تجزیه ماده خشک و مواد فیبری کاه غلات توسط قارچهای بی‌هوازی شکمبه

دکتر تقی قورچی[1] دکتر محمد رضائیان[2] دکتر شعبان رحیمی[1] دکتر غلامرضا قربانی[3]

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۱، ۶-۱، (۱۳۸۰)

به‌منظور بررسی توان قارچهای بی‌هوازی شکمبه در تجزیه ماده خشک و مواد فیبری از خوراکهای کاه برنج، کاه گندم، کاه جو، کاه گندم + اوره و کاه گندم + ملاس، استفاده گردید. قارچهای بی‌هوازی جداشده از شکمبه گوسفند به‌مدت ۰، ۳، ۶ و ۹ روز روی مواد خوراکی مذکور کشت داده شدند و تغییرات حاصله از نظر تجزیه ماده خشک، دیواره سلولی (NDF)، دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز، سلولز، همی‌سلولز و لیگنین (ADL) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که در مدت ۹ روز کشت قارچهای بی‌هوازی شکمبه گوسفند روی انواع کاه‌ها گستره کاهش ماده خشک از ۱۴/۶ تا ۲۳/۶ درصد و دیواره سلولی از ۱۸/۵ تا ۳۲/۷ درصد متفاوت بود که به‌ترتیب کمترین مقدار در کاه برنج و بیشترین مقدار در کاه گندم + اوره اندازه‌گیری شد. بیشترین مقدار کاهش دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز (ADF) و همچنین همی‌سلولز به‌ترتیب برابر ۲۷/۵ درصد و ۴۴ درصد مربوط به کاه گندم + اوره بود. کمترین مقدار درصد کاهش ADF (۸/۹ درصد)، ADL (۱۳/۳ درصد)، سلولز (۱۶ درصد) مربوط به کاه گندم و همی‌سلولز (۱۶ درصد) متعلق به کاه جو بود. در همه خوراکها، مقدار تجزیه ماده خشک و مواد فیبری تا روز ششم بیشترین مقدار و بعد روند افزایشی با سرعت کم تا روز نهم ادامه داشت. داده‌ها و اطلاعات حاصله بیانگر توانایی قارچهای شکمبه گوسفند در تجزیه و کاهش ماده خشک، دیواره سلولی، دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز، در انواع کاه غلات می‌باشد.

واژه‌های کلیدی : گوسفند، قارچهای بی‌هوازی، هضم فیبری، شکمبه.

زیادبودن دیواره سلولی در علوفه‌ها باعث محدودشدن قابلیت هضم و کاهش قابلیت استفاده از مواد مغذی توسط دام می‌گردد. با توجه به محدودیت منابع خوراک دام و وجود علوفه‌های فراوان در کشور، شناخت عواملی که باعث استفاده بهینه از مواد خشبی در تغذیه دام و به‌دست‌آوردن حداکثر بازده بیولوژیکی در تولیدات دامی گردد امری اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. نظر به اینکه در اکثر نقاط کشور زمینهای قابل کشت کمتری جهت تولید علوفه اختصاص می‌یابد، به ناچار تغذیه دام متکی به فرآورده‌های فرعی غلات می‌باشد. کاه‌های غلات جزء مواد خشبی با کیفیت پایین هستند که درصد قابلیت هضم آنها کمتر از ۵۵ درصد است (۲۳). تجزیه و هضم دیواره سلولی، فرآیند اصلی در هضم خوراک توسط نشخوارکنندگان بوده و تجزیه مواد خشبی شامل انواع کاه در شکمبه نتیجه مجموعه فرآیندهای میکروبی شامل باکتریها، تک‌یاخته‌ها، قارچهای بی‌هوازی و سایر عوامل می‌باشد (۱۶).

ارپین (۱۹۷۵) اولین بار ثابت کرد که بعضی از میکروارگانیسمهای موجود در شکمبه، برخلاف عقیده محققین قبلی که تصور می‌کردند جزء تک‌یاخته‌های تاژکدار هستند، در حقیقت زئوسپور قارچهای بی‌هوازی می‌باشند. قارچهای بی‌هوازی در همه نشخوارکنندگان وجود دارند، و چرخه زندگی آنها دو مرحله‌ای می‌باشد. در مرحله متحرک دارای زئوسپور بوده و مرحله رویشی با اتصال زئوسپور قارچ به ذرات گیاهی داخل شکمبه شروع و تا آزادشدن زئوسپورهای جدید از اسپورانژیوم ادامه می‌یابد (۱۸). اکثر محققین بر این عقیده‌اند که قارچهای بی‌هوازی شکمبه پتانسیل بسیار قوی و قابل توجهی جهت هضم فیبر گیاه دارا می‌باشند (۲۴، ۱۵، ۱۰، ۱).

قارچها توان نفوذ به دیواره سلولی گیاه را دارا می‌باشند که در آغاز ریسه‌های خود را وارد بافت گیاه نموده و سپس این ریسه‌ها حجیم شده و باعث متلاشی‌شدن بافتهای گیاهی می‌شود (۱۵). همچنین قارچها آنزیمهای سلولاز، گزیلاناز، آمیلاز، پروتئاز، پکتین‌آز و P-کوماریل استراز تولید می‌کنند (۱۹ و ۱۸). اکین و بنر (۱۹۸۸) نشان دادند که قارچهای بی‌هوازی شکمبه نقش مهمی را در تجزیه و نرم‌کردن بافتهای فیبری دارند و این امر برای نشخوارکنندگان حایز اهمیت است. رضائیان (۱۹۹۶) گزارش نمود که مقدار دیواره سلولی و ماده خشک کاه جو موقعی که قارچهای بی‌هوازی شکمبه روی آن رشد داده می‌شوند، کاهش می‌یابد.

از زمانی‌که قارچهای شکمبه کشف شده‌اند تحقیقات مختلفی در زمینه اکولوژی، فعالیتهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی آنها صورت گرفته است (۱۸). بررسیهای انجام‌شده تاکنون نشان داده که میزان کاهش ماده خشک انواع خوراکها هنگامی که از آنها به‌عنوان سوبسترا در محیط کشت قارچ استفاده می‌گردد متفاوت بوده و این کاهش از ۱۵ تا ۶۰ درصد گزارش گردیده است (۲۴، ۲۳، ۱۸، ۱۶، ۱۴، ۱۰). با این حال هنوز نقش دقیق و سهم آنها در فرآیند هضم در شکمبه ناشناخته می‌باشد. انواع کاه غلات از نظر ترکیبات شیمیایی و قابلیت هضم با هم تفاوت دارند (۲۲). در نتیجه امکان دارد قارچهای بی‌هوازی شکمبه در رابطه با تجزیه مواد فیبری هر ماده واکنش وعکس‌العملهای متفاوتی داشته باشند. در این تحقیق با توجه به اهمیت تجزیه مواد خشبی از پنج نوع کاه متفاوت به‌عنوان سوبسترا در محیط کشت قارچهای بی‌هوازی استفاده شد و تغییرات حاصله از نظر تجزیه ماده خشک، دیواره سلولی، دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز، سلولز، همی‌سلولز و لیگنین، آنها در طول مدت ۹ روز پس از رشد قارچهای بی‌هوازی اندازه‌گیری و سعی گردیده تا توانایی این گروه از میکروارگانیسمهای شکمبه در تجزیه مواد فیبری هر خوراک مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش کار

