علوم دامی ایران
دورۀ ۴۷، شمارۀ ۱، بهار ۱۳۹۵ (ص ۷۸-۶۳)
DOI: 10.22059/ijas.2016.58000

بررسی برون‌تنی گوارش‌پذیری، تخمیر و فعالیت آنزیمی قارچ‌های بی‌هوازی شکمبۀ شترهای تک کوهانۀ تغذیه‌شده با علوفه‌های زراعی و مرتعی

پوریا دادور[1]، طاهره محمدآبادی[2*]، محسن ساری[3] و جمال فیاضی[4]
۱، ۲، ۳ و ٤. دانشجوی دکتری تغذیۀ دام، استادیاران و دانشیار گروه علوم دامی،
دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، خوزستان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۵ - تاریخ تصویب: ۱۳۹٤/۹/۲۹)

چکیده

هدف از انجام این پژوهش، بررسی ویژگی‌های تخمیر و فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کنندۀ الیاف توسط قارچ‌های بی‌هوازی شکمبۀ شترهای تک کوهانۀ تغذیه‌شده با علوفه‌های زراعی و مرتعی بود. ازاین‌رو با استفاده از محیط کشت اختصاصی، مایۀ تلقیح قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه تهیه و گوارش‌پذیری، فعالیت آنزیمی و تولید گاز قارچ‌های شکمبه بر پایۀ یک آزمایش فاکتوریل ۲×۲ تعیین شد. نتایج نشان داد که قابلیت (پتانسیل) تولید گاز در تیمارهای حاوی بسترۀ (سوبسترای) آتریپلکس بیشتر بود ولی نرخ تولید گاز در تیمارهای دارای کاه گندم بیشتر بود. همچنین کل گاز تولیدی نیز در تیمار دارای مایع شکمبۀ تغذیه‌شده با علوفۀ مرتع و بسترۀ آتریپلکس (۵۰/۷۱ میلی‌لیتر) بیشترین بود ($P\leq۰/۰۱$). نیتروژن آمونیاکی محیط کشت‌ها در ساعت‌های مختلف آزمایش تحت تأثیر نوع تغذیۀ دام‌ها و نوع بستره قرار گرفت ($P\leq۰/۰۱$). نتایج نشان داد که گوارش‌پذیری مادۀ آلی تحت تأثیر نوع مایع شکمبه قرار نگرفت اما با تغییر بستره به‌طور معنی‌داری در آتریپلکس کاهش یافت. همچنین گوارش‌پذیری مادۀ خشک و دیوارۀ یاخته‌ای در تیمارهای دارای آتریپلکس در پایان آزمایش رو به افزایش بود. فعالیت اندوگلوکاناز و اگزوگلوکاناز قارچ‌های شکمبه در ساعت‌های پایانی آزمایش در مایع شکمبۀ تغذیه‌شده با علوفۀ مرتع و بسترۀ آتریپلکس بیشترین افزایش را داشت ($P\leq۰/۰۱$). به نظر می‌رسد برای سنجش شرایط تخمیر علوفه‌های شورزی در محیط آزمایشگاه، بهتر باشد از مایع شکمبه‌ای استفاده شود که با بستره سازگاری داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آتریپلکس، تولید گاز، دیوارۀ یاخته‌ای، قارچ‌های شکمبه و گوارش‌پذیری مادۀ آلی.

مقدمه

شتر یکی از اجزای مهم بوم‌سازگان (اکوسیستم)های خشک و نیمه‌خشک به شمار می‌آید که با دغدغۀ خشکسالی و کمبود آب روبه‌رو هستند. برخی گزارش‌ها بیان می‌کنند که الگوی چرای شتر در شرایط کمبود مواد خوراکی تغییر می‌کند و به سمتی می‌رود که از قسمت‌های چوبی‌شدۀ (خشبی)تر گیاهان که ارزش تغذیه‌ای پایین‌تری دارند استفاده کند و این‌یکی از عامل‌های کاهش‌دهندۀ خوراک مصرفی و مواد مغذی دریافتی است (Kassily, 2002). شتر

* تلفن: ۰۹۱۳۶۱۴۸۸۴۸
E-mail: mohammadabadi@ramin.ac.ir

حیوانی چند معده‌ای بوده، اما یک نشخوارکنندهٔ واقعی نیست، چراکه در شتر بخش هزارلا به‌طور کامل رشدنیافته و غیرفعال است. از دیگر ویژگی‌های منحصربه‌فرد پیش معدهٔ شتر، وجود چین‌های بافت پوششی (اپیتلیومی) و نواحی با کیسه‌های غده‌ای است که گفته می‌شود باعث افزایش جذب در شتر می‌شود (Von-Engelhardt *et al.*, 2007). آنچه گفته شد این فرضیه را القاء می‌کند که پیش معدهٔ شتر جمعیت میکروبی متفاوت و کاراتری نیز داشته باشد چراکه بسیاری از بررسی‌ها نشان داده‌اند که عملکرد میکروبی (Lemosquet *et al.*, 1996) و گوارش‌پذیری مادهٔ خشک، مادهٔ آلی و دیوارهٔ یاخته‌ای (Dulphy *et al.*, 1997) در شتر آمریکای شمالی هنگامی‌که از علوفهٔ با کیفیت پایین استفاده می‌کند، بیشتر از گوسفند است. تاکنون گزارش‌های چندی دربارهٔ کشت قارچ‌های شکمبهٔ گاو، گاومیش و بز (Thareja *et al.*, 2006; Paul *et al.*, 2004) و حتی مدفوع اسب، الاغ، فیل و زرافه (Nagpal *et al.*, 2009) منتشر شده است اما به نظر می‌رسد در ارتباط با قارچ‌های شکمبهٔ شتر اطلاعاتی در دسترس نیست. قارچ‌های شکمبه با آزادسازی آنزیم‌های سلولاز، همی سلولاز و استراز، نقش کلیدی در تجزیهٔ مواد لیفی در شکمبه بازی می‌کنند (Nagpal *et al.*, 2009) و در تجزیهٔ مواد لیگنوسلولزی کارایی بهتری نسبت به دیگر ریزجانداران (میکروارگانیسم‌ها) دارند (Akin & Benner, 1988). گیاهان بر پایهٔ چرخهٔ نورساختی (فتوسنتزی) که استفاده می‌کنند به دو دستهٔ C_3 و C_4 طبقه‌بندی می‌شوند. در چرخهٔ نورساختی C_4 سازوکار فشرده‌سازی کربن بسیار بیشتر از C_3 است (Sage *et al.*, 2012). به‌طورمعمول گیاهان C_4 در همهٔ مراتع گرمسیری یافت می‌شوند و به دمای بالا و شرایط خشکی سازگار هستند. این گیاهان غلاف آوندی دارند و فاصلهٔ بین آوندها بسیار کم است (Heckathorn *et al.*, 1999). این قضیه برابر با محتوای سلولز و لیگنین بالا در این گیاهان است که منجر به کاهش گوارش‌پذیری آن‌ها نسبت به گیاهان C_3 می‌شود (Minson *et al.*, 1971).

مراتع جنوب استان خوزستان گونه‌های گیاهی بوته‌ای شورزی و سازگار با این مناطق دارند. گونه‌های گیاهی سلمکی ساقه سفید، سیاه شور و اشنان گونه‌های غالب در این مناطق بوده و علوفهٔ خوبی را برای مصرف دام‌های نشخوارکننده و به‌طور عمده برای شترهای تک‌کوهانه فراهم می‌کنند. این گیاهان که اغلب در خاک‌های شور مناطق بیابانی رشد می‌کنند خاکستر بالا و مواد ضدتغذیه‌ای چندی نیز دارند (El Shaer, 2010). بااین‌وجود بررسی‌های محدودی روی ترکیب شیمیایی و گوارش‌پذیری آن‌ها انجام گرفته است (Towhidi *et al.*, 2011). کمبود خوراک یکی از بزرگ‌ترین چالش‌های پرورش شتر در نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری است (Shawket *et al.*, 2010). این قضیه، پرورش‌دهندگان شتر را به این سمت سوق می‌دهد که شرایط پرورش شتر را در نظام‌های متمرکز و نیمه‌متمرکز فراهم کنند (Schillhorn & Leoffler, 1990; Dereje & Uden, 2005). در این آزمایش سعی شده است که با بررسی واکنش قارچ‌های شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفه‌های زراعی و مرتعی، شرایط پرورش شتر در نظام‌های متمرکز ارزیابی شود. بنابراین هدف از انجام این پژوهش بررسی ویژگی‌های تخمیر و فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کنندهٔ الیاف توسط قارچ‌های بی‌هوازی شکمبهٔ شترهای تک کوهانهٔ تغذیه‌شده با علوفه‌های C_3 و C_4 بود.

مواد و روش‌ها

جیره‌ها و حیوانات آزمایشی

این بررسی در ایستگاه تحقیقاتی و آزمایشگاه تغذیهٔ تکمیلی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان انجام پذیرفت. در این بررسی از چهار نفر (۲ نفر دارای فیستوله) شتر مادهٔ تک کوهانهٔ نژاد عربی با میانگین وزنی ۲۵±۱۷۵کیلوگرم استفاده شد. حیوانات در جایگاه‌های انفرادی که مجهز به سامانهٔ آبخوری و خوراک‌دهی جداگانه بودند، قرار داده شدند. به‌منظور سازش‌پذیری بوم‌سازگان (اکوسیستم) شکمبهٔ شترها به جیره‌های آزمایشی، جیره‌های غذایی به مدت سی روز و روزانه در دو وعده (۸ صبح و ۶ عصر) در اختیار آن‌ها قرار داده می‌شد. جیره‌های غذایی شامل: گروه

اول علوفهٔ زراعی یونجه و کاه گندم (گیاهان C_3) و گروه دوم علوفهٔ مرتعی بارز منطقهٔ خوزستان شامل سلمکی ساقه سفید[1]، اشنان[2] و سیاه شور[3] (گیاهان C_4) بود (جدول ۱). شمار دام‌های دریافت‌کنندهٔ هر جیره دو نفر بود. جیره‌ها بر پایهٔ نیازهای نگهداری شتر (Wilson, 1998) به‌گونه‌ای تنظیم شد که میزان الیاف و پروتئین در این دو جیره نزدیک به همسان باشد.

