

## مطالعه مقایسه‌ای قابلیت هضم پیت نیشکر عمل‌آوری شده با بخار آب تحت فشار توسط قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

فاطمه شاکرمی<sup>۱</sup>، مرتضی چاجی<sup>۲\*</sup>، موسی اسلامی<sup>۳</sup>، طاهره محمدآبادی<sup>۴</sup> و محمد بوجارپور<sup>۵</sup>

۱، ۲، ۳، ۴ و ۵. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار، دانشیار بازنشسته و استادیار،

دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۸/۲۷ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۱۰/۱۲)

### چکیده

این مطالعه به منظور مقایسه قابلیت هضم پیت نیشکر عمل‌آوری شده توسط قارچ‌ها و کل میکروارگانسیم‌های شکمبه گاو و گاومیش انجام شد. قابلیت هضم ماده خشک (DM)، الیاف نامحلول در شوینده خشی (NDF) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) پیت نیشکر عمل‌آوری شده توسط کل میکروارگانسیم‌ها و قارچ‌های شکمبه گاو و گاومیش به روش هضم دو مرحله‌ای، تکنیک تولید گاز و کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه اندازه‌گیری و مقایسه شد. قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک، NDF و ADF پیت نیشکر توسط کل میکروارگانسیم‌های شکمبه گاومیش (به ترتیب ۶۲، ۳۲/۳۱ و ۲۲ درصد) بیشتر از گاو (به ترتیب ۵۰/۱۳، ۲۷/۰۷ و ۱۶/۲۵ درصد) بود ( $P < 0/05$ ). صرف نظر از نوع میکروارگانسیم قابلیت هضم ماده خشک NDF و ADF توسط گاومیش (۵۴/۱۳، ۲۷/۵۱ و ۱۹/۸۶ درصد) بیشتر از گاو (۴۹/۶۹، ۲۴/۵۴ و ۱۴/۶۷ درصد) بود ( $P < 0/05$ ). پتانسیل تولید گاز پیت نیشکر عمل‌آوری شده در حضور کل میکروارگانسیم‌های مایع شکمبه گاو از نظر عددی بیشتر از گاومیش بود ( $P > 0/05$ ). نرخ تولید گاز توسط کل میکروارگانسیم‌ها و قارچ‌های شکمبه گاومیش به طور معناداری بیشتر از گاو بود ( $P < 0/05$ ). صرف نظر از نوع میکروارگانسیم، نرخ تولید گاز پیت نیشکر در گاومیش به طور معناداری بیشتر از گاو بود ( $P < 0/05$ )؛ برعکس پتانسیل تولید گاز در گاو اندکی بیشتر بود ( $P > 0/05$ ). صرف نظر از نوع دام، قابلیت هضم و توان تولید گاز برای کل میکروارگانسیم‌ها بیشتر از قارچ‌ها بود ( $P < 0/05$ )، اما برای نرخ تولید گاز بین آن‌ها تفاوتی وجود نداشت. در محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه، قابلیت هضم ماده خشک پیت نیشکر توسط قارچ‌ها در گاومیش در روز دوازدهم به طور معناداری بیشتر از گاو بود ( $P < 0/05$ ). تراکم قارچ‌ها در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه گاو بیشتر از گاومیش بود ( $P < 0/05$ ). در کل، با وجود تعداد بیشتر قارچ‌های شکمبه گاو، می‌توان گفت که توان قارچ‌ها و کل میکروارگانسیم‌های شکمبه گاومیش در آزمایش حاضر بیشتر از گاو بود. بنابراین، نتایج برتری گاومیش به گاو هلشتاین در استفاده از مواد فیبری کم کیفیت را نشان داد.

**واژه‌های کلیدی:** تولید گاز، شمارش قارچ‌های شکمبه، کشت اختصاصی قارچ‌ها، کل میکروارگانسیم‌ها.

#### مقدمه

فراورده‌های فرعی کشاورزی را می‌توان به عنوان خوراک دام استفاده کرد. محدودیت منابع آبی و قیمت زیاد مواد خوراکی متداول سبب شده است تا این بقایا از ارزش مناسبی برای تأمین احتیاجات غذایی دام‌ها برخوردار شوند. در کشور ایران سالانه به طور متوسط در حدود ۲/۲ میلیون تن محصولات فرعی نیشکر مثل باگاس، پیت خام نیشکر و همچنین مقادیر زیادی سرشاخه نیشکر (۱/۴ میلیون تن) تولید می‌شود که در موارد زیادی در بخش تغذیه دام‌ها و صنعت از آن‌ها استفاده می‌شود.<sup>۱</sup> از جمله عوامل محدودکننده در ارزش تغذیه‌ای این محصولات فرعی کشاورزی، مقدار زیاد لیگنین و مقدار کم کربوهیدرات‌های محلول است (Osorio & Cruz, 1990).

در نشخوارکنندگان به علت وجود سیستم ویژه هضم، غذا قبل از آنزیم‌های گوارشی حیوان، در معرض تخمیر میکروبی قرار می‌گیرد (Varga & Hoover, 1983). فراوان‌ترین ترکیب دیواره سلول گیاهی سلولز است که نشخوارکنندگان از طریق رابطه همزیستی با میکروارگانیسم‌های شکمبه از آن استفاده می‌کنند (Bahatia et al., 2003). با توجه به اینکه دغدغه اصلی در افزایش تولیدات دامی در کشورهای در حال توسعه، کمبود مواد خوراکی متداول است، پرورش حیواناتی با توانایی استفاده از خوراک فیبری کم‌ارزش و ضایعات کشاورزی ضروری است. گاو میش توانایی زیادی در استفاده از خوراک‌های فیبری کم‌ارزش دارد (Noroozy & Alemzadeh, 2006). بهتر بودن متابولیسم و عمل شکمبه گاو میش در مقایسه با گاو به خصوص از لحاظ فعالیت میکروارگانیسم‌های سلولیتیک مورد توجه قرار گرفته است (Bahatia et al., 2004).

قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه، آنزیم‌های لازم را برای هیدرولیز دیواره سلول دارند که عمدتاً خارج سلولی هستند. تحقیقات نشان داده که بیش از ۷۰ درصد هضم سلولز توسط قارچ‌های شکمبه صورت می‌گیرد (Akin & Lee et al., 1990). بر اساس تحقیقات

(2000)، فعالیت سلولاز و زایلاناز قارچی از فعالیت دیگر میکروارگانیسم‌های سلولولیتیک شکمبه و پروتوزوا بیشتر است. قبل از اینکه میکروارگانیسم‌های شکمبه بتوانند علوفه‌ها را تجزیه کنند باید به بافت گیاهی متصل شوند، پوشش شاخی که بخش هوایی تمام گیاهان را می‌پوشاند، مانع کلنی‌سازی می‌شود (Lee et al., 2004). به نظر می‌رسد که قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه قادر هستند از طریق پوشش شاخی یادشده به درون بافت گیاهی نفوذ کنند. تخریب حاصل از فعالیت قارچ‌ها شاید برای رسیدن باکتری‌ها به بافت‌های زیرین کافی باشد (Lee et al., 2004). Krause et al. (2003) گزارش کردند که قارچ‌ها به دلیل رشد فیلامنت‌ها به داخل بافت گیاهی نفوذ کرده و طیف وسیعی از آنزیم‌های خارج سلولی با فعالیت زیاد را ایجاد می‌کنند؛ بنابراین توانایی تجزیه بیش از ۳۴ درصد لیگنین بافت گیاهی را دارند. قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه دارای فعالیت کوتینازی هستند و می‌توانند مواد سخت دیواره سلولی گیاهان را که شامل اسکلرانشیم و بافت‌های وزیکولی است، تجزیه کنند. جنس‌های نئوکالیماستیکس<sup>۲</sup> شامل سکومایسز<sup>۳</sup> (که قبلاً اسفروموناز<sup>۴</sup> نامیده می‌شد)، پیروموناز<sup>۴</sup> و ارپینومایسز<sup>۵</sup> (که ممکن است رومینومایسز نیز نامیده شود) از قارچ‌های مهم موجود در شکمبه هستند (Czerkawski, 1986).