در این پژوهش از یک رأس گوسفند نر بالغ نژاد شال (متعلق به گله مؤسسه تحقیقاتی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران) استفاده شد. در طول مدت آزمایش، حیوان در قفس متابولیکی انفرادی در بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی نگهداری گردید. فیستول‌گذاری با روشهای معمول صورت گرفت. جیره روزانه مصرفی حیوان شامل یونجه (۱۱۰۰ گرم) و جو (۲۰۰ گرم) بود. جهت جداسازی قارچهای بی‌هوازی، نمونه‌برداری از محتویات شکمبه صورت گرفت و از این نمونه به‌عنوان منبع قارچ جهت تلقیح به محیط کشت استفاده گردید. محیط کشت قارچهای بی‌هوازی از اجزای ذیل تشکیل شده است : محلول نمکی شماره یک، محلول نمکی شماره دو، مایع صاف‌شده شکمبه (سانتریفوژ به مدت ۳۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰×g)، عصاره مخمر، پپتون تریپتیکاز، بی‌کربنات سدیم، محلول ریزازورین، ال سیستین هیدروکلراید. محیط کشت کاملاً بی‌هوازی بوده و در این تحقیق جهت حذف اکسیژن از محیط کشت، به مدت دو ساعت از گاز کربنیک استفاده شد. مقدار ۸۰ سی‌سی از محیط کشت همراه با ۱/۲ گرم از خوراکهای مورد آزمایش را در ظروف شیشه‌ای درب بسته ریخته و جهت استریل از اتوکلاو (با فشار ۱۵ اتمسفر، درجه حرارت ۱۲۱ سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه) استفاده شد.

به این محیط مقدار کمی نمونه گرفته شده از محتویات شکمبه تلقیح و به

۱) دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران - ایران.
۲) گروه آموزشی تغذیه و اصلاح نژاد دام دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۳) دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان - ایران.

جدول ۱ – ترکیبات شیمیایی انواع کاه بر حسب درصد

نوع خوراک	پروتئین خام[1]	چربی	دیواره سلولی	دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز	لیگنین	همی‌سلولز	سلولز
کاه گندم	۶/۱	۱/۲	۷۰/۷	۴۹/۵	۱۰/۱	۲۱/۲	۳۹/۴
کاه گندم + ملاس	۶/۸	۱/۳	۷۰/۷	۴۹/۵	۱۰/۱	۲۱/۲	۳۹/۴
کاه گندم + اوره	۹/۰	۱/۲	۷۰/۷	۴۹/۵	۱۰/۱	۲۱/۲	۳۹/۴
کاه جو	۲/۹	۱/۰	۷۵/۸	۴۴/۴	۱۱/۰	۳۱/۵	۳۳/۴
کاه برنج	۳/۷	۰/۷	۶۹/۲	۴۹/۹	۶/۱	۱۹/۳	۴۳/۹

۱) براساس ۱۰۰ درصد ماده خشک محاسبه شده است.

جدول ۲ – درصد کاهش ماده خشک، ترکیبات فیبری و pH محیط کشت پس از سه روز رشد قارچهای بی‌هوازی شکمبه گوسفند روی انواع کاه غلات

نوع خوراک	ماده خشک	pH	دیواره سلولی	دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز	لیگنین	همی‌سلولز	سلولز
کاه گندم	۱۰/۶[c]	۶/۶[ab]	۷/۷[c]	۱/۱[d]	۱/۵[c]	۱۵/۵[bc]	۴/۱[bc]
کاه گندم + ملاس	۱۴/۰[b]	۶/۵[b]	۸/۲[c]	۶/۶[b]	۱۳/۳[a]	۱۷/۷[b]	۸/۵[a]
کاه گندم + اوره	۲۰/۹[a]	۶/۶[ab]	۲۱/۷[a]	۸/۹[a]	۳/۷[c]	۲۲/۴[a]	۷/۷[ab]
کاه جو	۸/۲[cd]	۶/۶[ab]	۱۲/۶[b]	۳/۳[c]	۱۰/۱[b]	۶/۱[e]	۷/۰[ab]
کاه برنج	۸/۱[cd]	۶/۷[a]	۸/۴[c]	۷/۰[ab]	۸/۲[b]	۶/۵[e]	۵/۱[bc]

هر عدد میانگین سه تکرار است. در هر ستون اعدادی که حروف مشابه ندارند در سطح کمتر از ۵ درصد تفاوت معنی‌دار دارند.

مدت ۴۸ ساعت در گرمخانه ۳۹ درجه سانتیگراد قرار می‌گرفت. در طول این مدت قارچها در محیط کشت رشد می‌نمودند و تأیید رشد آنها با مشاهده مستقیم میکروسکوپ انجام می‌شد. از قارچهای جداشده به‌عنوان منبع، جهت رشد در محیطهای کشت با سوبستراهای مختلف استفاده گردید.

خوراکهای مورد استفاده عبارت‌اند از : کاه گندم، کاه گندم - ۱ درصد اوره، کاه گندم - ۵ درصد ملاس، کاه جو (از مزرعه مؤسسه تحقیقاتی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران) و ملاس (از کارخانه قند اصفهان)، کاه برنج (از مزارع اطراف اصفهان). ازهر سوبسترا به مقدار ۱/۲ گرم و به تعداد ۳ تکرار تهیه و برای مدت ۰، ۳، ۶ و ۹ روز کشت‌داده‌می‌شد. ترکیب‌شیمیایی‌هرماده‌خوراکی‌درجدول ۱ذکر شده است.

تغییرات pH محیط کشت به‌وسیله pH متر و میزان کاهش ماده خشک، دیواره سلولی، دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز و لیگنین موجود در نمونه‌ها را قبل و بعد از انکوباسیون جهت محاسبه میزان تجزیه هر قسمت توسط قارچهای بی‌هوازی شکمبه براساس روشهای معمول و با استفاده از دستگاه فیبرتیک اندازه‌گیری شد (۷). همی‌سلولز از اختلاف بین NDF و ADF و سلولز از اختلاف ADF و لیگنین محاسبه گردید.