جدول ۱. اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های تغذیه‌شده به شترهای تحت آزمایش (درصد)

Table 1. Ingredients and chemical composition of diets that fed to experimental camels (%)

Ingredients	diets	
	C_3 forages diet	C_4 forages diet
Atriplex L.	0	80
Suaeda F.	0	10
Seidlitzia R.	0	10
Alfalfa hay	40	0
Wheat straw	60	0
Chemical composition		
Dry matter	89.3	83
Crude protein	7.24	7.07
Neutral detergent fiber	68.1	61.78
Acid detergent fiber	43.45	38.73
Organic matter	91.81	81.2

جداسازی و کشت قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه

برای تهیهٔ مایع تلقیح قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه، پس از پایان دورهٔ عادت‌پذیری به جیره‌های آزمایشی (روز سی)، دو ساعت پس از آغاز خوراک‌دهی، مایع شکمبه از شترها گردآوری شد. شمار سه نمونه مایع شکمبه از قسمت‌های مختلف شکمبهٔ هر شتر برداشت و با هم مخلوط شدند. محتویات شکمبه با پارچهٔ توری چهار لایه صاف شد و با فلاسک گرم، بی‌درنگ به آزمایشگاه انتقال داده شد. همهٔ مراحل بالا در شرایط بی‌هوازی و در دمای ۳۹ درجهٔ سلسیوس انجام پذیرفت. برای حذف پروتوزوآ از مایع شکمبه، با استفاده از سانتریفیوژ (۱۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ده دقیقه)، رسوبات به‌وجودآمده که شامل لاشهٔ پروتوزوآ بود حذف شدند (Mohammadabadi *et al.*, 2012). جداسازی قارچ‌های شکمبه به‌وسیلهٔ محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه (Orpin, 1975 Makkar & McSweeney, 2005) در شرایط به‌طور کامل بی‌هوازی (با انتشار دی‌اکسید کربن در سطح محیط کشت) انجام پذیرفت. محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه شامل: ۱۵۰ میلی‌لیتر محلول نمکی شمارهٔ ۱ (۳۰ گرم فسفات هیدروژن دی پتاسیم در ۱ لیتر آب مقطر حل می‌شود)، ۱۵۰ میلی‌لیتر محلول نمکی ۲ (۳ گرم فسفات هیدروژن پتاسیم، ۶ گرم سولفات آمونیوم، ۶ گرم کلرید سدیم، ۰/۶ گرم کلرید کلسیم در ۱ لیتر آب مقطر حل می‌شود)، ۱۵۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه (سانتریفیوژشده در ۱۵۰۰۰ دور به مدت سی دقیقه)، ۲/۵ گرم عصارهٔ مخمر، ۱۰ گرم پپتون تریپتیکاز، ۰/۵ گرم گلوکز، ۱ گرم سلوبیوز، ۶ گرم بیکربنات سدیم، ۱ گرم سیستئین HCL و ۱ میلی‌لیتر ریزازورین به ازای هر لیتر محیط کشت است. محیط کشت تحت شرایط بی‌هوازی به درون شیشه‌های سرمی ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل شد. آنگاه به مدت پانزده دقیقه در دمای ۱۲۰ درجهٔ سلسیوس اتوکلاو شد. به‌این‌ترتیب محیط کشت اختصاصی قارچ آماده شد.

جدایه (ایزوله)های قارچ به‌عنوان مایع تلقیح به نسبت ۱ به ۹ (۵ میلی‌لیتر مایع تلقیح و ۴۵ میلی‌لیتر محیط کشت اختصاصی قارچ) در شیشه‌های سرمی که حاوی ۱ گرم از نمونه‌های آزمایشی (کاه گندم یا آتریپلکس) و پادزی (آنتی‌بیوتیک) کلرامفنیکل و پنی‌سیلین بودند، کشت داده شدند (Zhang *et al.*, 2007; Mohammadabadi *et al.*, 2012). سپس نمونه‌ها در اتاقک رشد (انکوباتور) در ۳۹ درجهٔ سلسیوس برای زمان‌های ۳، ۶ و ۹ روز کشت داده شدند (Chen *et al.*, 2003) و برای هر زمان شش تکرار در نظر گرفته شد. برای اطمینان از درستی کار و مناسب بودن محیط کشت، میزانی از محیط کشت‌ها به‌طور جداگانه درحالی‌که قارچ‌کش (بنومیل و متالاکسیل) نیز به محیط کشت‌ها اضافه شده بود نگهداری (انکوباسیون) شد و به‌تقریب هیچ‌گونه تولید گازی در ویال‌ها مشاهده نشد. این بررسی در چهار تیمار و بر پایهٔ یک آزمایش فاکتوریل ۲×۲ در قالب طرح کامل تصادفی طراحی شد.

عامل‌های آزمایشی این طرح شامل: ۱) منبع مایع شکمبه (از شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 و C_4) و

1. *Atriplex Leucoclada*
2. *Seidlitzia Rosmarinus*
3. *Suaeda Fruticusa*

۲) نوع بسترهٔ مورداستفاده در محیط کشت‌ها (کاه گندم و آتریپلکس) بود. بر این پایه تیمارهای آزمایشی شامل موارد زیر بودند: ۱) ویال‌های تلقیح‌شده با قارچ‌های شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 و کاه گندم به‌عنوان بستره؛ ۲) ویال‌های تلقیح‌شده با قارچ‌های شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 و آتریپلکس به‌عنوان بستره؛ ۳) ویال‌های تلقیح‌شده با قارچ‌های شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_4 و کاه گندم به‌عنوان بستره؛ ۴) ویال‌های تلقیح‌شده با قارچ‌های شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_4 و آتریپلکس به‌عنوان بستره.

پس از هر زمان کشت محتوای موجود در شیشه‌های حاوی نمونه و محیط کشت، با کراسیبل صاف شد و نمونهٔ باقی‌مانده در آون خشک شد و از تفاوت میزان اولیه و نهایی هر ترکیب، ناپدید شدن مادهٔ خشک، مادهٔ آلی و دیوارهٔ یاخته‌ای در محیط کشت‌ها محاسبه شد. همچنین فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کنندهٔ الیاف در محیط کشت قارچ‌های شکمبه بررسی شد.

تعیین تولید گاز به‌وسیلهٔ کل ریزجانداران و قارچ‌های شکمبه

تولید گاز تولیدی از تخمیر کاه گندم و آتریپلکس توسط کل ریزجانداران و قارچ‌های شکمبه در ویال‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری که حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه، ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی و ۱۰ میلی‌لیتر مایع شکمبهٔ کامل و یا محیط حاوی قارچ‌های شکمبه بود، با فشارسنج اندازه‌گیری شد. برای تبدیل عدد فشارسنج به حجم گاز، از سرنگ مدرج استفاده شد بدین‌صورت که در آغاز آزمایش همراه با صد نمونه از فشارهای ثبت‌شده، حجم گاز تولیدی نیز با سرنگ اندازه‌گیری شد. سپس با رسم نمودار در نرم‌افزار Excel، معادلهٔ نمایی منحنی به دست آمد و داده‌های فشار به حجم گاز تبدیل شد (Theodorou *et al.*, 1994). بزاق مصنوعی با مخلوط کردن ۲۴۰ میلی‌لیتر محلول کانی پرنیاز (شامل: ۵/۷ گرم فسفات هیدروژن سدیم،۶/۲ گرم فسفات هیدروژن پتاسیم و ۰/۶ گرم سولفات منیزیم)، ۲۴۰ میلی‌لیتر بافر، ۰/۱۲ میلی‌لیتر محلول کانی کم‌نیاز (شامل: ۱۳/۲ گرم کلرید کلسیم، ۱۰/۰ گرم کلرید منگنز، ۱/۰ گرم کلرید کبالت و ۰/۸ گرم کلرید آهن)، ۱/۲۲ میلی‌لیتر محلول ریزازورین و ۴۰ میلی‌لیتر محلول احیا تهیه شد. مایع شکمبهٔ تلقیحی به ویال‌ها در این قسمت از آزمایش دو نوع بود. یکی مایع شکمبهٔ کامل که به‌صورت تازه از شکمبهٔ دام‌های تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی دریافت شده بود و دیگری شامل مایع به‌دست‌آمده از محیط کشت‌های اختصاصی قارچ‌های شکمبهٔ شترها بود، بدین‌صورت که در ظروفی جداگانهٔ حاوی محیط کشت اختصاصی قارچ‌ها، مایع شکمبه به مدت ۱۲۰ ساعت واکشت شد. مایع شکمبهٔ کامل و محتویات محیط کشت، از پارچهٔ توری چندلایه عبور داده شدند و در تلقیح ویال‌های آزمایشی استفاده شدند.

تولید گاز، در دمای ۳۹ درجهٔ سلسیوس در زمان‌های ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶، ۱۲۰، ۱۴۴، ۱۶۸، ۱۹۲ و ۲۱۶ ساعت اندازه‌گیری شد. نتایج به‌دست‌آمده از تولید گاز در محیط کشت‌های متفاوت با استفاده از معادلهٔ نمایی Orskov & McDonald (1979) برای تعیین فراسنجه‌های مربوط در نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل شدند.

$$Y= b\,(1-e^{-ct})$$

در این معادله Y برابر با تولید گاز از مادهٔ خوراکی در زمان t است، b برابر با تولید گاز از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر) و c، ثابت تولید گاز (بر ساعت) است.