محققان گزارش کردند که گاو میش‌های باتلاقی از چند جنبه کارایی بیشتری در مقایسه با گاو دارند. برای مثال هضم فیبر، بازده تخمیر، بازچرخ اوره، مصرف خوراک در گاو میش بیشتر است (Devendral, 1985). محققان با مقایسه اکولوژی شکمبه گاو میش و گاو با مطالعه روی گونه‌ها و جمعیت میکروبی دریافتند اختلاف معناداری در تعداد باکتری، قارچ‌ها و پروتوزوای شکمبه وجود دارد (Bahatia et al., 2004). آزمایش‌ها نشان داد که در جیره بر پایه علوفه چاودار تعداد قارچ‌های شکمبه در گاو بیشتر از گاو میش است (Kumar et al., 2002). اما در مطالعات دیگر مشخص شد که جیره غذایی حاوی یولاف-کنسانتره (با ۲۷/۲

2. *Neocallimastix*  
3. *Sphaeromonase*  
4. *Piromonase*  
5. *Orphinomyces*

۱. ماهنامه خبری-تحقیقی شرکت توسعه نیشکر و صنایع جانبی،

ش ۱۱۴، ۱۳۸۶.

گاو میش (میانگین وزن  $420 \pm 5$  کیلوگرم) استفاده شدند. آب آشامیدنی و غذای روزانه در اختیار دام‌ها قرار گرفت. جیره‌های غذایی دام‌های مورد مطالعه بر اساس جدول‌های احتیاجات غذایی (NRC, 1996) تنظیم شدند. جیره مصرفی شامل  $16/89$  درصد سیلاژ ذرت،  $15/18$  درصد یونجه خشک،  $1/69$  درصد کاه گندم،  $34/32$  درصد ختن (خوراک توسعه نیشکر)،  $5/61$  درصد دانه جو،  $9$  درصد سبوس گندم،  $16/31$  درصد دانه ذرت،  $1$  درصد مکمل مواد معدنی و مواد ویتامینی بود. خوراک روزانه در دو وعده غذایی صبح و بعدازظهر (ساعت ۸ و ۱۶) توزین شد و به‌صورت یکنواخت به مدت ۶۰ روز در حد نگهداری در اختیار دام‌ها قرار گرفت.

#### روش هضم دو مرحله‌ای

##### تعیین قابلیت هضم توسط کل میکروارگانیزم‌ها

مایع شکمبه از دام‌های تحت آزمایش قبل از خوراک‌دهی صبح گرفته شد و با پارچه متقال چهار لایه صاف و به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایش هضم دو مرحله‌ای  $0/5$  گرم پیت نیشکر عمل‌آوری شده با بخار ( $19$  بار،  $3$  دقیقه) وزن و در لوله‌های آزمایش  $100$  میلی‌لیتری ریخته شد.  $40$  میلی‌لیتر بزاق مصنوعی و  $10$  میلی‌لیتر مایع شکمبه (نسبت  $1:4$ )، به آن افزوده شد. بزاق مصنوعی به روش McDougall (1948) تهیه شد. پس از بستن در، لوله‌های حاوی مخلوط بزاق و مایع شکمبه در حمام آب گرم در دمای  $39$  درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و روزانه در دو نوبت لوله‌های آزمایشی تکان داده شد. پس از گذشت  $48$  ساعت از شروع آزمایش، با افزودن اسید کلریدریک به محیط، شرایط برای افزودن آنزیم پپسین (مرک- M785،  $1:3300$ ) مهیا شد. پس از گذشت  $48$  ساعت (تقلید هضم شیردانی) مواد باقیمانده شسته و در آن  $48$  ساعت در دمای  $60$  درجه سانتی‌گراد خشک شد و قابلیت هضم ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی با توجه به اختلاف ماده اولیه و مواد باقیمانده در پایان آزمایش هضم محاسبه گردید. الیاف نامحلول در شوینده خنثی (Van Soest et al., 1991) و اسیدی (AOAC, 2002) با روش متداول اندازه‌گیری شد.

درصد سلولز) سبب تحریک بیشتر فعالیت سلولز میکرووب‌های شکمبه گاو میش در مقایسه با گاو می‌شود (Kumar et al., 2002). کم‌بودن سرعت عبور مواد از شکمبه گاو میش در مقایسه با گاو، سبب گردیده تا قابلیت و بازده استفاده از علوفه خشبی با کیفیت پایین در گاو میش از گاو شیری بیشتر باشد (Bahatia et al., 2004). Wanapat et al. (2009) نتیجه گرفتند که تعداد قارچ‌های بی‌هوازی در شکمبه گاو میش به طور معناداری بیشتر از گاو است.

در بیشتر نقاط دنیا به دلیل محدودیت منابع خوراکی، اغلب دام‌های نشخوارکننده با فرآورده‌های جانبی کم‌کیفیت که بیشتر آن دیواره سلولی است، زندگی می‌کنند. بنابراین، به دلیل نقش قارچ‌ها در تسهیل دسترسی باکتری‌ها و پروتوزوآها به دیواره سلولی گیاهان از طریق سست کردن پیوندهای لیگنوسلولزی و نیز نقش مستقیم آن‌ها در هضم دیواره سلولی از یک طرف و از طرف دیگر گزارش‌های متفاوت درباره فعالیت جمعیت قارچی گاو و گاو میش در مناطق مختلف دنیا، آزمایش حاضر به منظور مطالعه مقایسه‌ای فعالیت قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه گاو و گاو میش خوزستان در هضم پیت نیشکر انجام گرفت.

#### مواد و روش‌ها

در این آزمایش مقایسه فعالیت کل میکروارگانیزم‌ها و قارچ‌های شکمبه گاو و گاو میش خوزستان در هضم پیت نیشکر عمل‌آوری شده با بخار آب تحت فشار (فشار  $19$  بار،  $3$  دقیقه) طی چند مرحله انجام گرفت. در مرحله اول تأثیر کل میکروارگانیزم‌ها و قارچ‌های شکمبه گاو و گاو میش روی هضم‌پذیری پیت نیشکر عمل‌آوری شده با بخار آب تحت فشار با روش هضم دو مرحله‌ای (Tilley & Terry, 1963) و روش تولید گاز (Menk & Stenigass, 1988) اندازه‌گیری شد. در مرحله دوم برای مقایسه ناپدیدشدن مواد فیبری توسط قارچ‌های شکمبه از محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه استفاده شد. آزمایش حاضر در دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان و مرکز تحقیقات صفی‌آباد دزفول انجام گرفت. برای اجرای این آزمایش، سه رأس جوانه گاو (میانگین وزن  $430 \pm 4$  کیلوگرم) و سه رأس جوانه