درصد کاهش مقدار NDF، ADF، ADL، همی‌سلولز و سلولز با فرمول زیر محاسبه گردید (۶) :

$$U=(G0C0-GtCt)/G0C0\times 100$$

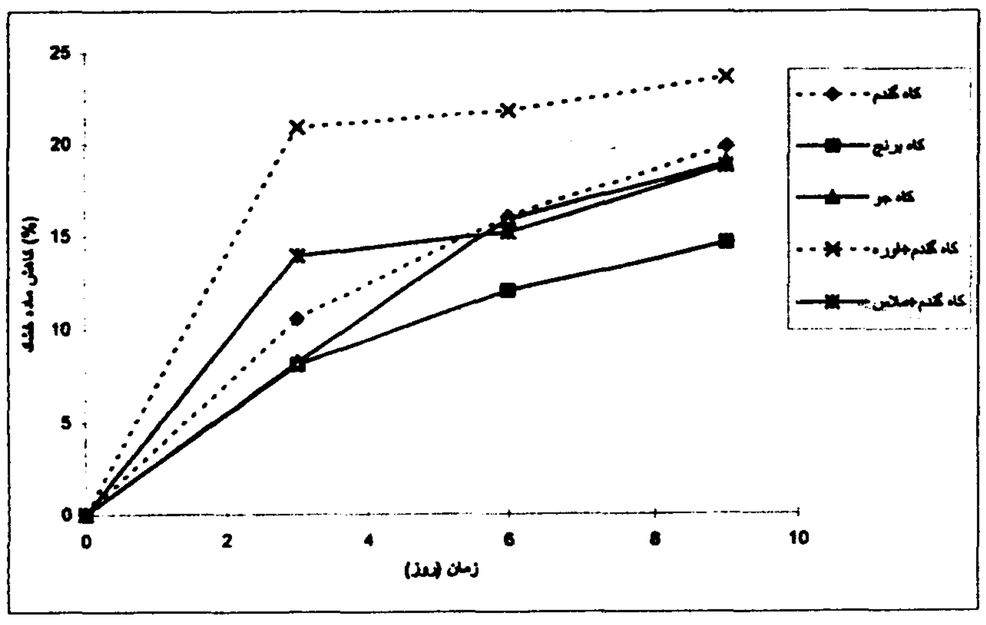
در اینجا G0 و Gt ماده خشک سوبسترا به‌ترتیب در ابتدا و انتهای تجزیه برحسب گرم و C0 و Ct درصد ترکیبات NDF و ADF لیگنین، همی‌سلولز و سلولز در ابتدا و انتهای تجزیه می‌باشد. اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS با کاربرد مدل آماری طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمون فاکتوریل ۴×۵ که به‌ترتیب زمان و خوراک می‌باشند در سه تکرار مورد تجزیه آماری قرار گرفت. مقایسه میانگینها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام پذیرفت. ترسیم نمودارها و محاسبات با استفاده از برنامه Excel انجام گرفت.

نتایج

میانگین ترکیبات شیمیایی پنج نوع‌کاه، مورد آزمایش در جدول ۱ ذکر شده است. در مشاهدات میکروسکوپیک نوری رشد قارچهای بی‌هوازی شکمبه برروی انواع خوراکهای مورد آزمایش تأیید و زئوسپورهای تک‌تاژکی و چندتاژکی، تالوس منوسنتریک و ریسه‌های افشان وغیرافشان، با اسپورانژیوفور تخم‌مرغی مشاهده شدند. این مشخصات نشان می‌دهد که اغلب قارچهای مشاهده شده در این تحقیق از جنسهای نئوکالیماستیکس (Neocallimastix) و پیرومایسز (Piromyces) بوده‌اند (۱۲).

به استناد جدول ۲ کاهش ماده خشک در مدت ۳ روز کشت قارچهای بی‌هوازی شکمبه گوسفند برروی انواع کاه از ۸/۱ تا ۲۰/۹ درصد متغیر بود که به‌ترتیب کمترین مقدار مربوط به کاه برنج و بیشترین مقدار در ارتباط با کاه گندم + اوره است. بر طبق جدول ۳ نتایج حاصله نشان می‌دهد که گستره کاهش ماده خشک در مدت ۶ روز از ۱۲ تا ۲۱/۸ درصد متغیر می‌باشد که در اینجا نیز کاه برنج کمترین مقدار وکاه گندم + اوره بیشترین مقدار را دارا بودند. نتایج ذکر شده در جدول ۴ نشان می‌دهد که پس از مدت ۹ روز کشت قارچ برروی انواع کاه مورد مطالعه کاه برنج (۱۴/۶ درصد) کمترین مقدار و کاه گندم + اوره (۲۳/۶ درصد) بیشترین مقدار کاهش ماده خشک را داشتند. براساس تجزیه و تحلیل آماری انجام شده در مدت ۹ روز کشت قارچ اختلاف معنی‌داری بین تجزیه کاه گندم + ملاس، کاه گندم و کاه جو در سطح ۵ درصد وجود نداشت ($P>0/05$). نمودار ۱ بیانگر این است که سرعت میزان کاهش ماده خشک در اکثر خوراکها پس از ۶ روز، کم شده و نمودار تقریباً حالت مسطح به خود گرفته است.

جداول ۲، ۳ و ۴ و نمودار ۲ نشان می‌دهد که pH محیط کشت از زمان صفر تا ۹ روز روند کاهشی دارد.



نمودار ۱ – میزان کاهش ماده خشک در طول مدت ۹ روز پس از رشد قارچهای بی‌هوازی شکمبه گوسفند روی انواع کاه غلات.

جدول ۳ – درصد کاهش ماده خشک، ترکیبات فیبری و pH محیط کشت پس از ۶ روز رشد قارچهای بی‌هوازی شکمبه گوسفند روی انواع کاه غلات