همچنین دیگر مشخصه (پارامتر)های آزمایش تولید گاز با معادله‌های زیر محاسبه شد (Blummel *et al.*, 1997).

عامل جداسازی (PF)[1] =

$$\frac{\text{مادهٔ آلی گوارش‌شدهٔ واقعی (میلی‌گرم)}}{\text{کل گاز تولیدی (میلی‌لیتر)}}$$

تودهٔ میکروبی (میلی‌گرم) =

مادهٔ آلی گوارش‌شدهٔ واقعی (میلی‌گرم) - (گاز تولیدی ×۲/۲)

درصد بازدهٔ تودهٔ میکروبی (درصد) =

$$\frac{\text{تودهٔ میکروبی (میلی‌گرم)}}{\text{مادهٔ آلی گوارش‌شدهٔ واقعی (میلی‌گرم)}} \times ۱۰۰$$

1. Partitioning factor

تجزیهٔ شیمیایی

میزان مادهٔ آلی بر پایهٔ روش شمارهٔ ۹۲۴/۰۵ (AOAC, 2000) و الیاف نامحلول در شویندهٔ خنثی با روش Van Soest *et al.* (1991) محاسبه شد. میزان پروتئین خام، مادهٔ آلی و دیوارهٔ یاخته‌ای در بستره‌ها به ترتیب برای کاه برابر با ۳/۶، ۹۲/۲ و ۷۸ درصد و برای آتریپلکس به ترتیب برابر با ۴/۲، ۸۳/۱ و ۶۸/۵ درصد بود. نیتروژن آمونیاکی محیط کشت‌ها برابر روش فنل هیپوکلریت (Broderick & Kang, 1980) با استفاده از دستگاه طیف‌نگار نوری (اسپکترو فتومتر) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کنندهٔ الیاف بر پایهٔ روش دی‌نیتروسالیسیلیک اسید (DNS) انجام پذیرفت، بدین‌صورت که به ترتیب از بسترهای کربوکسی‌متیل سلولز و آویسل برای سنجش آنزیم‌های گلوکاناز درونی و بیرونی استفاده شد (Colombatto & Beauchemin, 2003). محتویات محیط کشت در دور ۲۷۰۰۰ به مدت بیست دقیقه سانتریفیوژ شدند و درنهایت میزان گلوکز آزادشده از این بسترها در اثر آنزیم‌های محیط کشت، سانتریفیوژ شده و برای سنجش میزان فعالیت آنزیم‌های سلولازی استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های به‌دست‌آمده در این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS (2005) با رویهٔ GLM تجزیه‌وتحلیل شدند. این بررسی بر پایهٔ یک آزمایش فاکتوریل ۲×۲ در قالب طرح کامل تصادفی بررسی شد. مدل آماری طرح $Y_{ijk} = \mu+\alpha_i+\beta_j+\alpha\beta_{ij}+\varepsilon_{ijk}$ بود. اطلاعات مربوط به میانگین گاز تولیدشده با استفاده از روش اندازه‌گیری‌های تکرارشده در زمان، بر پایهٔ مدل $Y_{ijk} = \mu+D_i+T_j+DT_{ij}+\varepsilon_{ijk}$ تجزیه‌وتحلیل شد که در این معادله D_i: اثر تیمارهای آزمایشی؛ T_j: اثر زمان و DT_{ij}: اثر متقابل تیمار در زمان است. میانگین تیمارها با آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شد.

نتایج و بحث

نتایج به‌دست‌آمده در ارتباط با مایع شکمبهٔ کامل بدین‌صورت بود که قابلیت تولید گاز ($P\leq۰/۰۵$) و نرخ تولید گاز ($P\leq۰/۰۱$) در محیط کشت‌های تلقیح‌شده با مایع شکمبهٔ تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (جدول ۲). درحالی‌که کل گاز تولیدشده با نوع مایع شکمبه تحت تأثیر قرار نگرفت. میزان گاز تولیدشده در آزمایش تولید گاز به‌طور مستقیم در ارتباط با تجزیه‌پذیری مواد و همچنین واکنش بین اسیدهای چرب فرار و بافر بیکربنات است که منجر به تولید دی‌اکسید کربن می‌شود (Schofield *et al.*, 1994). دربارهٔ نوع بستره، مشاهده شد که قابلیت تولید گاز برای آتریپلکس افزایش یافت اما نرخ تولید گاز در بسترهٔ کاه گندم بالاتر بود ($P\leq۰/۰۱$).

حجم گاز تولیدشده توسط کل ریزجانداران، تحت تأثیر نوع بستره قرار نگرفت. گزارش شده است که مؤلفه‌های a و b در آزمایش تولید گاز با مایع شکمبهٔ شتر برای آتریپلکس به ترتیب ۲۰۷ میلی‌لیتر بر گرم و ۲/۱ درصد و برای کاه گندم به ترتیب ۲۸۴ میلی‌لیتر بر گرم و ۱/۵ درصد به ازای هر ساعت بود (Haddi *et al.*, 2009).

نتایج اثرات متقابل بین مایع شکمبه و بستره مشخص کرد که قابلیت تولید گاز به‌طور معنی‌داری در تیمارهای ۲ و ۴ تغذیه‌شده با بسترهٔ آتریپلکس بالاتر بود، اما نرخ تولید گاز در تیمار ۱ بالاتر بود ($P\leq۰/۰۱$). همچنین پس از نودوشش ساعت، حجم کل گاز تولیدشده برای تیمارهای ۱ و ۴ به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($P\leq۰/۰۱$). چنین نتایجی همچنین ممکن است مربوط به سوخت‌وسازگر (متابولیت)های ثانویهٔ موجود در آتریپلکس شامل اگزالات‌ها، تانن‌ها و ساپونین‌ها باشد که ممکن است تخمیر در شکمبه را کاهش دهند. نتایج همسانی توسط Shawket & Ahmed (2009) و Abu-Zanat & Tabbaa (2006) گزارش شده بود. Blummel *et al.* (1997) مشاهده کردند که تولید گاز به‌وسیلهٔ تانن‌ها جلوگیری می‌شود. نتایج این آزمایش نشان داد که در تیمار ۱ و ۴، ریزجانداران مایع شکمبه با بستره سازگاری داشتند بنابراین تولید گاز افزایش یافت. در این رابطه Cone *et al.* (1996) نشان دادند که منحنی تولید گاز با سازش‌پذیری ریزجانداران شکمبه که در معرض نوع خوراک بودند، تحت تأثیر قرار گرفت. در بررسی فراسنجه‌های گاز تولیدشده از مایع شکمبهٔ کامل، هیچ اختلاف معنی‌داری در PF، تودهٔ میکروبی، درصد بازدهٔ

تودهٔ میکروبی و تجزیه‌پذیری حقیقی مادهٔ آلی بین منبع مایع شکمبه‌ای مشاهده نشد (جدول ۳). به‌هرحال، تودهٔ میکروبی و تجزیه‌پذیری حقیقی مادهٔ آلی به‌طور معنی‌داری با نوع بستره تحت تأثیر واقع شدند که در تیمارهای کاه گندم بالاتر بودند (P≤۰/۰۱).

جدول۲. مؤلفه‌های تولید گاز آتریپلکس و کاه گندم در محیط کشت کل ریزجانداران شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 و C_4

Table 2. Gas production kinetics of atriplex and straw incubated by rumen fluid of camels fed C_3 and C_4 forage

Effects	b ($ml_{for\ 1gr}$)	c (/h)	Total gas of 96h ($ml_{for\ 200gr}$)
Source of rumen content (Main effect)			
Rumen fluid of camels fed C_3 forages	151.60 [a]	0.006 [a]	39.38
Rumen fluid of camels fed C_4 forages	126.89 [b]	0.004 [b]	36.18
SEM	7.659	0.0004	1.364
Sig	*	**	NS
Substrate (Main effect)			
Wheat Straw	80.24 [b]	0.008 [a]	39.01
Atriplex	198.25 [a]	0.002 [b]	36.55
SEM	7.659	0.0004	1.364
Sig	**	**	NS
Interaction			
Treatment 1	83.11 [c]	0.010 [a]	49.77 [a]
Treatment 2	220.09 [a]	0.001 [c]	28.98 [b]
Treatment 3	77.37 [c]	0.005 [b]	28.23 [b]
Treatment 4	176.41 [b]	0.003 [c]	44.12 [a]
SEM	10.831	0.0006	1.929
Sig	**	**	**

a, b: حروف ناهمسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ اختلاف بین میانگین‌هاست.

SEM: خطای استاندارد میانگین؛ NS: اختلاف غیرمعنی‌دار؛ c: نرخ تولید گاز؛ b: قابلیت تولید گاز

تیمارها شامل: ۱- مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C3× بسترهٔ کاه گندم / ۲. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C3 × بسترهٔ آتریپلکس

۳. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C4 × بسترهٔ کاه گندم / ۴. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C4 × بسترهٔ آتریپلکس

a, b: Row means with common superscripts do not differ (P > 0.05); SEM = standard error of mean; NS = non-significant; c = gas production rate; b = potential gas production

Treatments containing: 1. Rumen fluid of camels that fed C3 forages × Wheat straw as substrate

2. Rumen fluid of camels that fed C3 forages × Atriplex L. as substrate

3. Rumen fluid of camels that fed C4 forages × Wheat straw as substrate

4. Rumen fluid of camels that fed C4 forages × Atriplex L. as substrate

اثرات متقابل بین منبع مایع شکمبه و بستره نشان داد که تنها تودهٔ میکروبی و تجزیه‌پذیری حقیقی مادهٔ آلی در تیمار ۱ بالاتر از دیگر تیمارها بود (P≤۰/۰۱). البته اطلاعات اندکی دربارهٔ آزمایش تولید گاز علوفه‌ها در ارتباط با مایع شکمبهٔ شتر وجود دارد.