Davies *et al.* (1993) تهیه شد. محیط کشت تحت شرایط بی‌هوایی به داخل شیشه‌های کشت منتقل گردید و بعد برای ۱۵ دقیقه در ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شد. ایزوله‌های قارچ تهیه شده به عنوان اینوکولانت (برای تهیه اینوکولانت قارچ‌های شکمبه، نمونه‌های کاه در شکمبه دام دارای فیستوله کیسه‌گذاری شدند و به عنوان منبع قارچ‌های بی‌هوایی در محیط کشت قارچ‌های شکمبه تحت گاز دی‌اکسیدکربن قرار گرفتند و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ایزوله‌های قارچ حاصل شدند، (Rezaeian *et al.*, 2012; Mohammadabadi *et al.*, 2005) در شیشه‌های کشت (شیشه‌های سرمی ۱۰۰ میلی‌لیتری با درِ آبی) که حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت اختصاصی قارچ به همراه نمونه‌های آزمایشی (۱ گرم پیت عمل‌آوری شده نیشکر، سه تکرار برای هر کدام) و ۱ میلی‌لیتر محلول آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین، استرپتومایسین و کلرامفنیکل، هر کدام به مقدار ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) بودند، کشت داده شدند. برای به‌دست‌آوردن محیط کشت خالص، سه مرحله عمل کشت تکرار<sup>۱</sup> شد. بعد از خالص‌کردن محیط کشت، نمونه‌ها در انکوباتور در ۳۹ درجه سانتی‌گراد برای زمان‌های ۳، ۹ و ۱۲ روز (سه تکرار برای هر زمان) کشت داده شدند. در روزهای سوم و نهم و دوازدهم رشد قارچ‌های شکمبه‌ای، از هر تیمار سه تکرار را انتخاب کرده و محتوی شیشه‌های کشت صاف و خشک شدند (آون، ۴۸ ساعت، دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد) سپس ناپدیدشدن ماده خشک نمونه‌ها توسط قارچ‌ها با توجه به مقدار اولیه و باقی‌مانده در هر زمان، اندازه‌گیری شد.

#### روش شمارش قارچ‌های شکمبه

رقیق‌سازی و شمارش قارچ‌ها بر اساس تکنیک MPN انجام گرفت. محلول رقیق‌کننده شامل محلول نمکی ۱، محلول نمکی ۲ و مایع شکمبه سانتریفیوژ شده است. با استفاده از مایع شکمبه گرفته‌شده از دام‌های تحت مطالعه، محلول رقیق‌کننده با رقت‌های  $10^{-1}$  تا  $10^{-5}$  تهیه شد. سپس با تلقیح ۰/۵ میلی‌لیتر از هر رقت در محیط کشت قارچ‌های بی‌هوایی، ۵ لوله برای هر رقت تهیه شد و به مدت ۱۰ تا ۱۲ روز در انکوباتور ۳۹ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از مدت زمان گفته‌شده،

تعیین قابلیت هضم توسط قارچ‌های بی‌هوایی شکمبه برای خالص‌سازی قارچ‌ها، مایع شکمبه بعد از گرفتن از دام‌های تحت آزمایش و صاف‌کردن، ابتدا سانتریفیوژ شد (۱۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰)، مایع به‌دست‌آمده با بزاق مصنوعی با نسبت ۱ به ۴ مخلوط شد و سپس ۵۰ میلی‌لیتر از محلول فوق همراه با ۲ میلی‌لیتر از محلول آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین، استرپتومایسین و کلرامفنیکل، هر کدام به مقدار ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) به محیط کشت اضافه شد (Davies *et al.*, 1993; Mohammadabadi *et al.*, 2012). در ادامه مطابق روش کل میکروارگانیسم‌ها در بالا عمل شد.

#### روش تولید گاز توسط قارچ‌ها و کل میکروارگانیسم‌ها

تولید گاز پیت نیشکر عمل‌آوری شده با بخار تحت فشار (۱۹ بار، ۳ دقیقه) توسط کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌های شکمبه گاو و گاو میش با استفاده از روش متداول (Menk & Stenigass, 1988)، در سرنگ‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری که حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم نمونه، ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی و ۱۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه بود، اندازه‌گیری شد. مایع شکمبه جمع‌آوری شده با استفاده از پارچه متقال چهارلایه صاف و با حجم مناسبی (نسبت ۱:۲) بزاق مصنوعی مخلوط شد (Menk & Stenigass, 1988). ریزازورین به عنوان شناساگر اکسیژن استفاده گردید و از دی‌اکسیدکربن برای کاستن آلودگی اکسیژنی مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی استفاده شد. تولید گاز سرنگ‌ها در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون، اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از تولید گاز جیره‌های آزمایشی با استفاده از معادله‌نمایی Orskov & McDonald (1979) تحلیل شد. برای اندازه‌گیری تولید گاز قارچ‌های بی‌هوایی شکمبه برای خالص‌سازی قارچ‌ها از روش مشروح در بخش هضم دو مرحله‌ای استفاده شد.

#### تهیه محیط کشت اختصاصی و کشت‌دادن قارچ‌های بی‌هوایی شکمبه

برای مقایسه قابلیت هضم توسط قارچ‌های بی‌هوایی گاو و گاو میش از محیط کشت اختصاصی قارچ استفاده شد. محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه بر اساس روش

هضم‌پذیری ماده خشک، NDF و سلولز کاه گندم و علف برسیم توسط کل میکروارگانیسیم‌های شکمبه گاومیش را بیشتر از گاو گزارش کردند. تفاوت در هضم مواد مغذی بین گاو و گاومیش در آزمایش حاضر را شاید بتوان به عوامل گوناگونی از جمله اختلاف در تراکم جمعیت و نوع سوبیه‌های میکروبی آن‌ها (Bahatia *et al.*, 2004) و نیز تفاوت‌های فیزیولوژیکی نسبت داد (Wanapat, 2001). شکمبه دارای جمعیت‌های عمده باکتری‌های سلولولیتیک، قارچ‌های بی‌هوازی و پروتوزوای فیبرولیتیک است (Chen & Wang, 2008). بنابراین در آزمایش حاضر، یکی از عوامل بیشتربودن هضم مواد مغذی در گاومیش را شاید بتوان به نقش جمعیت پروتوزوایی آن نسبت داد. بیان شده که در حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد از کل هضم میکروبی الیاف در شکمبه توسط تک‌یاخته‌های شکمبه انجام می‌گیرد؛ ۳۴ درصد فعالیت سلولازی شکمبه مربوط به پروتوزوا است (Bauchop & Clarke, 1976). (Chaudhary *et al.*, 1995) با استفاده از گاومیش‌هایی که از کاه گندم و کنسانتره استفاده کرده بودند، گزارش کردند که حذف پروتوزوا، قابلیت هضم کربوهیدرات‌های ساختمانی را هم در شکمبه و هم در کل دستگاه گوارش کاهش می‌دهد. Jabbari *et al.* (2011) نیز نشان دادند که با مصرف جیره مشابه، تراکم پروتوزوا در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه گاومیش بیشتر از گاو است. همچنین در مطالعه Jabbari *et al.* (2012) هضم‌پذیری ماده خشک، NDF و ADF پیت نیشکر عمل‌آوری‌شده و کاه گندم توسط جمعیت پروتوزوایی شکمبه گاومیش خوزستانی بیشتر از گاو بود. جمعیت باکتری‌های سلولولیتیک در شکمبه گاومیش در مقایسه با شکمبه گاو سه برابر گزارش شده است (Singh *et al.*, 1992; 2003). Wanapat (2001) نیز دریافت که باکتری‌های سلولولیتیک در شکمبه گاومیش از شکمبه گاو بیشتر بوده، هضم سلولز و غلظت آمونیاک مایع شکمبه نیز در آن‌ها بالاتر است. بنابراین، یکی از دلایل هضم بهتر سلولز توسط گاومیش تعداد بیشتر باکتری‌های سلولولیتیک و غلظت بالاتر آمونیاک در شکمبه است. به نظر می‌رسد باکتری‌های غالب هضم‌کننده الیاف باکترئید سوکسینوزنز<sup>۱</sup>، رومینوکوکوس آلبوس<sup>۲</sup> و رومینوکوکوس

pH نمونه‌ها (مترود مدل ۷۲۶، سوئیس) اندازه‌گیری شد و تغییر pH و مشاهده کدورت به عنوان مشخصه رشد قارچ‌ها تعیین گردید. با مقایسه مشاهده‌ها با جدول‌های MPN و نرم‌افزارهای موجود، شمارش قارچ‌ها صورت گرفت (Dehority, 2003).

برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی، مایع درون محیط‌های کشت با نسبت مساوی با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شد و با روش فنل-اسید سولفوریک سنجش شد (Broderick & Kang, 1980).

### تحلیل آماری

داده‌های مربوط به هضم دو مرحله‌ای، تولید گاز و محیط کشت اختصاصی قارچ‌ها با نرم‌افزار SAS (ویرایش ۹/۱) با طرح پلات‌های خردشده (حیوان به عنوان پلات اصلی و میکروارگانیسیم‌ها، پلات فرعی) آنالیز شدند. مقایسه میانگین‌ها به وسیله آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام شد.

مدل آماری شامل  $Y_{ijk} = \mu + A_i + \delta_{ik} + B_j + (AB)_{ij} + e_{ijk}$  بود. در این مدل  $Y_{ijk}$  مقدار مشاهده‌شده،  $\mu$  میانگین جامعه،  $A_i$  اثر دام (گاو یا گاو میش)،  $B_j$  اثر تیمار (نوع میکروارگانیسیم یا قارچ‌ها)،  $(AB)_{ij}$  اثر متقابل تیمار در دام،  $\delta_{ik}$  خطای پلات اصلی و  $e_{ijk}$  خطای آزمایش است.

### نتایج و بحث

قابلیت هضم پیت نیشکر عمل‌آوری‌شده با بخار آب تحت فشار-توسط کل میکروارگانیسیم‌ها

قابلیت هضم ماده خشک، NDF و ADF توسط کل میکروارگانیسیم‌های شکمبه گاو و گاومیش (جدول ۱) در گاومیش بیشتر از گاو بود ( $P < 0.05$ ). صرف نظر از نوع میکروارگانیسیم (جدول ۳)، قابلیت هضم ماده خشک، NDF و ADF توسط کل میکروارگانیسیم‌های شکمبه گاومیش بیشتر از گاو بود ( $P < 0.05$ ). موافق با نتایج آزمایش حاضر (Jabbari *et al.*, 2012) و Rafiei *et al.* (2013) نیز قابلیت هضم ماده خشک، NDF و ADF پیت نیشکر عمل‌آوری‌شده با بخار آب توسط کل میکروارگانیسیم‌های شکمبه گاومیش را بیشتر از گاو گزارش کردند که در تحقیق اخیر تنها اختلاف هضم ماده خشک معنادار بود. Tewatia & Bhatia (1966) نیز مقدار

1. *Bacteroides succinogenes*  
2. *Ruminococcus albus*

می‌یابد که احتمالاً با انرژی مورد نیاز حیوان در ارتباط است.

جدول ۱. مقایسه قابلیت هضم پیت نیشکر عمل‌آوری شده توسط قارچ و کل میکروارگانیسم‌های شکمبه گاو و گاومیش

دام	میکروارگانیسم	ماده خشک (درصد)	NDF (درصد)	ADF (درصد)
گاو	کل	۶۲/۰۰ <sup>a</sup>	۳۲/۳۱ <sup>a</sup>	۲۲/۰۰ <sup>a</sup>
گاو	قارچ	۴۶/۲۶ <sup>b</sup>	۲۲/۷۱ <sup>c</sup>	۱۷/۷۲ <sup>b</sup>
گاو	کل	۵۰/۱۳ <sup>b</sup>	۲۷/۰۷ <sup>b</sup>	۱۶/۲۵ <sup>bc</sup>
گاو	قارچ	۴۹/۲۶ <sup>b</sup>	۲۲/۰۱ <sup>c</sup>	۱۳/۱۰ <sup>c</sup>
SEM		۱/۶۸۱	۱/۰۲	۱/۱۷
احتمال معناداری		۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۴۳

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معناداری دارند ( $P < 0.05$ ).

جدول ۲. مقایسه قابلیت هضم پیت عمل‌آوری شده توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه (صرف نظر از نوع دام)

میکروارگانیسم	ماده خشک (درصد)	NDF (درصد)	ADF (درصد)
کل	۵۶/۰۶ <sup>a</sup>	۲۹/۶۹ <sup>a</sup>	۱۷/۵۵
قارچ‌ها	۴۷/۷۶ <sup>b</sup>	۲۲/۳۶ <sup>b</sup>	۱۶/۹۸
SEM	۱/۱۹	۰/۷۲	۰/۸۲
احتمال معناداری	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۰۱	۰/۶۴۳

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معناداری دارند ( $P < 0.05$ ).

جدول ۳. مقایسه قابلیت هضم پیت عمل‌آوری شده توسط گاو و گاومیش (صرف نظر از نوع میکروارگانیسم)

دام	ماده خشک (درصد)	NDF (درصد)	ADF (درصد)
گاو	۴۹/۶۹ <sup>b</sup>	۲۴/۵۴ <sup>b</sup>	۱۴/۶۷ <sup>b</sup>
گاومیش	۵۴/۱۳ <sup>a</sup>	۲۷/۵۱ <sup>a</sup>	۱۹/۸۶ <sup>a</sup>
SEM	۱/۱۹	۱/۶۰	۲/۶۳
احتمال معناداری	۰/۰۳۰	۰/۰۱۹	۰/۰۰۲

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معناداری دارند ( $P < 0.05$ ).

قابلیت هضم پیت نیشکر عمل‌آوری شده با بخار آب تحت فشار - توسط قارچ‌های شکمبه

قابلیت هضم ماده خشک، NDF و ADF پیت نیشکر عمل‌آوری شده توسط قارچ‌های شکمبه گاومیش و گاو (جدول ۱) نشان داد که قابلیت هضم ماده خشک و NDF

فلاوفاشنز<sup>۱</sup> باشند (Bryant & Small, 1960; Bryant, 1973) که به صورت فعال سبب تجزیه بیشتر الیاف می‌شوند و جمعیت آن‌ها در گاومیش بیشتر از گاو گزارش شده است (Singh *et al.*, 2003). بعید است بتوان زیاده‌تر بودن هضم جیره‌های آزمایشی در آزمایش حاضر را در گاومیش در مقایسه با گاو، به کمیت جمعیت قارچی شکمبه نسبت داد، زیرا طبق داده‌های به دست آمده در این تحقیق (جدول ۹) تعداد قارچ‌های شکمبه گاومیش کمتر از گاو است که این واقعیت توسط دیگران نیز تأیید شده است؛ به طوری که محققان بیان داشتند که جمعیت قارچ در شکمبه گاو در مقایسه با گاومیش تحت رژیم غذایی علف یولاف و کنسانتره بیشتر است (Kumar *et al.*, 2002). اما شاید بتوان آن را به کیفیت و فعالیت آنزیم سلولاز آن‌ها نسبت داد، زیرا بیان شده که فعالیت آنزیم سلولاز قارچی و زیلاناز در مقایسه با آنزیم‌های باکتری‌های سلولولیتیک غالب شکمبه و پروتوزوا بیشتر است (Lee *et al.*, 2004). فعالیت سلولاز در ایزوله قارچ‌های شکمبه گاومیش از ایزوله‌های گاو بیشتر بوده است (Samanta *et al.*, 2001). بیش از ۷۰ درصد هضم سلولز در شرایط *in vivo* توسط قارچ‌های شکمبه صورت می‌گیرد (Akin & Borneman, 1990)، اما به هر حال جمعیت قارچ‌های شکمبه به طور درخور ملاحظه‌ای تحت تأثیر نوع جیره قرار دارد. در این زمینه Mansouri *et al.* (2005) گزارش کردند که با مصرف علف یونجه، علف خشک نی و کاه گندم، تفاوت معناداری بین تراکم جمعیت قارچ‌های شکمبه دو نژاد سیستانی و هلستاین مشاهده نگردید، اما بیشترین تراکم جمعیت زئوسپور قارچ‌ها با مصرف کاه گندم مشاهده شد؛ به طوری که جمعیت زئوسپور قارچ‌ها در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه با مصرف کاه گندم بیشتر از علف نی و علف یونجه بود. Dey *et al.* (2004) گزارش کردند که قارچ‌های بی‌هوای در گوساله‌های دو رگ سبب بیشتر شدن سرعت رشد، راندمان غذایی و قابلیت هضم مواد مغذی می‌شوند. یکی دیگر از علل اختلاف در هضم را می‌توان به اندازه متفاوت بدن دام‌ها نسبت داد که البته در آزمایش حاضر دام‌ها تقریباً هم وزن بودند. در این زمینه Hungate (1966) نشان داد که تخمیر به ازای هر واحد وزنی محتویات شکمبه، افزایش و با اندازه بدن گونه‌های نشخوارکننده کاهش

1. *Ruminococcus flavefaciens*

افزایش قابلیت هضم مواد مغذی و کل اسیدهای چرب فرار می‌شود (Dayanand *et al.*, 2007).