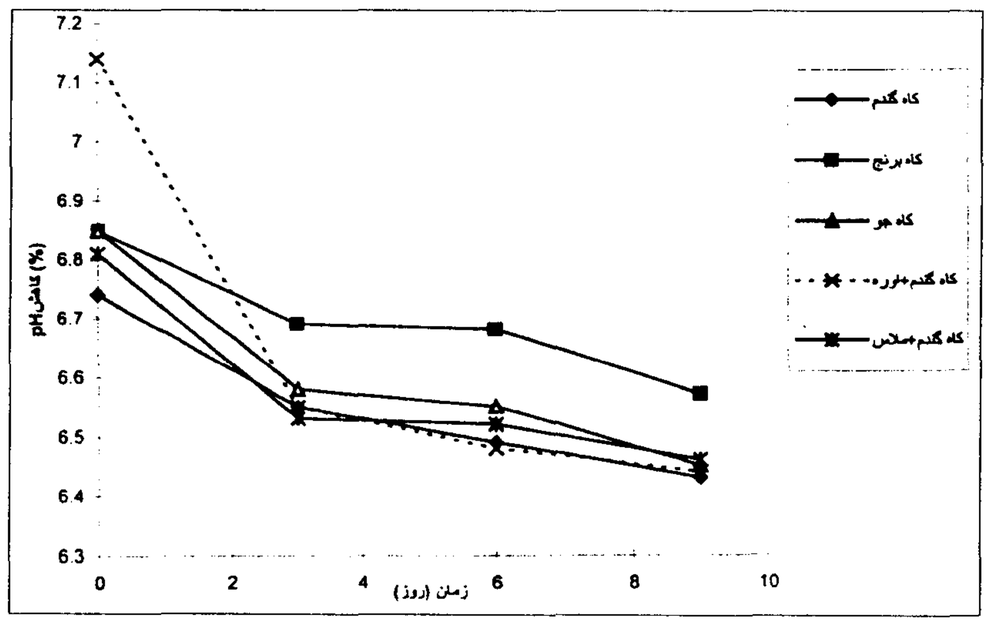
نوع خوراک	ماده خشک	pH	دیواره سلولی	دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز	لیگنین	همی‌سلولز	سلولز
کاه گندم	۱۶/۰^{b}	۶/۵^{b}	۲۰/۵^{b}	۸/۰^{c}	۱/۶^{d}	۳۴/۹^{b}	۱۴/۹^{c}
کاه گندم + ملاس	۱۵/۱۴^{b}	۶/۵^{b}	۲۰/۵^{b}	۱۳/۴^{b}	۱۳/۹^{c}	۳۵/۲^{b}	۱۷/۳^{b}
کاه گندم + اوره	۲۱/۸^{a}	۶/۵^{b}	۲۷/۳^{a}	۲۱/۳^{a}	۱۵/۸^{b}	۳۹/۷^{a}	۲۴/۹^{a}
کاه جو	۱۵/۹^{b}	۶/۶^{ab}	۲۶/۷^{a}	۲۲/۷^{a}	۱۹/۰^{a}	۱۲/۸^{d}	۲۵/۲^{a}
کاه برنج	۱۲/۰^{c}	۶/۷^{a}	۱۶/۸^{c}	۱۵/۶^{b}	۱۴/۵^{be}	۳۰/۹^{c}	۱۸/۱^{b}

جدول ۴ – درصد کاهش ماده خشک، ترکیبات فیبری و pH محیط کشت پس از ۹ روز رشد قارچهای بی‌هوازی شکمبه گوسفند روی انواع کاه غلات

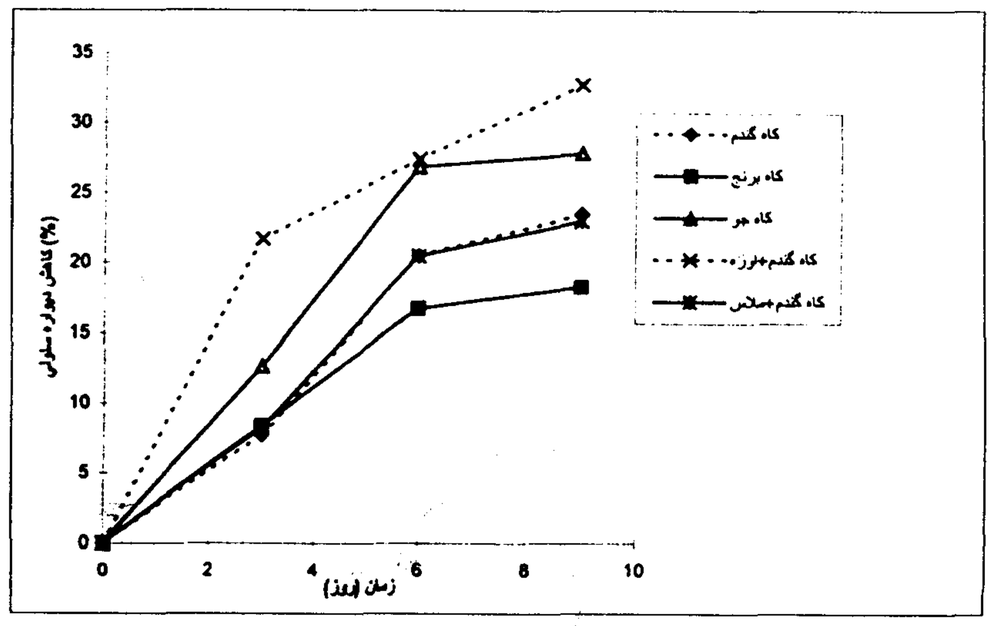
نوع خوراک	ماده خشک	pH	دیواره سلولی	دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز	لیگنین	همی‌سلولز	سلولز
کاه گندم	۱۹/۸^{b}	۶/۴^{b}	۲۳/۵^{ab}	۸/۹^{d}	۱۳/۳^{c}	۴۰/۹^{ab}	۱۶/۵^{d}
کاه گندم + ملاس	۱۸/۷^{b}	۶/۴^{b}	۲۳/۰^{bc}	۱۷/۶^{c}	۱۵/۲^{b}	۳۷/۸^{b}	۲۰/۳^{c}
کاه گندم + اوره	۲۳/۶^{a}	۶/۴^{b}	۳۲/۷^{a}	۲۷/۵^{a}	۱۷/۹^{b}	۴۴/۰^{a}	۲۹/۳^{b}
کاه جو	۱۸/۹^{b}	۶/۵^{ab}	۲۷/۸^{ab}	۲۵/۲^{ab}	۲۱/۰^{a}	۱۶/۰^{c}	۳۳/۰^{a}
کاه برنج	۴/۶^{c}	۶/۶^{a}	۱۸/۵^{cd}	۱۸/۲^{c}	۱۶/۸^{b}	۳۵/۸^{b}	۱۲۱/۶^{c}

نتایج جدول ۴ و نمودار ۳ نشان می‌دهد که مقدار کاهش دیواره سلولی در مدت ۹ روز کشت قارچ از ۱۸/۵ تا ۳۲/۷ درصد متغیر بود که به‌ترتیب کمترین مقدار مربوط به کاه برنج و بیشترین مقدار در ارتباط با کاه گندم + اوره می‌باشد.

جدول ۴ و نمودار ۴ نشان می‌دهد که مقدار کاهش دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز در مدت ۹ روز کشت قارچهای بی‌هوازی شکمبه بین ۸/۹ تا ۲۷/۵ درصد متغیر بود که به‌ترتیب کمترین مقدار مربوط به کاه گندم و بیشترین مقدار در ارتباط با کاه گندم + اوره می‌باشد.



نمودار ۲ – میزان کاهش pH در طول مدت ۹ روز پس از رشد قارچهای بی‌هوازی شکمبه گوسفند روی انواع کاه غلات.



نمودار ۳ – مقدار کاهش دیواره سلولی (NDF) در طول مدت ۹ روز پس از رشد قارچهای بی‌هوازی شکمبه گوسفند روی انواع کاه غلات.