میزان PF بایستی در یک محدوده بین ۴/۴-۲/۷ باشد (Blummel *et al.*, 1997). مقادیر پایین PF، بازدهٔ پایین ساخت پروتئین میکروبی را نشان می‌دهد. این بدین معنی است که سهم بیشتری از خوراک هضم‌شده برای تولید گاز استفاده می‌شود و کمتر به ساخت پروتئین میکروبی تخصیص داده می‌شود (Hassan Sallam *et al.*, 2010). محققان گزارش کردند که حضور منابع حاوی تانن منجر به افزایش PF می‌شود که این حالت تحت عنوان یک اثر مثبت در تغذیهٔ پروتئین به شتر شناخته شده است (Angaji *et al.*, 2011). اما نتایج مربوط به PF در آزمایش ما در آتریپلکس با نتایج پژوهش‌های Angaji *et al.* (2011) یکسان نبودند و هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. این ممکن است به علت تجزیهٔ تانن با میکروب‌های شکمبه باشد که پیش‌تر سازش یافته‌اند.

نتایج این آزمایش در بررسی گاز تولیدشده توسط جدایه‌های قارچی شکمبهٔ شترها (جدول ۴) نشان داد که قابلیت تولید گاز (b) تحت تأثیر نوع مایع شکمبه قرار نگرفت اما همانند نتایج مربوط به مایع شکمبهٔ کامل، نرخ تولید گاز (c) به‌طور معنی‌داری در تیمارهای تلقیح‌شده با مایع شکمبه، بیشتر تحت تأثیر علوفهٔ C_3 بود (P≤۰/۰۵). البته کل گاز تولیدی در تیمارهای تلقیح‌شده با مایع شکمبه، بیشتر تحت تأثیر علوفهٔ C_4 بود (P≤۰/۰۵). در جدایه‌های قارچ‌های شکمبه، همسان با کل ریزجانداران، نوع بستره به‌طور معنی‌داری بر قابلیت و نرخ تولید گاز تأثیر گذاشت (P≤۰/۰۱). بدین‌صورت که در تیمارهای تغذیه‌شده با بسترهٔ آتریپلکس قابلیت تولید گاز بیشتر از تیمارهای تغذیه‌شده

با بسترۀ کاه بود اما نرخ تولید گاز در تیمارهای با بسترۀ کاه بیشتر بود. با بررسی اثرات متقابل بین نوع مایع شکمبه و نوع بستره مشاهده شد که بیشترین قابلیت تولید گاز در تیماری است که با مایع شکمبۀ علوفۀ C_4 و بسترۀ آتریپلکس تلقیح شده است (تیمار ۴) اما تیمارهای ۱ و ۳ که هر دو از بسترۀ کاه استفاده کرده بودند قابلیت تولید گاز کمتری نسبت به تیمار ۴ داشتند و تیمار ۲ کمترین مقدار بود (P≤۰/۰۱).

جدول ۳. فراسنجه‌های تولید گاز آتریپلکس و کاه گندم در محیط کشت کل ریزجانداران شکمبۀ شترهای تغذیه‌شده با علوفۀ C_3 و C_4

Table 3. GP parameters of atriplex and straw incubated by rumen fluid of camels fed C_3 and C_4 forage

Effects	PF (mg/ml)	Microbial biomass (mg)	Efficiency of microbial biomass (%)	Truly OM degradability (g/kg)
Source of rumen content (Main effect)				
Rumen fluid of camels fed C_3 forages	3.82	42.05	31.55	74.87
Rumen fluid of camels fed C_4 forages	3.99	44.19	30.71	70.51
SEM	0.130	1.879	1.519	1.753
Sig	NS	NS	NS	NS
Substrate (Main effect)				
Wheat Straw	4.07	35.07 [a]	45.58	77.98 [a]
Atriplex	3.74	27.18 [b]	40.67	67.39 [b]
SEM	0.130	1.519	1.879	1.753
Sig	NS	**	NS	**
Interaction				
Treatment 1	3.81	42.02 [a]	42.14	94.78 [a]
Treatment 2	3.84	23.08 [c]	41.96	54.96 [c]
Treatment 3	4.34	30.12 [b]	49.02	61.18 [c]
Treatment 4	3.64	31.29 [b]	39.37	79.83 [b]
SEM	0.185	2.149	2.658	2.470
Sig	NS	**	NS	**

a, b, c: حروف ناهمسان در هر ستون نشان‌دهندۀ اختلاف بین میانگین‌هاست؛ SEM: خطای استاندارد میانگین؛ NS: اختلاف غیر معنی‌دار؛PF : عامل جداسازی

تیمارها شامل: ۱. مایع شکمبۀ شترهای تغذیه‌شده با علوفۀ C_3 × بسترۀ کاه گندم / ۲. مایع شکمبۀ شترهای تغذیه‌شده با علوفۀ C_3 × بسترۀ آتریپلکس

۳. مایع شکمبۀ شترهای تغذیه‌شده با علوفۀ C_4 × بسترۀ کاه گندم / ۴. مایع شکمبۀ شترهای تغذیه‌شده با علوفۀ C_4 × بسترۀ آتریپلکس

a, b, c: Row means with common superscripts do not differ; SEM = standard error of mean; NS = non-significant ;PF= Partitioning Factor

Treatments containing: 1. Rumen fluid of camels that fed C_3 forages × Wheat straw as substrate

2. Rumen fluid of camels that fed C_3 forages × Atriplex L. as substrate

3. Rumen fluid of camels that fed C_4 forages × Wheat straw as substrate

4. Rumen fluid of camels that fed C_4 forages × Atriplex L. as substrate

جدول ۴. مؤلفه‌های تولید گاز آتریپلکس و کاه گندم در محیط کشت قارچ‌های بی‌هوازی شکمبۀ شترهای تغذیه‌شده با علوفۀ C_3 و C_4

Table 4. Gas production kinetics of atriplex and straw incubated by rumen fungi media of camels fed C_3 and C_4 forage

Effects	b ($ml_{for\ 1gr}$)	C (/h)	Total gas of 9 d ($ml_{for\ 200gr}$)
Source of rumen content (Main effect)			
Rumen fluid of camels fed C_3 forages	128.17	0.004 [a]	43.79 [b]
Rumen fluid of camels fed C_4 forages	135.33	0.003 [b]	47.84 [a]
SEM	8.830	0.0002	1.265
Sig	NS	*	*
Substrate (Main effect)			
Wheat Straw	68.08 [b]	0.006 [a]	44.81
Atriplex	195.42 [a]	0.0008 [b]	46.82
SEM	8.830	0.0002	1.265
Sig	**	**	NS
Interaction			
Treatment 1	61.77 [b]	0.007 [a]	44.65 [b]
Treatment 2	194.57 [a]	0.0006 [c]	42.93 [b]
Treatment 3	74.40 [b]	0.005 [b]	44.96 [b]
Treatment 4	196.27 [a]	0.001 [c]	50.71 [a]
SEM	12.488	0.0003	1.790
Sig	**	**	**

a, b: حروف ناهمسان در هر ستون نشان‌دهندۀ اختلاف بین میانگین‌هاست. SEM: خطای استاندارد میانگین؛ NS: اختلاف غیر معنی‌دار؛ c: نرخ تولید گاز؛ b: قابلیت تولید گاز

تیمارها شامل: ۱. مایع شکمبۀ شترهای تغذیه‌شده با علوفۀ C_3 × بسترۀ کاه گندم / ۲. مایع شکمبۀ شترهای تغذیه‌شده با علوفۀ C_3 × بسترۀ آتریپلکس

۳. مایع شکمبۀ شترهای تغذیه‌شده با علوفۀ C_4 × بسترۀ کاه گندم / ۴. مایع شکمبۀ شترهای تغذیه‌شده با علوفۀ C_4 × بسترۀ آتریپلکس

a, b: Row means with common superscripts do not differ (P > 0.05); SEM = standard error of mean; NS = non-significant; c = gas production rate; b = potential gas production

Treatments containing: 1. Rumen fluid of camels that fed C_3 forages × Wheat straw as substrate

