز این موضوع را تأیید می‌کند (۲، ۲۱ و ۲۴). قارچ‌های بی‌هوازی 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 پنبه‌دانه 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 سویستراهای مختلف، از نظر تجزیه و کاهش سلولز در مدت ۳، ۶ و ۹ روز اختلاف وجود داشت (جداول ۲، ۳ و ۴). این اختلافات می‌تواند ناشی از مقدار سلولز خوراک‌های مختلف، مقدار لیگنین، نوع باند لیگنین - پلی ساکارید، مقادیر اسید p - کوماریک و اسید فریولیک باشد (۷).

مشاهدات زیر میکروسکپ نوری، رشد قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه روی انواع خوراک‌های دام مورد آزمایش را تأیید می‌کند. داده‌ها و یافته‌های حاصله گویای توانایی قارچ‌های

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 قمصری در فیستول‌گذاری گوسفند و مهندس پورمحمدی کارشناس آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی در کمک به انجام آزمایش‌های تجزیه خوراک سپاسگزاری می‌شود.

بی‌هوازی شکمبه گوسفند در تجزیه و کاهش ماده خشک، ADF، NDF با همی سلولز و سلولز در انواع خوراکی‌های 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 می‌دهد که بیشترین تجزیه و کاهش ماده خشک، ADF، NDF 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 بی‌هوازی 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 بی‌هوازی 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* rumina-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.