نتایج جدول ۴ و نمودار ۵ نشان می‌دهد که کاهش مقدار لیگنین در مدت ۹ روز کشت قارچهای بی‌هوازی شکمبه گوسفند برروی انواع کاه از ۱۳/۳ درصد در کاه گندم و ۲۱ درصد در کاه جو متفاوت می‌باشد. مطابق با جدول ۴ بین کاه گندم + ملاس، کاه برنج، کاه گندم + اوره اختلاف معنی‌داری از نظر کاهش لیگنین وجود نداشت ($P>0/05$).

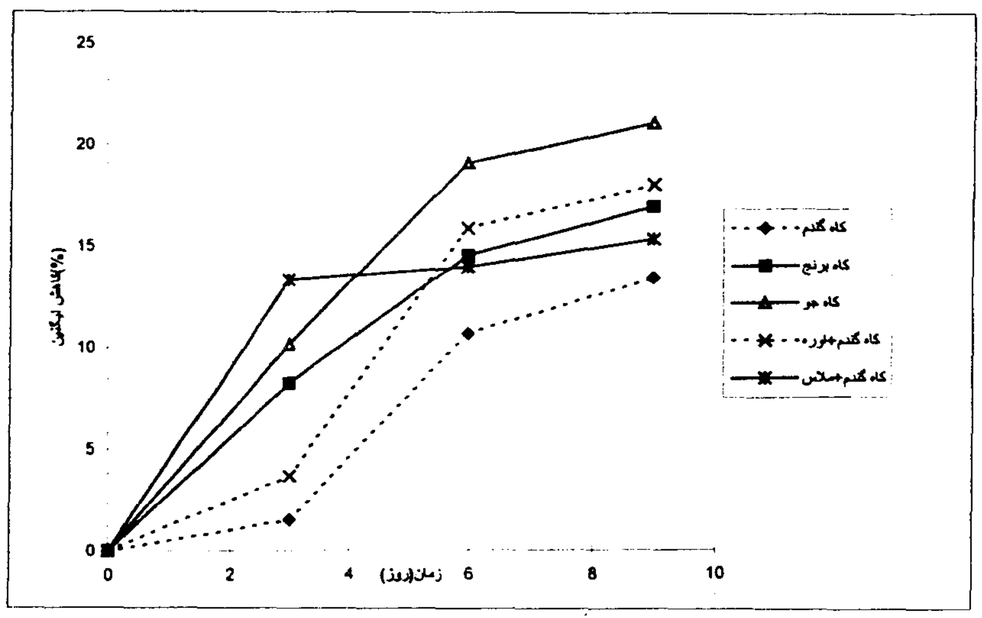
به استناد جدول ۴ کاهش همی‌سلولز در مدت ۹ روز کشت قارچ از ۱۶ تا ۴۴ درصد متغیر بود که به‌ترتیب کمترین مقدار مربوط به کاه جو و بیشترین مقدار در ارتباط با کاه گندم + اوره می‌باشد. براساس تجزیه و تحلیل آماری انجام‌شده، در مدت ۹ روز کشت قارچ بی‌هوازی شکمبه اختلاف معنی‌داری از نظر کاهش همی‌سلولز بین کاه برنج و کاه گندم وجود نداشت ($P>0/05$). نمودار ۶ نشان می‌دهد که روند کاهش همی‌سلولز از زمان صفر تا ۶ روز حالت افزایشی و سپس حالت افقی به خود گرفته است.

داده‌های حاصله در جدول ۴ نشان می‌دهد که مقدار کاهش سلولز در خوراکها بین ۱۶/۵ تا ۳۳ درصد متغیر بود که به‌ترتیب کمترین مقدار مربوط به کاه گندم و بیشترین مقدار در ارتباط با کاه جو می‌باشد. نمودار ۷ نشان می‌دهد که روند کاهش سلولز از زمان صفر تا روز ششم حالت افزایشی و سپس حالت افقی به خود گرفته است.

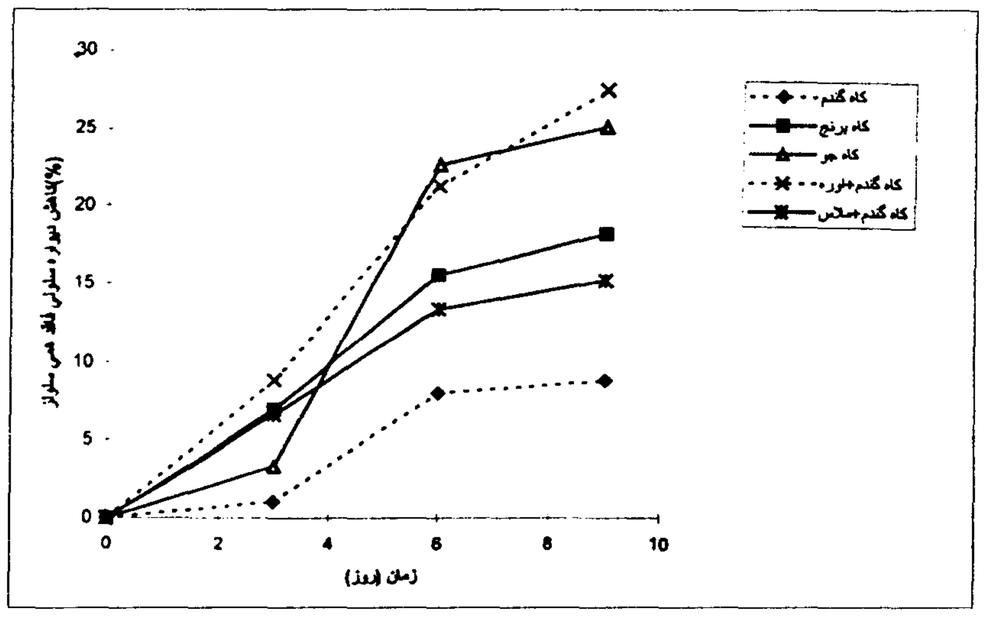
بحث

تجزیه ماده خشک و پلی‌ساکاریدهای مقاوم، بدون شک مهمترین واقعه در مراحل هضم است که در شکمبه اتفاق می‌افتد. هضم کربوهیدراتهای ساختمانی علاوه‌بر تأمین انرژی مورد لزوم حیوان باعث می‌شود مواد مغذی موجود در داخل سلولهای گیاهی که احتمال دارد دست نخورده باقی مانده و دفع شوند از درون سلولها خارج شده و تحت‌تأثیر آنزیمها قرار گیرند. میکروارگانیسمهای شکمبه عوامل اصلی این مرحله از هضم می‌باشند (۱۴).