2. Rumen fluid of camels that fed C_3 forages × Atriplex L. as substrate

3. Rumen fluid of camels that fed C_4 forages × Wheat straw as substrate

4. Rumen fluid of camels that fed C_4 forages × Atriplex L. as substrate

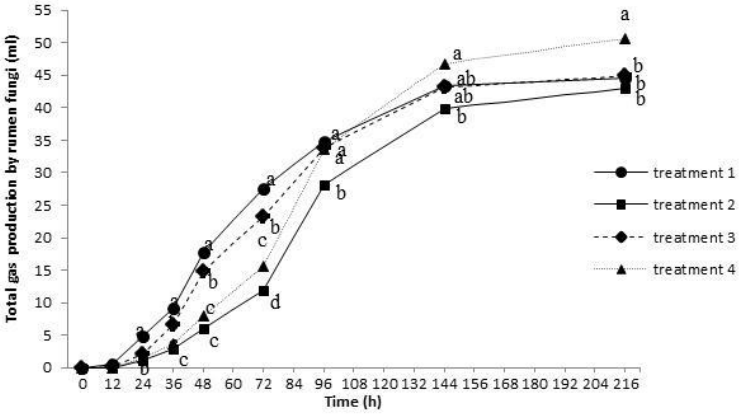
به نظر می‌رسد در تیمار ۲ که از بسترهٔ آتریپلکس استفاده کرده است به دلیل ناسازگاری قارچ‌های شکمبه با نوع بستره، کاهش قابلیت تولید گاز رخ داده است. گزارش شده است که گیاهان مناطق گرمسیری حاوی نمک زیاد و ترکیبات ضد تغذیه‌ای ازجمله تانن، اگزالات و ساپونین هستند که منجر به اختلال در فعالیت طبیعی شکمبه می‌شود (Shawket & Ahmed, 2009). تحقیقات نشان داده قسمت‌های پلیمری عصارهٔ تانن از تولید متان جلوگیری می‌کند. همچنین، اثر تانن روی تولید متان می‌تواند ناشی از تأثیر غیرمستقیم آن روی تولید هیدروژن و به‌احتمال کاهش تجزیه‌پذیری علوفه‌ها و یا ناشی از تأثیرات مستقیم بازدارندگی آن‌ها روی تولید متان باشد (Tavendale *et al.*, 2005). همچنین گزارش شده است که ریزجانداران برای رویارویی با سدیم اضافی و خروج آن از محوطهٔ سیتوپلاسمی، مجبور به استفاده از ATP در سامانهٔ پمپ یونی وابسته به ATPase هستند و لذا منابع انرژی به‌جای استفاده در رشد و بقاء آن‌ها صرف دفع یون‌های سدیم می‌شود (Russell & Strobel, 1989). البته همان‌گونه که مشاهده می‌کنید در تیمار ۴ که مایع شکمبه با بستره سازش داشته این اتفاق رخ نداده است. بر همین پایه Teferedegne (2000) گزارش کرد که ریزجانداران شکمبه می‌توانند با سوخت‌وسازگرهای ثانویهٔ گیاهی سازش پیدا و آن‌ها را تجزیه کنند. نتایج نشان داد که نرخ تولید گاز نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P\leq۰/۰۱$)، به‌گونه‌ای که در تیمارهای ۲ و ۴ که بسترهٔ آتریپلکس داشتند، کمترین میزان بود. کل گاز تولیدی نیز در این آزمایش به‌طور معنی‌داری در تیمار ۴ بالاتر از دیگر تیمارها بود ($P\leq۰/۰۱$).

شکل ۱ روند تولید گاز جدایه‌های قارچی شکمبهٔ شترها را در ساعت‌های مختلف آزمایش نشان می‌دهد. همان‌گونه که پیداست میزان گاز تولیدشده در تیمارهای ۲ و ۴ تا ۷۲ ساعت با شیب کمتری نسبت به تیمارهای ۱ و ۳ افزایش می‌یابد اما در تیمار ۴ پسازاین ساعت‌ها شیب نمودار تولید گاز، با سرعت بیشتری افزایش‌یافته به‌طوری‌که از حدود ۱۲۰ ساعت به بعد میزان گاز تولیدی این تیمار از دیگر تیمارها بیشتر می‌شود.

به‌نظر می‌رسد علت تأخیر اولیه در تولید گاز تیمارهای ۲ و ۴ همان مواد و ترکیبات ضد تغذیه‌ای موجود در آتریپلکس باشد که تخمیر مناسب را دچار اختلال کرده است. آتریپلکس ترکیبات ضد تغذیه‌ای تانن، اگزالات و ساپونین دارد که فعالیت‌های تخمیری در شکمبه را مختل می‌کنند (Shawket & Ahmed, 2009). میزان کل ترکیبات فنولی، کل تانن و تانن متراکم در آتریپلکس به ترتیب ۸، ۴ و ۰/۲ گرم به ازای هر کیلوگرم مادهٔ خشک بیان شد (Soltan *et al.*, 2012). همچنین گزارش شده که تانن‌های متراکم در گیاهان علوفه‌ای، ریزجانداران دستگاه گوارش را مهار کرده و عملکرد نشخوارکنندگان را کاهش می‌دهند (Smith *et al.*, 2005). قارچ‌ها به ساپونین حساس‌اند و حتی غلظت‌های پایین ساپونین موجب متوقف کردن رشد و فعالیتشان می‌شود (Wang *et al.*, 2000). اما در این آزمایش مشخص شد که اثرات این ترکیبات در ساعت‌های میانی و پایانی آزمایش در تیمار ۴ که حاوی مایع شکمبهٔ C_4 و بسترهٔ آتریپلکس بوده ناپدید گشته و روند فعالیت میکروبی از سر گرفته شده است.

به نظر می‌رسد علت این امر توانایی قارچ‌ها در تجزیه و خنثی‌سازی این مواد ضد تغذیه‌ای باشد چراکه در این تیمار، مایع شکمبه پیش‌تر به بستره سازش یافته بود (Teferedegne, 2000). البته ناگفته نماند که به‌طورکلی قارچ‌ها در ساعت‌های پایانی آزمایش فعالیت بیشتری نسبت به باکتری‌ها و پروتوزوآ دارند (Lee *et al.*, 2000). در بررسی فراسنجه‌های تولید گاز قارچ‌های شکمبهٔ شتر در جدول ۵، نوع مایع شکمبه هیچ تأثیر معنی‌داری بر این فراسنجه‌ها نداشته است. همچنین نوع بستره نیز نتوانسته است اختلاف معنی‌داری ایجاد کند. اما با بررسی اثرات متقابل مشخص شد عامل جداسازی (PF) تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. ولی تولید تودهٔ میکروبی به‌طور معنی‌داری در تیمار ۱ و ۴ بیش از دیگر تیمارها بود و تیمار ۲ کمترین میزان تودهٔ میکروبی را به خود اختصاص داد ($P\leq۰/۰۱$). چنین

نتیجه‌ای در نتایج سنجش کل ریزجانداران نیز مشهود بود. گزارش شده که افزایش در تودهٔ میکروبی نشان‌دهندهٔ این است که انرژی تولیدی از افزایش در سرعت تخمیر الیاف، منجر به تولید پروتئین میکروبی توسط جدایه‌های قارچی شده است (Sirohi *et al.*, 2012).



شکل ۱. میزان گاز تولیدشده توسط محیط کشت قارچ‌های شکمبهٔ شتر با بستره‌های کاه و آتریپلکس در ساعت‌های مختلف نگهداری (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم بستره)

تیمارها شامل: ۱. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 × بسترهٔ کاه گندم

۲. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 × بسترهٔ آتریپلکس

۳. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_4 × بسترهٔ کاه گندم

۴. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_4 × بسترهٔ آتریپلکس

Figure 1. Gas production curve of rumen fungi media of camels with atriplex and wheat straw substrate in several time (ml/200mg $_{substrate}$)

Treatments containing: 1. Rumen fluid of camels that fed C_3 forages × Wheat straw as substrate
2. Rumen fluid of camels that fed C_3 forages × Atriplex L. as substrate
3. Rumen fluid of camels that fed C_4 forages × Wheat straw as substrate
4. Rumen fluid of camels that fed C_4 forages × Atriplex L. as substrate

جدول ۵. فراسنجه‌های تولید گاز آتریپلکس و کاه گندم در محیط کشت قارچ‌های بی‌هوازی شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 و C_4

Table 5. GP parameters of atriplex and straw incubated rumen fungi media of camels fed C_3 and C_4 forage

Effects	PF (mg/ml)	Microbial biomass (mg)	Efficiency of microbial biomass (%)	Truly OM degradability (g/kg)
Source of rumen content (Main effect)				
Rumen fluid of camels fed C_3 forages	4.81	58.35	53.17	107.49
Rumen fluid of camels fed C_4 forages	4.83	64.55	53.84	118.42
SEM	0.252	4.99	2.525	4.902
Sig	NS	NS	NS	NS
Substrate (Main effect)				
Wheat Straw	4.88	60.97	54.20	111.42
Atriplex	4.76	61.93	52.81	114.49
SEM	0.252	4.99	2.52	4.902
Sig	NS	NS	NS	NS
Interaction				
Treatment 1	5.28	70.02 ^{ab}	58.09	120.30 ^{ab}
Treatment 2	4.34	46.67 ^{c}	48.26	94.68 ^{c}
Treatment 3	4.48	51.63 ^{bc}	50.32	102.54 ^{bc}
Treatment 4	5.18	77.18 ^{a}	57.36	134.31 ^{a}
SEM	0.356	7.057	3.572	6.932
Sig	NS	**	NS	**

a, b, c: حروف ناهمسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ اختلاف بین میانگین‌هاست؛ SEM: خطای استاندارد میانگین؛ NS: اختلاف غیر معنی‌دار؛ PF: عامل جداسازی

تیمارها شامل: ۱. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 × بسترهٔ کاه گندم / ۲. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 × بسترهٔ آتریپلکس

۳. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_4 × بسترهٔ کاه گندم / ۴. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_4 × بسترهٔ آتریپلکس

a, b, c: Row means with common superscripts do not differ; SEM = standard error of mean; NS = non-significant; PF= Partitioning Factor

Treatments containing: 1. Rumen fluid of camels that fed C_3 forages × Wheat straw as substrate
2. Rumen fluid of camels that fed C_3 forages × Atriplex L. as substrate
3. Rumen fluid of camels that fed C_4 forages × Wheat straw as substrate
4. Rumen fluid of camels that fed C_4 forages × Atriplex L. as substrate