#### فراسنجه‌های تولید گاز پیت نیشکر عمل‌آوری‌شده با بخار

آب تحت فشار-توسط کل میکروارگانیسم‌های شکمبه از نظر پتانسیل تولید گاز (B) پیت نیشکر عمل‌آوری‌شده با بخار آب تحت فشار بالا در حضور کل میکروارگانیسم‌های گاو میش و گاو (جدول ۴) بین گاو و گاو میش اختلاف معناداری وجود نداشت. نرخ تولید گاز (C) پیت نیشکر عمل‌آوری‌شده در گاو میش بیشتر از گاو بود ( $P < 0.05$ ). صرف نظر از نوع میکروارگانیسم (جدول ۶)، پتانسیل تولید گاز پیت نیشکر در گاو و گاو میش تفاوتی نداشت ( $P > 0.05$ ), اما نرخ تولید گاز در گاو میش به طور معناداری بیشتر از گاو بود ( $P < 0.05$ ). مخالف با نتایج آزمایش حاضر، Jabbari (2010) و Rafiei *et al.* (2013) پتانسیل تولید گاز توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه گاو میش را به طور معناداری بیشتر از گاو گزارش کرد. در مقابل، نتایج Jabbari (2010) در خصوص نرخ تولید گاز موافق با آزمایش حاضر بود. بیشتر بودن حجم گاز تولیدشده در گاو در مقایسه با گاو میش را ممکن است بتوان به تخمیر و تجزیه بیشتر خوراک توسط جمعیت میکروبی شکمبه گاو (Agarwal *et al.*, 1991) و اختلاف در جمعیت میکروبی شکمبه آن‌ها ارتباط داد. گزارش شده که عمل‌آوری پیت نیشکر با بخار آب به افزایش قابل توجهی در نرخ (C) و پتانسیل تولید گاز (B) توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه می‌انجامد که بخش بیشتر گاز تولیدشده مربوط به باکتری‌های شکمبه است (Chaji *et al.*, 2011).

نرخ تولید گاز در گاو میش بیشتر از گاو است. این بدین مفهوم است که در ساعات اولیه انکوباسیون گاز بیشتری تولید می‌شود. به عبارت دیگر سرعت تجزیه ماده غذایی در گاو میش بیشتر است. از آنجایی که قارچ‌های شکمبه گاو در این آزمایش بیشتر بودند و نقش بیشتری در هضم الیاف در مقایسه با گاو میش داشتند، شاید بتوان علت این تأخیر را در گاو به همین موضوع نسبت داد، زیرا قارچ‌ها مدت زمان طولانی‌تری برای کلنی‌سازی نیاز دارند (Lowe, 1987). از طرف دیگر می‌توان بیان کرد که در گاو میش شاید سایر میکروارگانیسم‌های شکمبه به غیر از قارچ‌ها، نقش بیشتری در هضم داشتند.

پیت نیشکر عمل‌آوری‌شده توسط قارچ‌های شکمبه گاو و گاو میش تفاوتی نداشت ( $P > 0.05$ ), اما قابلیت هضم ADF در گاو میش بیشتر از گاو به دست آمد ( $P < 0.05$ ). صرف نظر از نوع دام (جدول ۲)، میانگین قابلیت هضم ماده خشک، NDF ( $P < 0.05$ ) و ADF ( $P > 0.05$ ) پیت نیشکر عمل‌آوری‌شده با بخار آب تحت فشار توسط کل میکروارگانیسم‌ها بیشتر از قارچ‌های شکمبه بود ( $P < 0.05$ ). با این حال، هضم‌پذیری ماده خشک، NDF و ADF پیت نیشکر عمل‌آوری‌شده توسط قارچ‌های شکمبه به ترتیب حدود ۸۵/۱۹، ۷۵/۳۱، ۹۶/۷۵ درصد از کل جمعیت میکروبی شکمبه شد که نشان‌دهنده اهمیت قارچ‌های شکمبه در هضم مواد فیبری کم کیفیت است. شاید بتوان دلیل این اختلاف‌ها را بیشتر بودن فعالیت آنزیم سلولاز قارچی گاو میش در مقایسه با گاو دانست (Samanta *et al.*, 2001). جیره‌های غنی از علوفه خشبی مثل کاه یا جیره‌های بر اساس مواد سیلوشده که مدت زمان ماندگاری آن‌ها در شکمبه زیاد است، منجر به توسعه جمعیت مترامی از قارچ‌های بی‌هوازی می‌شوند (Hobson & Stewart, 1997). محققان گزارش کردند که تغذیه مستقیم با قارچ‌های نئوکالیماستیکس می‌تواند باعث افزایش بهبود ارزش تغذیه‌ای جیره‌های مبتنی بر کاه شود (Sehgal *et al.*, 2008). گزارش شده که قابلیت هضم ماده خشک، NDF و ADF کاه گندم توسط قارچ‌های شکمبه گاو بیشتر از گاو میش است (Kumar *et al.*, 2002) که با نتایج آزمایش حاضر از نظر هضم ماده خشک موافق، اما از نظر هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی مخالف است؛ هرچند در آزمایش حاضر هضم DM و NDF توسط قارچ‌ها (جدول ۱) معنادار نبودند. بیشتر بودن قابلیت هضم ماده خشک پیت نیشکر توسط قارچ‌های شکمبه گاو و گاو میش می‌تواند به سبب تفاوت در سویه‌های فعال قارچی شکمبه گاو و گاو میش باشد، زیرا با مقایسه آنزیم‌های فعال گونه‌های مختلف قارچ‌های بی‌هوازی دام‌های اهلی و وحشی مشاهده شده است که گونه‌های پیرومایسز جدانشده از گاو نر سبب افزایش قابلیت هضم مواد مغذی و رشد گوساله‌های گاو میش می‌شوند (Paul *et al.*, 2004). علاوه بر این Dayanand *et al.* (2007) تجزیه بیولوژیکی کاه گندم غنی‌شده با اوره را توسط گونه‌های مختلف پیرومایسز مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که پیرومایسز سبب

جدول ۶. مقایسه فراسنجه‌های تولید گاز پیت عمل‌آوری‌شده توسط گاو و گاومیش (صرف نظر از نوع میکروارگانیزم)

	C	B
گاو	۰/۰۱۵۱±۰/۰۰۱۸ <sup>b</sup>	۷۸/۰۵±۴/۶۶
گاومیش	۰/۰۱۷۷±۰/۰۰۱۸ <sup>a</sup>	۷۶/۶۷±۵/۰۲
SEM	۰/۰۰۰۵	۵/۷۸
احتمال معناداری	۰/۰۰۲	۰/۸۷۴

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معناداری دارند (P<۰/۰۵).