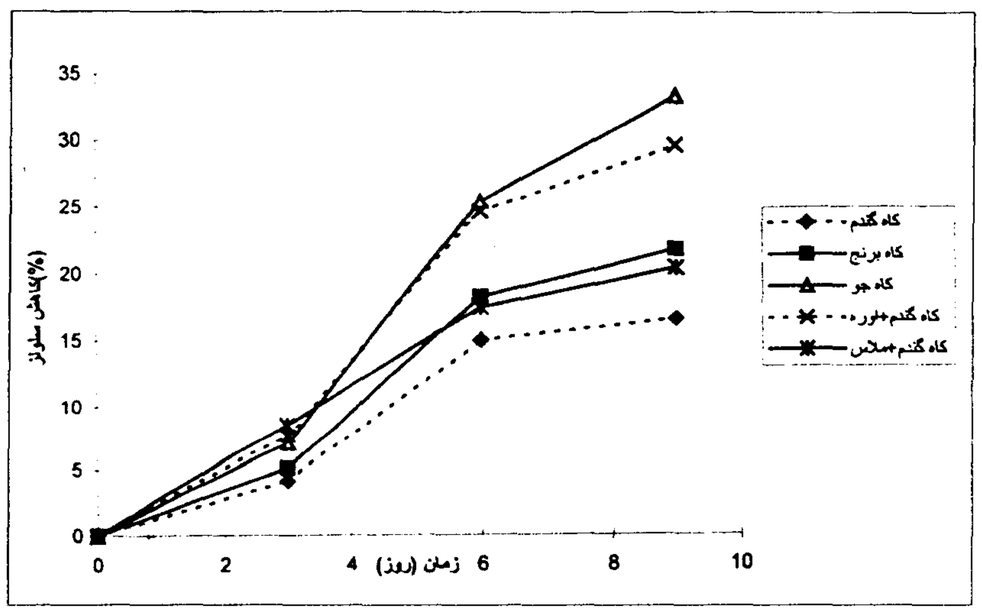
در این تحقیق نشان داده شد که ماده خشک انواع خوراکهای استفاده‌شده، مورد تجزیه قارچهای بی‌هوازی شکمبه قرار گرفتند (جداول ۲، ۳ و ۴). قارچهای بی‌هوازی قادرند نسبت بالایی از ماده خشک گیاهان را تجزیه نمایند. در کشت خالص قارچ ۴۰ تا ۴۵ درصد ماده خشک کاه گندم در عرض ۴ روز کاهش یافت (۱۷). همچنین گوردن و فیلیپس (۱۹۸۹) نشان دادند که مقدار



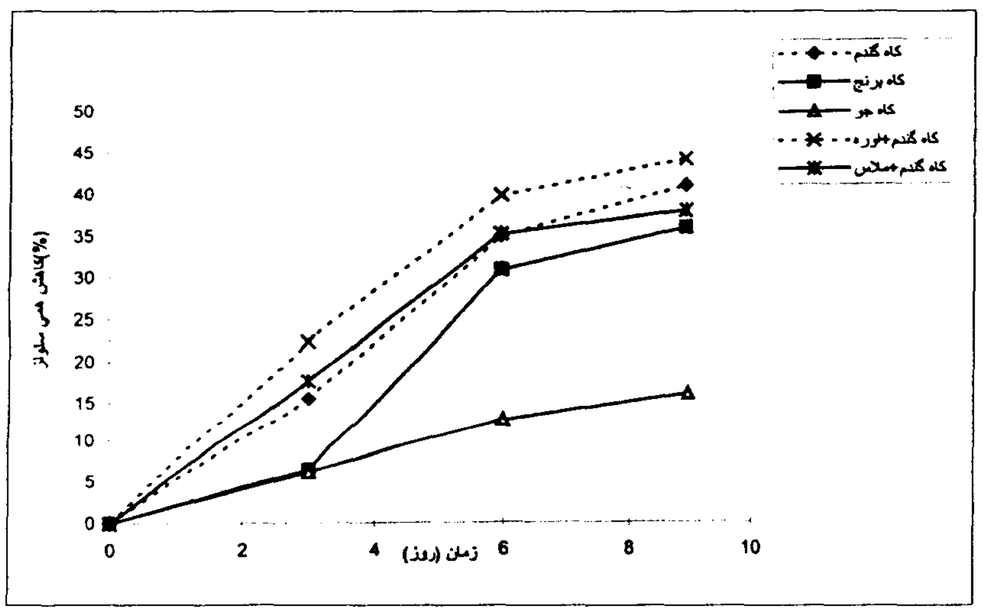
نمودار ۵ – میزان کاهش لیگنین در طول مدت ۹ روز پس از رشد قارچهای بی‌هوازی شکمبه گوسفند برروی انواع کاه غلات.



نمودار ۴ – مقدار کاهش دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز (ADF) در طول مدت ۹ روز پس از رشد قارچهای بی‌هوازی شکمبه گوسفند برروی انواع کاه غلات.



نمودار ۷ – میزان کاهش سلولز در طول مدت ۹ روز پس از رشد قارچهای بی‌هوازی شکمبه گوسفند برروی انواع کاه غلات.



نمودار ۶ – میزان کاهش همی‌سلولز در طول مدت ۹ روز پس از رشد قارچهای بی‌هوازی شکمبه گوسفند برروی انواع کاه غلات.

ماده خشک کاه تحت‌تأثیر قارچ نئوکالیماستیکس (Neocallimastix sp.) حدود ۴۰ درصد کاهش یافته است. این مقادیر بیشتر از نتایج به‌دست آمده در تحقیق ما می‌باشد. در نتایج به‌دست آمده از نظر کاهش ماده خشک کاه گندم اختلاف مشاهده می‌شود که احتمالاً این اختلاف مربوط به منبع مورد استفاده و همچنین گونه قارچهای مورد استفاده می‌باشد (۱۸ و ۹).

طبق جدول ۲ بیشترین مقدار کاهش ماده خشک در کاه گندم + اوره مشاهده گردید که در مقایسه با کاهش ماده خشک کاه گندم، کاه برنج، کاه جو و کاه گندم + ملاس از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد بین آنها وجود داشت. قارچهای شکمبه برای رشد احتیاج به ازت دارند و در تحقیقی بیان شده که قارچ نئوکالیماستیکس پاتریسیاروم (N. patriciaurm) نیاز به استفاده از آمونیاک به‌عنوان منبع ازت دارد (۱۷).

تجزیه ماده خشک کاه برنج نسبت به کاه‌های دیگر کمتر بود (جدول ۴). احتمالاً با توجه به سیلیس بالایی که این کاه دارد تجزیه و هضم آن توسط قارچ مشکل می‌باشد. معمولاً سیلیس با قابلیت هضم رابطه معکوسی دارد (۲۲).

رضائیان (۱۹۹۶) گزارش نمود که کاهش ماده خشک کاه جو تا روز سوم پس از کشت قارچ به ۲۱/۱ درصد و در روز دوازدهم به ۳۴/۸ درصد رسیده است. در این مطالعه در ششمین روز کشت قارچ سرعت کاهش ماده خشک در پنج نوع کاه مورد استفاده حداکثر بوده و از روز ششم تا نهم سرعت آن کاهش داشت (جداول ۳ و ۴). اختلاف موجود بین مقدار تجزیه ماده خشک کاه جو در این تحقیق با محققین دیگر احتمالاً به‌خاطر تأثیرشرایط محیطی و نوع واریته گیاه مورد آزمایش بوده است (۲۲).