البته در تیمار ۲ که از بسترهٔ آتریپلکس که حاوی نمک بالایی است استفاده شده، به نظر می‌رسد قارچ‌ها برای رویارویی با سدیم اضافی از ATP استفاده می‌کنند و لذا منابع انرژی صرف اخراج یون‌های سدیم می‌شود و این امر ممکن است تودهٔ میکروبی را کاهش دهد (Russell & Strobel, 1989). بیشتر شدن شاخص تودهٔ میکروبی در تیمار ۴ نشان‌دهندهٔ آن است که مادهٔ آلی بیشتری گوارش شده و به تودهٔ میکروبی وارد شده است. مادهٔ آلی گوارش‌شدهٔ واقعی نیز همسان کار با مایع شکمبهٔ کامل، به‌طور معنی داری در تیمار ۴ بیشترین بود (P≤۰/۰۱). همانگونه که پیش‌تر گفته شد آتریپلکس ترکیبات فنولی ضد تغذیه‌ای مانند تانن، اگزالات و ساپونین دارد. این ترکیبات ممکن است تأثیر بر ریزجانداران شکمبه را از چند راه مانند تجزیهٔ دیوارهٔ یاخته‌ای، تراوش محتویات یاخته‌ای، آسیب به غشای سیتوپلاسم و کاهش حرکت پروتون‌ها اعمال کنند و ممکن است ترکیبات فنولی، مواد مغذی از جمله کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها را باند و ریزجانداران را از راه مهار آنزیم‌های آنها غیرفعال کرده و در نهایت از تجزیهٔ میکروبی جلوگیری نماید (El Shaer, 2010; Sliwinski *et al.*, 2002). همراه با بیشتر بودن تولید گاز در تیمار ۴، تولید تودهٔ میکروبی و مادهٔ آلی گوارش‌شدهٔ واقعی نیز در آن بالاست. به نظر می‌رسد کاهش تولید تودهٔ میکروبی در تیمار ۲ به چند دلیل تحت اثرات منفی عامل‌های ضد تغذیه‌ای نباشد، اول اینکه اثرات سوء مواد ضد تغذیه‌ای اغلب با بیش از ۴ درصد مادهٔ خشک ایجاد می‌شود دوم اینکه اگر بالا بودن ترکیبات فنولی عامل کاهش تودهٔ میکروبی باشد پس گیاه آتریپلکس که حاوی فنول بالاتری نسبت به کاه گندم است نباید تولید تودهٔ میکروبی بالاتری داشته باشد. به‌طور یقین می‌توان علت این امر را سازگاری مایع شکمبه با بستره دانست. گزارش شده است، هنگامی جمعیت میکروبی شکمبه در معرض مواد سمی قرار گیرد، تغییر می‌کند و این پدیده اجازه می‌دهد تحمل نشخوارکنندگان در برابر برخی سوخت‌وسازگرهای سمی گیاهی افزایش یابد (Smith, 1992). از سوی دیگر، در تیمار ۲ که این همگونی بین مایع شکمبه و بستره وجود ندارد در نتیجه گاز تولیدی، تولید تودهٔ میکروبی و مادهٔ آلی گوارش‌شدهٔ واقعی کمترین مقدار است.

نتایج ناشی از تغییرات نیتروژن آمونیاکی محیط کشت‌ها (جدول۶) نشان داد که غلظت نیتروژن آمونیاکی در روزهای شش و نه آزمایش در تیمارهای با مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_4 بیشتر از دیگر تیمارها بود (P≤۰/۰۱). همچنین در روز سوم آزمایش میزان نیتروژن آمونیاکی در تیمارهای دارای بسترهٔ کاه به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (P≤۰/۰۱) اما در روز شش آزمایش در تیمارهای دارای بسترهٔ آتریپلکس بیشتر شد (P≤۰/۰۱) و این نشان‌دهندهٔ افزایش فعالیت میکروبی در ساعت‌های پایانی آزمایش در تیمارهای با بسترهٔ آتریپلکس است. با توجه به میانگین داده‌های تودهٔ میکروبی در جدول ۵، در بخش اثرات متقابل مشاهده می‌شود که در تیمار ۴ که بسترهٔ آتریپلکس دریافت کرده است و مایع شکمبهٔ تلقیح‌شده در آن با بستره سازش دارد، تودهٔ میکروبی افزایش یافته است و این نتایج برابر با نتایج جدول ۶ در بخش اثرات متقابل است. با توجه به اینکه تودهٔ میکروبی در زمان پایانی نگهداری اندازه‌گیری شده است پس برای سازگاری با تولید نیتروژن آمونیاکی باید میانگین‌های مربوط به روز نهم آزمایش مقایسه شود که به‌طور کامل در نمایش فعالیت میکروبی برابر با هم هستند. در بررسی اثرات متقابل، روند تغییرات نیتروژن آمونیاکی بدین صورت بود که در روز سوم آزمایش به‌طور معنی‌داری کمترین میزان نیتروژن آمونیاکی به تیمار ۲ اختصاص داشت (P≤۰/۰۱) و دیگر تیمارها مقادیر همسانی نیتروژن آمونیاکی تولید کرده بودند.

در روز ششم و نهم آزمایش در تیمار ۴ بیشترین تولید نیتروژن آمونیاکی مشاهده شد و سپس تیمار ۱ و در ادامه دو تیمار ۲ و ۳ قرار داشتند (P≤۰/۰۱). گیاهان گرمسیری، نیتروژن در دسترس کمی دارند زیرا در آن‌ها ترکیبات نیتروژن‌دار بین یاخته‌های غلاف آوندی بسته شده‌اند و از تجزیهٔ میکروبی مصون می‌مانند (Heckathorn *et al.*, 1999). از سوی دیگر گزارش شده است که در ترکیبات تانن‌دار، تجزیهٔ پروتئین کاهش می‌یابد چراکه تانن با پروتئین خوراک باند شده و آن را غیرقابل‌دسترس می‌کند (Waghorn

(*et al.*, 1994) و همچنین با کاهش ریزجانداران تجزیه‌کنندهٔ پروتئین باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی می‌شود (Min *et al.*, 2005). با توجه به موارد گفته‌شده به نظر می‌رسد همان سازش میکروبی در تیمار ۴ که پیش‌تر به آن اشاره شد عامل بیشتر شدن نیتروژن آمونیاکی در این تیمار باشد.

جدول ۶. نیتروژن آمونیاکی محیط کشت قارچ‌های شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 و C_4 در زمان‌های مختلف نگهداری (گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر)

Table 6. Ammonia-N of rumen fungi media of camels fed C_3 and C_4 forage in several time ($gr/_{100ml}$)

Time	3d	6d	9d
Source of rumen content (Main effect)			
Rumen fluid of camels fed C_3 forages	7.02	8.88 [b]	11.20 [b]
Rumen fluid of camels fed C_4 forages	7.36	9.52 [a]	12.26 [a]
SEM	0.107	0.126	0.120
Sig	NS	**	**
Substrate (Main effect)			
Wheat Straw	7.59 [a]	8.90 [b]	11.83
Atriplex	6.79 [b]	9.51 [a]	11.63
SEM	0.107	0.126	0.120
Sig	**	**	NS
Interaction			
Treatment 1	7.73 [a]	9.51 [b]	12.39 [b]
Treatment 2	6.32 [b]	8.26 [c]	10.01 [d]
Treatment 3	7.46 [a]	8.28 [c]	11.27 [c]
Treatment 4	7.26 [a]	10.75 [a]	13.25 [a]
SEM	0.152	0.179	0.171
Sig	**	**	**

a, b: حروف ناهمسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ اختلاف بین میانگین‌هاست؛ SEM: خطای استاندارد میانگین؛ NS: اختلاف غیر معنی‌دار

تیمارها شامل: ۱. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 × بسترهٔ کاه گندم

۲. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 × بسترهٔ آتریپلکس

۳. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_4 × بسترهٔ کاه گندم

۴. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_4 × بسترهٔ آتریپلکس

a, b: Row means with common superscripts do not differ; SEM = standard error of mean; NS = non-significant

Treatments containing: 1. Rumen fluid of camels that fed C_3 forages × Wheat straw as substrate

2. Rumen fluid of camels that fed C_3 forages × Atriplex L. as substrate

3. Rumen fluid of camels that fed C_4 forages × Wheat straw as substrate

4. Rumen fluid of camels that fed C_4 forages × Atriplex L. as substrate

بسیاری از گونه‌های قارچی افزون بر تخمیر کربوهیدرات‌ها قادر به تجزیه و تخمیر پروتئین‌ها هستند. این ویژگی سبب شده است که قارچ‌ها درزمینهٔ تخمیر مواد مغذی یک طبقه بالاتر از باکتری‌ها قرار گیرند. قارچ‌ها آنزیم‌های تجزیه‌کنندهٔ پروتئین خارج یاخته‌ای خود را از درون ریسه‌ها به مواد مغذی ترشح و مواد تولیدی را طی انتقال فعال و انتشار جذب می‌کنند (Sharifi & Khadem, 2012).

با بررسی نتایج گوارش‌پذیری کاه گندم و آتریپلکس توسط قارچ‌های شکمبهٔ شترهای تحت آزمایش (جدول ۷) مشخص شد که در روز سوم آزمایش، گوارش‌پذیری مادهٔ خشک به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع مایع شکمبه قرار گرفت به‌گونه‌ای‌که در تیمارهای تلقیح‌شده با قارچ‌های شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 بیشتر بود ($P\leq$۰/۰۱). اما در روزهای ششم ($P\leq$۰/۰۵) و نهم ($P\leq$۰/۰۱) در تیمارهای تلقیح‌شده با علوفهٔ C_4 به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. همچنین نتایج نشان داد که تیمارهای دارای بسترهٔ کاه در روز سوم آزمایش بیشترین گوارش‌پذیری مادهٔ خشک، مادهٔ آلی و دیوارهٔ یاخته‌ای را داشته‌اند ($P\leq$۰/۰۱) اما در روز ششم تنها گوارش‌پذیری مادهٔ آلی تحت تأثیر نوع بستره قرار گرفت و به‌طور معنی‌داری در تیمارهای با بسترهٔ کاه گندم بیشتر بود ($P\leq$۰/۰۱).