### مقایسه قابلیت هضم ماده خشک و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه گاو و گاومیش-محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه

هضم‌پذیری ماده خشک پیت نیشکر عمل‌آوری‌شده توسط قارچ‌های شکمبه گاومیش در روز دوازدهم به طور معناداری بیشتر از گاو بود (P<۰/۰۵). مشاهده شد که بیشترین هضم ماده خشک در گاو و گاومیش در روز دوازدهم کشت است (جدول ۷)، علت آن می‌تواند افزایش شمار ریزوئیدها باشد که باعث گسستن پیوندهای بین اجزای گیاهی و نرم‌شدن فیزیکی خوراک می‌شوند و نیز ممکن است به علت افزایش آنزیم‌های تجزیه‌کننده فیبر باشد (Dehority, 1969).

از نظر غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت حاوی پیت نیشکر عمل‌آوری‌شده (جدول ۸) در روز سوم، نهم و دوازدهم بین گاومیش و گاو تفاوتی وجود نداشت (P>۰/۰۵). در گاو و گاومیش غلظت نیتروژن آمونیاکی با افزایش مدت زمان کشت تا روز نهم بیشتر شد و در فاصله روزهای نهم و دوازدهم ثابت شد که نشان‌دهنده توقف تخمیر است. افزایش غلظت آمونیاک با بیشترشدن مدت زمان کشت، بیانگر افزایش میزان اسپورانژیوم و آنزیم‌های پروتئولیتیک در اثر تکثیر بیشتر قارچ‌هاست که به دنبال آن هضم پروتئین نیز بیشتر می‌شود و نیتروژن آمونیاکی بیشتری تولید می‌گردد. دارابودن پروتئازهای فعال توسط قارچ‌های شکمبه از خصوصیات بی‌نظیر آنها به عنوان میکروارگانیزم تجزیه‌کننده سلولز به شمار می‌رود، زیرا بیشتر باکتری‌های تجزیه‌کننده سلولز پروتئولیتیک نیستند (Bahatia et al., 2004). محققان مشاهده کردند که نئوکالیماسستیکس فرانالیس دارای فعالیت خارج سلولی پروتئولیتیکی است؛ مقدار فعالیت در مقایسه با قارچ‌های هوازی کمتر بود، اما با بیشتر باکتری‌های تجزیه‌کننده

### فراسنجه‌های تولید گاز پیت نیشکر عمل‌آوری‌شده با بخار آب تحت فشار توسط قارچ‌های شکمبه گاو و گاومیش

اختلافی از نظر پتانسیل تولید گاز پیت نیشکر عمل‌آوری‌شده توسط قارچ‌های شکمبه، بین گاو و گاومیش نبود، اما نرخ تولید گاز به طور معناداری در گاومیش بیشتر از گاو بود (P<۰/۰۵). پتانسیل تولید گاز کل میکروارگانیزم‌ها در گاو و گاومیش (جدول ۴) به طور معناداری بیشتر از قارچ‌ها بود (P<۰/۰۵). با این حال، پتانسیل تولید گاز توسط قارچ‌های شکمبه گاو و گاومیش به ترتیب حدود ۶۹/۹۹ و ۷۰/۱۸ درصد از پتانسیل گاز تولیدی توسط کل میکروارگانیزم‌های شکمبه بود (جدول ۴). همچنین صرف نظر از نوع دام (جدول ۵)، پتانسیل تولید گاز پیت نیشکر عمل‌آوری‌شده توسط کل میکروارگانیزم‌ها بیشتر از قارچ‌ها بود (P<۰/۰۵). پتانسیل تولید گاز توسط قارچ‌های شکمبه ۶۹/۹۳ درصد از پتانسیل گاز تولیدی کل میکروارگانیزم‌های شکمبه بود (جدول ۵). از نظر نرخ تولید گاز بین کل میکروارگانیزم‌ها و قارچ‌ها تفاوتی مشاهده نشد (جدول‌های ۴ و ۵).

جدول ۴. فراسنجه‌های تولید گاز پیت نیشکر عمل‌آوری‌شده توسط قارچ‌ها و کل میکروارگانیزم‌های شکمبه گاو و گاومیش

	C	B
گاومیش	۰/۰۱۸±۰/۰۰۱۸ <sup>a</sup>	۹۱/۸۷±۳/۶۸ <sup>ab</sup>
قارچ	۰/۰۱۸±۰/۰۰۱۸ <sup>a</sup>	۶۴/۴۸±۶/۳۶ <sup>c</sup>
گاو	۰/۰۱۵±۰/۰۰۱۹ <sup>b</sup>	۹۴/۰۹±۸/۵۱ <sup>a</sup>
قارچ	۰/۰۱۵±۰/۰۰۱۹ <sup>b</sup>	۶۵/۸۶±۳/۸۴ <sup>c</sup>
SEM	۰/۰۰۰۷	۱/۳۹
احتمال معناداری	۰/۰۴۱۲	۰/۰۰۰۱

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معناداری دارند (P<۰/۰۵).

جدول ۵. فراسنجه‌های تولید گاز پیت عمل‌آوری‌شده توسط میکروارگانیزم‌های شکمبه (صرف نظر از نوع دام)

	C	B
کل	۰/۰۱۶±۰/۰۰۱۶	۹۳/۵۴±۴/۵۸ <sup>a</sup>
قارچ‌ها	۰/۰۱۶±۰/۰۰۱۶	۶۵/۱۹±۵/۱۰ <sup>b</sup>
SEM	۰/۰۰۰۷	۰/۹۴۲
احتمال معناداری	۰/۹۹۵۳	۰/۰۰۰۱

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معناداری دارند (P<۰/۰۵).



pH محیط کشت قارچ‌ها (جدول ۷) در تمام زمان‌های کشت در گاومیش بیشتر از گاو بود ( $P > 0.05$ ). مشاهده شد که pH محیط کشت حاوی قارچ‌های شکمبه گاو با پیت نیشكر عمل‌آوری‌شده در روز دوازدهم از بقیه روزهای کشت کمتر بود که این کاهش pH در تولید فراورده‌های میکروبی منعکس می‌گردد. در واقع تنزل pH، کم‌شدن تولید اسیدهای چرب را نشان می‌دهد، اختصاصاً تولید اسید استیک و متان؛ در حالی که تولید اسید پروپیونیک مختصری افزایش می‌یابد (Erflie *et al.*, 1982). از طرفی کاهش pH به سبب بسته‌بودن محیط کشت، اتفاقی عادی است که همین عامل باعث توقف رشد و اصطلاحاً خودکشی میکروارگانیسم‌ها می‌گردد.

پروتئین شکمبه قابل مقایسه بود (Wallace & Joblin, 1985). در نشخوارکنندگانی که با علوفه‌های کم‌کیفیت تغذیه می‌شوند، حد بحرانی سطح نیتروژن آمونیاکی برای حفظ فعالیت میکروبی برابر ۲۰-۵ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه گزارش شده است (Bryant & Small, 1960). در گاومیش نشان داده شده است که با افزایش سطح آمونیاک در شیرابه شکمبه در سطح ۱۳/۶ تا ۳۴/۴ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر، قابلیت هضم و مصرف کاه توسط حیوان افزایش یافته و از طرفی جمعیت باکتری و پروتوزوا و همچنین پورین‌های ادراری نیز افزایش یافته است (Wanapat & Pimpa, 1999)؛ بنابراین سطح نیتروژن آمونیاکی در آزمایش حاضر در گاو و گاومیش در دامنه مناسب بود.

جدول ۷. مقایسه pH و قابلیت هضم ماده خشک پیت نیشكر عمل‌آوری‌شده توسط قارچ‌های شکمبه گاو و گاومیش در محیط کشت اختصاصی قارچ‌ها

مورد	روز سوم		روز نهم		روز دوازدهم	
	هضم ماده خشک (درصد)	pH	هضم ماده خشک (درصد)	pH	هضم ماده خشک (درصد)	pH
گاومیش	۲۱/۹۰	۶/۸۹	۲۹/۷۶	۷/۵۳	۳۴/۶۰ <sup>a</sup>	۷/۰۰
گاو	۲۱/۹۰	۶/۸۶	۲۲/۷۶	۶/۸۹	۳۲/۴۶ <sup>b</sup>	۶/۵۳
SEM	۲/۵۶	۰/۰۲۷	۲/۸۳	۰/۴۸۶	۰/۰۴۷	۰/۱۷۲
احتمال معناداری	۱/۰۰	۰/۵۲۶	۰/۱۵۵	۰/۴۰۰	۰/۰۰۰۱	۰/۱۲۶

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معناداری دارند ( $P < 0.05$ ).