نتایج حاصله از کاهش pH محیط کشت با طولانی‌شدن زمان کشت (جداول ۲، ۳ و ۴) با نتایج به‌دست آمده توسط مک‌آلیستر و همکاران (۱۹۹۳) و رضائیان (۱۹۹۶) مطابقت دارد. تغییرات در pH محیط کشت یکی از نشانه‌های رشد قارچها می‌باشد و تولید اسیدهای چرب فرار، دی‌اکسیدکربن و هیدروژن می‌تواند باعث کاهش pH محیط کشت گردد (۱۸ و ۱۵).

بین دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز کاه گندم + ملاس با کاه گندم اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۴). ملاس همراه با کاه گندم باعث افزایش قابلیت هضم دیواره سلولی بدون همی‌سلولز در مقایسه با کاه گندم بدون افزودن ملاس می‌شود (۲۲).

همی‌سلولز از ترکیبات اصلی (۳۵ درصد) مواد گیاهی می‌باشد که مخلوطی از هتروپلیمرهای مختلف از جمله، منوساکاریدها (گلوکز، گزیلوز، آرابینوز، گالاکتوز، رامنوز)، اسیدهای اورنیک، گالاکتورونیک و ۴-O- متیل گلوکورونیک تشکیل شده است (۲۲ و ۱۰). در حیوانات نشخوارکننده در حدود ۵۰ درصد از گزیلان جیره تجزیه می‌شود (۱۰). کاه گندم، کاه گندم + اوزه از نظر کاهش همی‌سلولز با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند (P>۰/۰۵). البته کاهش همی‌سلولز کاه گندم + اوره از نظر عددی بالاتر از کاه گندم و با کاه گندم + ملاس از نظر آماری اختلاف معنی‌دار داشت (P>۰/۰۵). این اختلاف احتمالاً به‌خاطر تأمین ازت توسط اوره برای قارچهای شکمبه جهت رشد و تجزیه بیشتر می‌باشد (۱۷).

مقدار لیگنین درکاه جو نسبت به کاه‌های دیگر بالاتر بود و جدول ۴ نشان

می‌دهد که کمترین مقدار تجزیه همی‌سلولز مربوط به این خوراک می‌باشد. این نتیجه با این نظر که لیگنین یک عامل منفی و بازدارنده جهت هضم و تجزیه همی‌سلولز می‌باشد (۲۲) مطابقت دارد.

در صورت توانایی قارچهای بی‌هوازی در تجزیه و استفاده از لیگنین اهمیت آنها برای حیوان بسیار مهم خواهد بود. کاهش لیگنین در این آزمایش بین ۱۳/۳ تا ۲۱ درصد اندازه‌گیری شد که این نتایج با یافته‌های محققین دیگر مطابقت می‌نماید (۱۸ و ۱۷). گوردن و فیلیپس (۱۹۸۹) در تحقیقاتشان هیچ کاهشی در رابطه با لیگنین مشاهده نکردند. در این رابطه تعدادی از محققین اعلام داشتند که روش استفاده از اسیدسولفوریک ۷۲ درصد جهت 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 گردد (۱۷ و ۱). توانایی تجزیه بافتهای لیگنین، بویژه تجزیه و ضعیف‌نمودن بافتهایی که مقاومت بیشتری داشته و نفوذ به سدهای کوتیکول علوفه‌ها خصوصیاتی می‌باشد که در قارچهای بی‌هوازی شکمبه بهتر از باکتریها می‌باشد (۱۴).

در آزمایش داهیا و همکاران (۱۹۹۹) مقدار کاهش لیگنین پس از رشد قارچها از ۸/۴ تا ۱۰/۸ درصد در کاه گندم متغیر بود. در این مطالعه مقدار کاهش لیگنین کاه گندم ۱۳/۳ درصد بود (جدول ۴). مقادیر درصد کاهش لیگنین در کاه برنج، کاه گندم + اوره و کاه گندم + ملاس با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند ($P>0/05$)، ولی با کاه گندم و کاه جو اختلاف معنی‌دار داشتند ($P>0/05$). با توجه به ترکیبات P-کوماریل و فریولویل در لیگنین که در اتصال با همی‌سلولز و سلولز می‌باشند، این اختلافات را بوجود می‌آورند وجود دو آنزیم P-کوماریل استراز و فریولویل استراز که پلهای استر P-کوماریل و فریولویل را می‌شکنند در قارچها منحصر به فرد می‌باشد. P-کوماریل استراز در محیط کشت قارچهای نئوکالیماستیکس و اورپینومایسز (Orpinomyces) یافت شده است، ولی این آنزیم در باکتریهای موجود در شکمبه شناخته نشده است (۱۶، ۱۵، ۱۰، ۲، ۱).

علی‌رغم یافته‌های فوق‌الذکر و نتایج حاصله از این پژوهش در رابطه با کاهش مقدار لیگنین در انواع کاه‌های مورد استفاده پس از رشد قارچهای بی‌هوازی با توجه به اینکه بعضی از محققین وجود اکسیژن را برای تجزیه لیگنین ضروری می‌دانند (۵)، لذا نمی‌توان کاهش مذکور را به معنی تجزیه لیگنین تلقی نمود و مطالعات بیشتری برای روشن‌نمودن این موضوع مورد نیاز می‌باشد.

نتایج حاصله نشان داد که تجزیه مواد فیبری و ماده خشک در کاه گندم + اوره بیشتر از سایر کاه‌های مورد مطالعه بود. حداکثر فعالیت قارچهای بی‌هوازی شکمبه جهت هضم و تجزیه انواع کاه در محیط کشت تا مدت ۶ روز بود و بعد از آن تغییر قابل ملاحظه‌ای در مقدار کاهش ماده خشک انواع کاه‌ها مشاهده نشد. کمترین مقدار کاهش ماده خشک در کاه برنج مشاهده شد و کمترین مقدار کاهش همی‌سلولز در کاه جو مشاهده گردید. pH محیط کشت از زمان صفر تا ۹ روز روند کاهشی داشت. داده‌ها و اطلاعات حاصله بیانگر توانایی قارچهای بی‌هوازی شکمبه گوسفند در تجزیه و کاهش ماده خشک، NDF، ADF، لیگنین، همی‌سلولز و سلولز در انواع کاه غلات می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از گروه تغذیه و اصلاح نژاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران جهت در اختیار قراردادن امکانات آزمایشگاهی 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 و مساعدت آقایان دکتر قمصری جهت فیستول‌گذاری گوسفند و آقای مهندس پورمحمدی کارشناس آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی در کمک به انجام آزمایشات تجزیه خوراک تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.