جدول ۷. گوارش‌پذیری آتریپلکس و کاه گندم توسط قارچ‌های شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 و C_4 در زمان‌های مختلف نگهداری (درصد)

Table 7. Digestibility of atriplex and wheat straw incubated by rumen fungi media of camels fed C_3 and C_4 forage in several time

Time	3d			6d			9d		
Disappearance (%)	DM	OM	NDF	DM	OM	NDF	DM	OM	NDF
Source of rumen content (Main effect)									
Rumen fluid of camels fed C_3 forages	15.58 ^{a}	17.71	21.63	20.82 ^{b}	30.06	31.10	35.34 ^{b}	39.32	41.27
Rumen fluid of camels fed C_4 forages	12.26 ^{b}	16.31	21.00	22.79 ^{a}	29.29	31.87	41.89 ^{a}	40.67	42.20
SEM	0.592	0.579	0.775	0.426	0.826	0.527	0.589	0.492	0.493
Sig	**	NS	NS	*	NS	NS	**	NS	NS
Substrate (Main effect)									
Wheat Straw	16.89 ^{a}	22.52 ^{a}	25.38 ^{a}	21.90	33.12 ^{a}	32.08	39.01	43.01 ^{a}	39.65 ^{b}
Atriplex	10.94 ^{b}	11.51 ^{b}	17.25 ^{b}	21.71	26.23 ^{b}	30.89	38.23	36.99 ^{b}	43.82 ^{a}
SEM	0.592	0.579	0.775	0.426	0.826	0.527	0.589	0.492	0.493
Sig	**	**	**	NS	**	NS	NS	**	**
Interaction									
Treatment 1	19.03 ^{a}	23.45 ^{a}	26.66 ^{a}	22.58 ^{ab}	35.62 ^{a}	34.89 ^{a}	40.24 ^{b}	45.35 ^{a}	43.96 ^{b}
Treatment 2	12.13 ^{bc}	11.98 ^{b}	16.60 ^{b}	19.07 ^{c}	24.50 ^{c}	27.31 ^{b}	30.45 ^{c}	33.30 ^{c}	38.57 ^{c}
Treatment 3	14.76 ^{b}	21.58 ^{a}	24.10 ^{a}	21.23 ^{b}	30.62 ^{b}	29.27 ^{b}	37.77 ^{b}	40.66 ^{b}	35.34 ^{d}
Treatment 4	9.76 ^{c}	11.04 ^{b}	17.90 ^{b}	24.36 ^{a}	27.95 ^{bc}	34.47 ^{a}	46.02 ^{a}	40.68 ^{b}	49.06 ^{a}
SEM	0.837	0.819	1.096	0.603	1.168	0.746	0.883	0.697	0.697
Sig	**	**	**	**	**	**	**	**	**

a, b, c: حروف ناهمسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ اختلاف بین میانگین‌هاست؛ SEM: خطای استاندارد میانگین؛ NS: اختلاف غیر معنی‌دار

تیمارها شامل: ۱. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 × بسترهٔ کاه گندم / ۲. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 × بسترهٔ آتریپلکس

۳. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_4 × بسترهٔ کاه گندم / ۴. مایع شکمبل شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_4 × بسترهٔ آتریپلکس

a, b, c: Row means with common superscripts do not differ; SEM = standard error of mean; NS = non-significant

Treatments containing: 1. Rumen fluid of camels that fed C_3 forages × Wheat straw as substrate

2. Rumen fluid of camels that fed C_3 forages × Atriplex L. as substrate

3. Rumen fluid of camels that fed C_4 forages × Wheat straw as substrate

4. Rumen fluid of camels that fed C_4 forages × Atriplex L. as substrate

در روز نهم آزمایش، گوارش‌پذیری مادهٔ آلی و دیوارهٔ یاخته‌ای در تیمارهای تغذیه‌شده با بسترهٔ آتریپلکس بیشتر بود (P≤۰/۰۱). از طرفی گوارش‌پذیری مادهٔ آلی و دیوارهٔ یاخته‌ای نیز به‌طور معنی‌داری در تیمارهای ۱ و ۳ بیشتر از دیگر تیمارها بود (P≤۰/۰۱). در روز ششم آزمایش، گوارش‌پذیری مادهٔ خشک و دیوارهٔ یاخته‌ای در تیمارهای ۱ و ۴ به‌طور معنی‌داری بیشتر از دیگر تیمارها بود (P≤۰/۰۱) اما گوارش‌پذیری مادهٔ آلی همچنان در تیمار ۱ بیشترین و در تیمار ۲ کمترین میزان بود (P≤۰/۰۱). در روز نهم آزمایش تیمار ۴ بیشترین گوارش‌پذیری مادهٔ خشک و دیوارهٔ یاخته‌ای را داشت اما مادهٔ آلی همچنان در تیمار ۱ بیشترین میزان بود (P≤۰/۰۱). به نظر می‌رسد درصورتی‌که علوفه‌های شورزی مانند آتریپلکس با قارچ‌های شکمبهٔ شتر که از پیش سازش یافته‌اند، نگهداری شوند گوارش‌پذیری مادهٔ خشک و دیوارهٔ یاخته‌ای با نزدیک شدن به پایان دورهٔ آزمایش رو به افزایش است و شاید علت آن تجزیهٔ ترکیبات فنولی موجود در محیط کشت باشد. آن‌گونه که مشخص است گوارش‌پذیری مادهٔ آلی چندان تحت تأثیر نوع مایع شکمبه و سازش‌پذیری آن قرار نگرفت. اما در تیمار ۲ می‌توان توانایی نداشتن قارچ‌ها در تجزیهٔ ترکیبات فنولی آتریپلکس و ناسازگاری آن‌ها به شوری را عامل کاهش گوارش‌پذیری دانست. زیرا گزارش‌های چندی بیان کرده‌اند که محتوای نمک (Hassan, 2009) و ترکیبات فنولی (Shawket & Ahmed, 2009; Sliwinski *et al.*, 2002) عامل کاهندهٔ فعالیت میکروبی و کاهش تولید آنزیم‌ها و درنتیجه کاهش گوارش‌پذیری است. البته شاید بتوان تغییرات جمعیت قارچی را علت این اختلاف گوارش‌پذیری دانست چراکه گزارش شده است گونه‌های قارچی *Orpinomyces*، الیاف را بهتر از گونه‌های *Anaeromyces* تجزیه می‌کنند و رشد این گونه‌های قارچی در محیط آزمایشگاه بیشتر مرتبط با گوارش الیاف و دیگر فعالیت‌های تخمیری شکمبه است (Sirohi *et al.*, 2012).

نتایج تجزیه‌وتحلیل فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کنندهٔ الیاف در محیط کشت قارچ‌های شکمبهٔ شتر (جدول۸) نشان داد که در روزهای ۶ و ۹ آزمایش هم

اندوگلوکاناز و هم اگزوگلوکاناز در تیمارهای تلقیح‌شده با قارچ‌های شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_4 بیشتر از دیگر تیمارها بود (P≤۰/۰۱). ژنگان (ژنوم) میکروبی، اغلب شمارهٔ خاصی از ژن گلیکوزیل هیدرولاز را دارند که هر یک به نوع خاصی از کربن واکنش نشان می‌دهند. شمار زیادی از آنزیم‌های تجزیه‌کنندهٔ سلولز در قارچ‌های شکمبه شناسایی شده است اما از بین آن‌ها اگزوسلولاز و بتا گلوکوزیداز بیشترین فعالیت آنزیمی را دارند (Dashtban *et al.*, 2009). تأثیر نوع بستره تنها در روزهای ۳ و ۶ آزمایش معنی‌دار بود، به‌گونه‌ای که هم اندوگلوکاناز و هم اگزوگلوکاناز در این بازهٔ زمانی به‌طور معنی‌داری در تیمارهای با بسترهٔ کاه گندم بیشترین فعالیت را داشتند (P≤۰/۰۱). گزارش‌هایی وجود دارد که بیان می‌کند حضور باکتری‌های تجزیه‌کنندهٔ سلولز منجر به جلوگیری از عمل سلولازی قارچ‌های شکمبه می‌شود (Bernalier *et al.*, 1992) و علت آن‌را تولید پروتئینی بیرون یاخته‌ای توسط باکتری‌ها دانسته‌اند که سبب جلوگیری آنزیم‌های قارچی می‌شود. اما در شرایط محیط کشت این آزمایش که باکتری‌ها حذف شده بودند فعالیت سلولاز قارچی بسیار محسوس بود. با بررسی اثرات متقابل مشخص می‌شود که در روز سوم آزمایش بیشترین فعالیت اندوگلوکانازی (P≤۰/۰۱) و اگزوگلوکانازی (P≤۰/۰۵) در تیمار ۱ و ۳ است که بسترهٔ کاه داشته و کمترین فعالیت در تیمارهای ۲ و ۴ که بسترهٔ آتریپلکس داشته‌اند، دیده شده است.

جدول ۸. فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کنندهٔ الیاف در محیط کشت قارچ‌های شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 و C_4 در زمان‌های مختلف نگهداری (میکرومول گلوکز تولیدشده به ازای هر میلی‌لیتر بستره در هر دقیقه)

Table 8. Enzyme activity of incubated medium by rumen fungi of camels fed C_3 and C_4 forage in several time (µmol glucose /min.mL)

Time	3d		6d		9d	
Type of enzyme	Endo G.	Exo G.	Endo G.	Exo G.	Endo G.	Exo G.
Source of rumen content (Main effect)						
Rumen fluid of camels fed C3 forages	6.43	4.55	8.03^b	5.59^b	8.77^b	8.73^b
Rumen fluid of camels fed C4 forages	6.61	4.48	8.88^a	6.11^a	10.15^a	9.53^a
SEM	0.193	0.137	0.098	0.077	0.249	0.073
Sig	NS	NS	**	**	**	**
Substrate (Main effect)						
Wheat Straw	7.54^a	4.91^a	8.87^a	6.11^a	9.56	9.22
Atriplex	5.50^b	4.12^b	8.04^b	5.59^b	9.36	9.04
SEM	0.193	0.137	0.098	0.077	0.249	0.073
Sig	**	**	**	**	NS	NS
Interaction						
Treatment 1	7.65^a	4.97^a	8.88^a	6.26^a	9.58^b	9.32^b
Treatment 2	5.21^b	4.14^b	7.18^b	4.91^b	7.96^c	8.14^c
Treatment 3	7.43^a	4.84^a	8.86^a	5.96^a	9.55^b	9.12^b
Treatment 4	5.80^b	4.11^b	8.90^a	6.27^a	10.75^a	9.93^a
SEM	0.273	0.194	0.139	0.109	0.353	0.103
Sig	**	*	**	**	**	**

a, b, c: حروف ناهمسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ اختلاف بین میانگین‌هاست؛ SEM: خطای استاندارد میانگین؛ NS: اختلاف غیر معنی‌دار؛ Endo G: اندوگلوکاناز؛ Exo G.: اگزوگلوکاناز.