جیره آزمایشی مورد نظر به ترتیب  $2 \times 10^3$  و  $2/7 \times 10^3$  شد. تراکم کل قارچ‌های شکمبه گاو بیشتر از گاومیش بود و اختلاف آن‌ها از نظر آماری معنادار بود ( $P < 0.05$ ). موافق با نتایج آزمایش حاضر، Malakar & Walli (1995) و Kumar *et al.* (2002) گزارش کردند که تحت شرایط تغذیه‌ای مشابه تعداد قارچ‌های شکمبه گاو بیشتر از گاومیش است، در صورتی که در مطالعات Wanapat *et al.* (2009) تعداد زئوسپورهای قارچ در شکمبه گاومیش بیشتر از گاو بود. جمعیت میکروبی شکمبه همواره ثابت و یکنواخت نیست بلکه عوامل فیزیولوژیکی مانند سن دام، رفتارهای تغذیه‌ای، سطح تولید، سلامت دام، ماهیت و روابط بین جمعیت‌های میکروبی مختلف و همچنین عوامل خارجی از قبیل ترکیب شیمیایی جیره غذایی، ماهیت جیره، مقدار خوراک، تعداد دفعات

جدول ۸. مقایسه نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) گاو و گاومیش در محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه حاوی پیت نیشكر عمل‌آوری‌شده با بخار

دام	مدت زمان انکوباسیون		
	۱۲ روز	۹ روز	۳ روز
گاومیش	۱۷/۶۶	۱۸/۸۷	۱۷/۴۲
گاو	۱۷/۸۹	۱۹/۰۰	۱۶/۵۴
SEM	۰/۵۰	۰/۱۲	۰/۴۵
احتمال معناداری	۰/۲۳۵	۰/۸۳۲	۰/۴۴۸

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معناداری دارند ( $P < 0.05$ ).

مقایسه تراکم جمعیت قارچ‌های شکمبه گاو و گاومیش براساس نتایج (جدول ۹)، مقایسه تراکم قارچ‌ها با مصرف جیره‌های مشابه نشان داد که تراکم قارچ‌ها در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه گاومیش و گاو تغذیه‌شده با

### نتیجه‌گیری کلی

در کل، نتایج نشان داد که با وجود تعداد بیشتر قارچ‌های شکمبه گاو، توان هضمی قارچ‌ها (در محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه) و کل میکروارگانیسم‌های شکمبه گاومیش برای هضم ماده خشک در آزمایش حاضر بیشتر از گاو بود. بنابراین، نتایج برتری گاومیش به گاو هلشتاین در استفاده از مواد فیبری کم‌کیفیت را نشان داد.

خوراک، تغییر جیره غذایی، تغییر فصل، تغییرات در طول شبانه‌روز و عوامل جغرافیایی، نسبت و تراکم گروه‌های مختلف میکروارگانیسم‌های شکمبه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Russell, 1986) با در نظر گرفتن نوع جیره، مقدار و دفعات خوراک‌دهی و شرایط نگهداری مشابه، احتمالاً تفاوت جمعیت قارچ‌های بی‌هوازی بین گاو و گاومیش خوزستان ناشی از نوع دام و وضعیت جغرافیایی است.

### سپاسگزاری

از دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان به سبب فراهم‌آوردن زمینه اجرای این پژوهش و همچنین از همکاری صمیمانه مجتمع کشت و صنعت امام خمینی به ویژه آقای مجدم برای در اختیار قراردادن پیت نیشکر تشکر و قدردانی می‌گردد.

جدول ۹. مقایسه جمعیت قارچی شکمبه گاو و گاومیش

مورد	گاو	گاومیش	SEM
جمعیت	$2/7 \times 10^{13a}$	$2 \times 10^{13b}$	۲۷۲

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معناداری دارند ( $P < 0/05$ ).

### REFERENCES

- Akin, D.E. & Borneman, W.S. (1990). Role of rumen fungi in fiber degradation. *Journal of Dairy Science*, 73, 3023-3032.
- Agarwal, N., Kewalramani, N., Kamra, D.N., Agarwal, D.K. & Nath, K. (1991). Hydrolytic enzymes of buffalo rumen comparison of cell free rumen fluid, bacterial and protozoal fractions. *Buffalo Journal*, 7, 203-207.
- Association of Official Analytical Chemists. (2002). *Official method of analysis*. (15<sup>th</sup> ed). AOAC: Arlington.
- Bahatia, S.K., Kumar, S. & Sangowan, D.C. (2003). *Nutritional microbiology and digestive physiology of buffalo and cattle*. Teachnig Manual. Departman of Animal Nutrition. CCS HAU, Hisar. P 42-44.
- Bahatia, S.K., Kumar, S. & Sangwan, D.C. (2004). *Advances in buffalo-cattle nutrition and rumen ecosystem*. International Book Distributing Co.
- Bauchop, T. & Clarke, T.J. (1976). Attachment of the ciliate *epidinium crawley* to plant fragments in the sheep rumen. *Applied Environmental Microbiology*, 32, 417-422.
- Broderick, G. A. & Kang, J. H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 63, 64-75.
- Bryant, M.P. & Small, N. (1960). Observations on the ruminal microorganisms of isolated and inoculated calves. *Journal of Dairy Science*, 43, 654-67.
- Bryant, M. P. (1973). Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. *Federation Proceedings*, 32(7), 1809-1813
- Chaji, M. & Mohammadabadi, T. (2011). The investigation of *in vitro* fermentation of sugarcane pith treated with low temperature steam and sulfuric acid by isolated rumen microbial fractions. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 11, 185-193.
- Chaudhary, L. C., Srivastava, A. & Singh, K. K. (1995). Rumen fermentation patten and digestion of structural carbohydrates in buffalo (*Bubalus bubalis*) calves as affected by ciliate protozoa. *Animal Feed Science and Technology*, 56, 11-117.
- Chen, X. L. & Wang, J. K. (2008). Effects of chemical treatments of rice straw on rumen fermentation characteristics, fibrolytic enzyme activities and populations of liquid-and solid-associated ruminal microbes *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 141, 1-14.
- Czerkawski, J. W. (1986). Degridation of soil feeds in the rumen: spatial distribution of microbial activity and its consequences. In: *Proceeding of Prentice Hall*, Englewood Cliffs, New Jersey. USA, pp. 158-172.
- Davies, D. R., Theodorou, M. K., Lawrence, M. I. & Trinci, A. P. J. (1993). Distribution of anaerobic fungi in the digestive tract of cattle and their survival in faeces. *Journal of general microbiology*, 139, 59-64.
- Dayanand T.L., Nagpal R., Puniya A.K., Sehgal J.P. & Singh K. (2007). Biodegradation of urea-NH<sub>3</sub>treated wheat straw using anaerobic rumen fungi. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 16, 484-489.