References

1. Akin, D.E. and Benner, R. Degradation of polysaccharides and lignin by ruminal bacteria and fungi. Applied and Environmental Microbiology, 54: 1117-1123, (1988).
2. Akin, D.E. and Rigsby, L.I. Mixed fungal population and lignocellulosic tissue degradation in the bovine rumen. Applied and Environmental Microbiology, 53: 1987-1995, (1987).
3. Bauchop, T. Rumen anaerobic fungi of cattle and sheep. Applied and Environmental Microbiology, 38: 148-158, (1979).
4. Cheng, K.J., Kudo, H., Duncan, S.H., Mesbah, A., Stewart, C.S., Bernalier, A. and Fonty, G. Prevetion of fungal colonization and digestion of cellulose by the addition of methycellulose. Canadian Journal of Microbiology, 37: 484-487, (1991).
5. Chesson, A. and Forsbery, C.W. Poly saccharide degradation rumen microorganisms. In: The rumen microbial ecosystem. (Hobson, P.N. ed.). Elsevier Publishing Co., Inc. London, (1988).
6. Dahiya, D.S., Mann, N.S., Khatta, V.K. and Kumer, N. Effect of fungal treatment on the quality of cellulosic crop residues. Indian Journal Dairy Science, 52: 183-186, (1999).
7. Fonty, G., Chavarot, M., Lepetit, J., Canistro, J. and Favier, R. Mechanical resistance of wheat straw after incubation in cultures of ruminal cellulytic microorganisms. Animal Feed Science and Technology. 80: 297-307, (1999).
8. Gawande, P.V. and Kamat, M.Y. Production of Aspergillus xylanansc by lignocellulosic waste fermentation and its application. Journal of Applied Microbiology, 87: 511-519, (1999).
9. Goering, H.K. and VanSoest, P.J. Forage fiber analyses (Apparatus, Reagent, Procedurers and some Applications). Agric. Handbook No: 379. ARS-USDA, Washington, D.C. (1975).
10. Gordon, G.L. and Philips, M.W. Degradation and utilization of cellulose and straw by three different anaerobic fungi from the ovine rumen. Applied and Environmental Microbiology, 55: 1703-1710, (1989).
11. Hespell, R.B. and Whitehead, T.R. Physiology and gentics of xylan degradation by gastrointestinal treat bacteria. Journal Dairy Science. 73: 3013-3022, (1990).
12. Ho, Y.W. and Barr, D.G.S. Classification of anaerobic gut fungi from herbivores with emphasis on the rumen fungi from Malysia. Mycologia, 87: 655-677, (1995).
13. Joblin, K.N. Isolation, enumeration and mainten of rumen anaerobic fungi in roll tubes. Applied and Environmental Microbiology, 42: 119-127, (1981).
14. Matsui, H., Ushida, K., Miyazaki, and Kojima, Y. 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. Animal Feed Science and Technology, 71: 207-215, (1998).

15. McAllister, T.A., Bae, H.D., Jone, G.A. and Cheng, K.G. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. Journal of Animal Sciences, 72: 3004-3018, (1994).

16. McAllister, T.A., Donge, Y., Yanke, I.J., Bae, H.D., Cheng, K.G. Cereal grain digestion by selected strains of ruminal fungi. Canadian Journal Microbial, 39: 367-376, (1993).

17. Orpin, C.G. Studies on the rumen flagellate Neocallimastix frontalis. Journal of General Microbiology. 91: 249-262, (1975).

18. Orpin, C.G. and Joblin, K.N. The rumen anaerobic fungi. In: The Rumen Microbial Ecosystem. (Ed. Hobson, P.N. and Stewart, C.S.). Elsevier Science Publishers LTD. pp: 129-151, (1997).

19. Rezaein, M. Assessment And Distribution Of Anaerobic Fungi In The Ruminant Gut. Ph.D Thesis, University Newcastle, (1996).

20. Richardson, A.J., Stewart, C.S. and Gooday, G.W. Attachment to cellulose and maturation of attached thalli in the anaerobic rumen fungus Neocallimastix frontalis strain RE1. Mycologia Research. 102: 1119-1125, (1998).

21. Samanta, K.A., Walli, T.K., Batish, V.K., Grover, S., Rajput, Y.S. and Mohanty, A.K. Anaerobic fungal population in the faeces of riverine buffalo and crossbred cattle. Indian Journal Dairy Science. 52: 114-116, (1999).

22. Trinci, A.P.J., Davies, D.R., Gull, K., Lawrcnce, M.I., Nielson, B.B., Riekers, A. and Theodorou, M.K. Anaerobic fungi in herbivorous animals. Mycological Research, 98: 129-152, (1994).

23. Van Soest, P.J. Nutritional Ecology of the Ruminant. O&B. Books. Inc. Corvallis. OR., (1996).

24. Windham, W.R. and Akin, D.E. Rumen fungi and forage fiber degradation. Applied and Environmental Microbiology, 48: 473-476, (1984).

Degradation of dry matter and fibric materials of cereals straw by rumen anaerobic fungi

Ghoorchi, T.[1], Rezaeian, M.[2], Raheimi, Sh.[3], Ghorbani, Gh.[4]

[1]*Graduated from the Animal Nutrition, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran - Iran.* [2]*Department of Animal Nutrition and Breeding, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.* [3]*Faculty of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran - Iran.* [4]*Faculty of Agriculture, Isfahan University Technology, Isfahan - Iran.*

The experiment was carried out to estimate the potential activityes of rumen anaerobic fungi in the degradation of dry matter and fiber materials of cereals straw. Sample of wheat straw, barley straw, wheat straw + urea, rice straw and wheat straw + molasses were used as the substrate to culture rumen fungi which isolated from a fistulated Shal sheep. Dry matter loss %(DML), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) and acid detergent lignin (ADL) of samples were measured after 0, 3, 6 and 9 days of incubation. Dry matter loss (DML) of substrutes were varied from 14.6% to 23.6% after 9 days of fungal growth in which the highest and the lowest DML were related to wheat straw+urea and rice straw respectively. The highest values for the NDF loss (32.7%) and hemicellulose loss (44%) were measured from wheat straw and for the cellulos loss (33%) from barley straw. The lowest percentages of ADF loss (8.9%), ADL loss (13.2%) and cellulose losses were related to wheat straw. Rice straw and barley straw were also showed the lowest amount for NDF (18.5%) and hemicellulose (16%) loss respectively. Dry matter loss and fiber degradation were increased sharply until 6 days after fungal inoculation and then continued slowly by 9th days in all of the cultures. The results indicated that rumen anaerobic fungi have the ability to degrade dry matter and its fiber materials from different types of cereal straw.

Key words : Sheep, Anaerobic fungi, Fiber digestion, Rumen.