16. Dehority, B.A. (1969). Pectin-fermenting bacteria isolated from the bovine rumen. *Journal of Bacteriology*, 99, 189.
17. Dehority, B. A. (2003). *Rumen microbiology*. London, UK.: Nottingham University, Academic Press,
18. Devendral, C. (1985). Comparative nitrogen utilization in Malaysia swamp buffaloes and kedah-kelanton cattle. In: Diox, R. (Ed), Proc. The 7th AFAR Int. Workshop. IDPD, Canberra, Australia.
19. Dey, A., Sehgal, J. P., Puniya, A. K. & Singh, K. (2004). Influence of anaerobic fungal culture (*Orpinomyces sp.*) administration on growth rate, ruminal fermentation and nutrient digestion in calves. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 17, 820-824.
20. Erfle, J. D., Boila, R. J., Teather, R. M., Mahadevan, S. & Sauer, F. D. (1982). Effect of pH fermentation characteristics and protein degradation by rumen micro-organisms in vitro. *Journal of Dairy Science*, 65, 1451-1464.
21. Hobson, P. N. & C. S. Stewart. (1997). *The rumen microbialecosystem*. London: Chapman and Hall.
22. Hungate, R. E. (1966). *The Rumen and its Microbes*. London: Academic Press.
23. Jabbari, S. (2010). *The comparison digestibility of steam treated sugarcane pith and wheat straw by rumen microorganisms of cattle and buffalo in Khuzestan*. M.Sc. thesis, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran. (in Farsi)
24. Jabbari, S., Eslami, M., Chaji, M., Mohammadabadi, T. & Bojarpour, M. (2011). The comparison of *in vitro* digestibility of wheat straw by rumen microorganism of khuzestani buffalo and Hostein cow *in vitro* digestibility by khuzestani buffalo. Singapore: IACSIT Press, pp 266-268.
25. Jabbari, S., Eslami, M., Chaji, M., Mohammadabadi, T. & Bojarpour, M. (2012). A comparison between water buffalo (Khuzestani) and cow rumen fluids in terms of the *in vitro* digestibility of steam treated sugarcane pith. In: Proceeding of *WCDS Advances in Dairy Technology*, University of Alberta, Canada, pp. 24: 405.
26. Krause, D. O., Denman, S. E., Mackie, R. I., Morrison, M., Rae, A. L., Attwood, G. T. & McSweeney, C. S. (2003). Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology and genomics. *FEMS Microbiology Reviews*, 27, 663-693.
27. Kumar, S., Singh, S. & Bhatia, S. K. (2002). Microbial and biochemical changes in the rumen of cattle and buffalo fed oat hay concentrate diet. *Indian journal of animal nutrition*, 19, 78.
28. Lee S. S., Ha, J. K. & Cheng, K. J. (2000). Influence of an anaerobic fungal culture administration on *in vivo* ruminal fermentation and nutrient digestion. *Animal Feed Science and Technology*, 88, 201-217.
29. Lee, S. S., Choi, C. K., Ahn, B. H., Moon, Y. H., Kim, C. H. & Ha, J. K. (2004). *In vitro* stimulation of rumen microbial fermentation by a rumen anaerobic fungal culture. *Animal Feed Science and Technology*, 115, 215-226.
30. Lowe, S. E. (1987). Cellulases and xylanase of an anaerobic rumen fungus grown on wheat straw, wheat straw holocellulose, cellulose and xylan. *Applied Environmental Microbiology*, 53, 216-223.
31. Malakar, D. & Walli, T.K. (1995). Relative fibre degradation (*in vitro*) by bacteria and fungi using inoculum from cow and buffalo rumen. *Indian Journal of Dairy Science*, 48, 295-301
32. Mansouri, H., Nik-Khah, A. & Rezaeian, M. & Mirhadi, S. A. (2005). Comparison of microbial population in ruminal fluid of Sistani and Holstein cattle fed different roughages. *Pajouhesh & Sazandegi*, 72, 66-73. (in Farsi)
33. McDougall, E. L. (1948). Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemical Journal*, 43, 99-106.
34. Menk, K. H. & Stenigass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28, 6-55.
35. Mohammadabadi, T., Chaji, M. & Bojarpour, M. (2012). The Effect of processing of sugarcane pith with steam on gas production parameters by using isolated rumen microbioia. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 4(3), 240-46. (in Farsi)
36. Noroozy, S. & Alemzadeh, B. (2006). Effect of different amounts of treated sugarcane tops silage on performance of milk buffaloes. *Buffalo Bulletin*, 25(1), 7.
37. NRC. (1996). *Nutrient Requirements for beef Cattle*. (7<sup>th</sup> rev. ed.). Washington DC: Natl. Acad. Sci.
38. Osorio, H. & Cruz, De La. (1990). Steam treated bagasse for fattening cattle. Effect of supplementation with *Giricidia sepium* and urea/molasses. *Livstock Research for Rural development*, (2)2.
39. Paul, S. S., Kamra, D. N., Sastry, V. R. B. & Agarwal, N. (2004). Effect of administration of an anaerobic gut fungus isolated from wild blue bull to buffaloes on *in vivo* ruminal fermentation and digestion of nutrients. *Animal Feed Science and Technology*, 115, 143-157.
40. Rafiei, M., Chaji, M., Mohammadabadi, T. & Sari, S. (2013). The comparison digestibility of steam treated sugarcane pith by rumen bacteria or rumen microorganisms of Holstein cow and buffalo of Khuzestan. *Journal of Ruminant Researches*, 1(1), 53-75. (in Farsi)
41. Rezaeian, M., Beakes, G. W. & Chaudhry, A. S. (2005). Relative fibrolytic activities of anaerobic rumen fungi on untreated and sodium hydroxide treated barley straw in *in vitro* culture. *Anaerobe*, 11, 163-175.

42. Russell, J. B. (1986). Ecology of rumen microorganism: Energy use. In Dabson, A., and M. J. Dobson, (Eds.), *Aspect of digestive physiology in ruminants*. London: Comstock publishing association.
43. Samanta, A. K., Walli, T. K., Batish, V. K., Grover, S., Rajput, Y. S. & Mohanty, A. K. (2001). Description of anaerobic fungi isolated from bovin rumen. (Personal communication).
44. Sehgal, J. P., Jit, D., Puniya, A. K. & Singh, S. (2008). Influence of anaerobic fungal administration on growth, rumen fermentation and nutrient digestion in female buffalo calves. *Journal of Animal Science*, 17, 510-518.
45. Singh S., Bhatia, S. K. & Pradhan, K. (2003). Relative ruminal ciliates distribution and physiology of bacteria isolated in buffalo and cattle fed weath straw-preformed protein diets. *Iranian Journal of Animal Science*, 73, 663.
46. Singh, S., Pradhan, K., Bhatia, S. K., Sangwan, D. C. & Sagar, V. (1992). Relative rumen microbial profile of cattle and buffalo fed wheat straw-concentrate diets. *Iranian Journal of Animal Science*, 62, 1197.
47. Tewatia, B. S. & Bhatia, S. K. (1996). Comparative studies in rumen ammonia anabolizing enzymes, microbial and mineral profiles between buffalo and cattle fed fibrous diet. *Buffalo Journal*, 12, 169.
48. Tilley, J. M. and R. A. Terry. (1963). A two staged technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, 10, 104-111.
49. Van Soest, P. J., Robertson, J. B. & Lewis. B. A. (1991). Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
50. Varga, G.A. & Hoover, W.H. (1983). Rate and Extent of Neutral Detergent Fiber Degradation of Feedstuffs in Situ. *Journal of Dairy Science*, 66, 2109-2115.
51. Wallace, R.J. & Joblin, K.N. (1985). Proteolytic activity of a rumen anaerobic fungus. *FEMS microbiology letters*, 29, 19-26.
52. Wanapat, M. (2001). Swamp buffalo rumen ecology and its manipulation. In: *Nationolworkshop on swamp buffalo development*, Thailand.
53. Wanapat, M. & Pimpa, O. (1999). Effect of ruminal NH<sub>3</sub>-N levels on ruminal fermentation purine derivatives, digestibility and rice straw intake in swamp buffaloes. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 12, 904-907.
54. Wanapat, M., pilagun, R. & Kongmun, P. (2009). Rominal ecology of swamp buffalo as influenced by dietary source. *Animal Feed Science and Technology*, 151, 205-214.