تیمارها شامل: ۱. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 × بسترهٔ کاه گندم

۲. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_3 × بسترهٔ آتریپلکس

۳. مایع شکمبهٔ شترهای تغذیه‌شده با علوفهٔ C_4 × بسترهٔ کاه گندم

a, b, c: Row means with common superscripts do not differ; SEM = standard error of mean; NS = non-significant;.= Endoglucanase; = Exoglucanase.
Treatments containing: 1. Rumen fluid of camels that fed C_3 forages × Wheat straw as substrate
2. Rumen fluid of camels that fed C_3 forages × Atriplex L. as substrate
3. Rumen fluid of camels that fed C_4 forages × Wheat straw as substrate
4. Rumen fluid of camels that fed C_4 forages × Atriplex L. as substrate

در روز ششم آزمایش تمام تیمارها فعالیت سلولازی یکسان داشته‌اند به‌جز تیمار ۲ که به‌احتمال به خاطر سازش نداشتن و تجزیه نشدن ترکیبات فنولی آتریپلکس توسط قارچ‌ها، فعالیت آنزیمی کاهش یافته است (P≤۰/۰۱). در روز نهم نگهداری، تیمار ۴ بیشترین فعالیت اندو و اگزوگلوکانازی را داشته و تیمار ۱ و ۳ و در پایان تیمار ۲ فعالیت کمتری را داشته‌اند (P≤۰/۰۱). گزارش شده است که تانن‌ها ممکن است

حاوی یک گروه جلوگیری‌کنندهٔ آنزیم سلولاز باشند (Shawket & Ahmed, 2009).

از سوی دیگر تانن‌ها می‌توانند سبب جلوگیری از فعالیت اندوگلوکاناز بیرون یاخته‌ای در برخی ریزجانداران تجزیه‌کنندهٔ الیاف شوند (Jones *et al.*, 1994). این نتایج می‌تواند بازگوکنندهٔ این مطلب باشد که با تغذیهٔ آتریپلکس، فعالیت سلولازی شکمبه دچار اختلال شده و تأخیری در آغاز فرایندهای میکروبی و قارچی ایجاد می‌شود. اما اگر مایع شکمبه و قارچهای آن به آتریپلکس عادت داده شده باشند با تجزیهٔ ترکیبات فنولی می‌توانند در اواخر سازش‌پذیری، تأخیر اولیه را جبران کنند.

نتایج این آزمایش نشان داد که در ساعت‌های اولیهٔ نگهداری، روند تخمیر در تیمارهای دارای بسترهٔ کاه گندم بیشترین بود درحالی‌که در ساعت‌های پایانی نگهداری، این روند در تیمار دارای مایع شکمبهٔ C_4 و بسترهٔ آتریپلکس با سرعت بیشتری افزایش یافت که می‌توان علت آنرا توانایی رویارویی با ترکیبات ضد تغذیه‌ای آتریپلکس توسط قارچهای بی‌هوازی در این تیمار دانست.

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

از نتایج این آزمایش می‌توان دریافت که به‌احتمال در استفاده از علوفهٔ یونجه و کاه گندم به جای علوفهٔ مرتعی شورزی در تغذیهٔ شترها، محدودیتی وجود نداشته باشد چراکه حتی در ساعت‌های اولیهٔ نگهداری، تخمیر بهتری نیز در این گیاهان مشاهده شد. پیشنهاد می‌شود در بررسی‌های بعدی عملکرد شترها با این جیره‌ها ارزیابی شود. همچنین ضرورت دارد هنگام بررسی تخمیر گیاهان شورزی در آزمایشگاه از مایع شکمبه‌ای استفاده شود که با گیاه موردنظر سازش داشته باشد.

REFERENCES

1. Abu-Zanat, M. M. W. & Tabbaa, M. J. (2006). Effect of feeding Atriplex browse to lactating ewes on milk yield and growth rate of their lambs. *Small Ruminant Research*, 64 (1-2), 152-161.
2. Akin, D. E. & Benner, R. (1988). Degradation of polysaccharides and lignin by ruminal bacteria and fungi. *Applied Environmental Microbiology*, 54, 1117-1125.
3. Angaji, L., Souri, M. & Moeini, M. M. (2011). Deactivation of tannins in raisin stalk by polyethylene glycol-600: Effect on degradation and gas production in vitro. *African Journal of Biotechnology*, 10(21), 4478-4483.AOAC (2000). *Official methods of analysis*. (17th Edit). Association of Official Analytical Chemists (Gaithersburg, MD, USA).
4. Blummel, M., Makkar, H. P. S. & Becker, K. (1997). In vitro gas production: a technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 77, 24-34.
5. Bernalier, A., Fonty, G., Bonnemoy, F. & Gouet, P. (1992). Degradation and fermentation of cellulose by the rumen anaerobic fungi in axenic cultures or in association with cellulolytic bacteria. *Current Microbiology*, 25, 143-148.
6. 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.
7. Chen, Y. C., Hseu, R. S. & Cheng, K. J. (2003). The genetic similarity of different generations of Neocallimastix frontalis SK. *FEMS Microbiology Letters*, 221, 227-231.
8. Colombatto, D. & Beauchemin, K.A. (2003). A proposed methodology to standardize the determination of enzymic activities present in enzyme additives used in ruminant diets. *Canadian Journal of Animal Science*, 83, 559-568.
9. Cone, J. W., Van Gelder, A. H., Visscher, G. J. W. & Oudshoorn, L. (1996). Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus. *Animal Feed Science and Technology*, 61, 113-128.
10. Dashtban, M., Schraft, H. & Qin, W. (2009). Fungal bioconversion of lignocellulosic residues; opportunities & perspectives. *International Journal Biological Science*, 5, 578-595.
11. Dereje, M. & Uden, P. (2005). The browsing dromedary camel: I. Behaviour, plant preference and quality of forage selected. *Animal Feed Science and Technology*, 121, 297-308.
12. Dulphy, J. P., Dardillat, C., Jailler, M. & Ballet, J. M. (1997). Comparative study of forestomach digestion in llamas and sheep. *Reproduction and Nutrition Development*, 37, 709-725.
13. El Shaer, H. M. (2010). Halophytes and salt-tolerant plants as potential forage for ruminants in the Near East region. A Review. *Small Ruminant Research*, 91, 3-12.
14. Haddi, M. L., Arab, H., Yacoub, F., Hornick, J. L., Rollin, F. & Mehennaoui, S. (2009). Seasonal changes in chemical composition and in vitro gas production of six plants from Eastern Algerian arid regions. *Livestock Research for Rural Development*, 21(4).

15. Hassan, A. A. (2009). Effect of some Enrichment and Nawaz biological treatments on a melioration utilization of Atriplex nummularia fed by sheep. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 12 (3) Special Issue, 553-566.
16. Hassan Sallam, S. M. A., Da Silva Bueno, I. C., De Godoy, P. B., Eduardo, F. N., Schmidt Vittib, D. M. S. & Abdalla, A. L. (2010). Ruminal fermentation and tannins bioactivity of some browses using a semi-automated gas production technique. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12, 1-10.
17. Heckathorn, S. A., McNaughton, S. J. & Cleman, J. S. (1999). In: C4 Plant, Biology, Sage, R.F., Monson, R.K. (Eds.), C4 Plants and herbivory. *Academic Press, San Diego*, CA, pp. 285-312.
18. Jones, G. A., McAllister, T. A., Muir, A. D. & Cheng, K. J. (1994). Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia Scop*.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Applied Environmental Microbiology*, 60, 1374-1378.
19. Kassily, F. N. (2002). Forge quality and camel feeding patterns in central baringo. *Kenyaian Livestock Production Science*, 78 (2), 175 - 182.
20. Lee, S. S., Ha, J. K. & Cheng, K. J. (2000). Relative Contributions of Bacteria, Protozoa, and Fungi to in vitro degradation of orchard grass cell walls and their interactions. *Applied Environmental Microbiology*, 3807-3813.
21. Lemosquet, S., Dardillat, C., Jailler, M. & Dulphy, J.P. (1996). Voluntary intake and gastric digestion of two hays by llamas and sheep: influence of concentrate supplementation. *Journal of Agricultural Science Camb*, 127, 539-548.
22. Makkar, H. P. S. & McSweeney, C. S. (2005). Methods in Gut Microbial Ecology for Ruminants. International Atomic Energy Agency. *Published by Springer*. P 25.
23. Min, B. R. Attwood, G. T., McNabbb, W. C., Molanb, A. L. & Barry, T. N. (2005). The effect of condensed tannins from Lotus corniculatus on the proteolytic activities and growth of rumen bacteria. *Animal Feed Science and Technology*, 121, 45-58.
24. Minson, D. J. (1971). Influences of lignin and silicon on a summative system for assessing the organic matter digestibility of Panicum. *Australian Journal of Agricultural Research*, 22, 589-598.
25. Mohammadabadi, T., Chaji, M. & Bojarpour, M. (2012). The effect of steam pressure treatment on gas production parameters of sugarcane pith using isolated Rumen microbiota. *Journal of Animal Science Researches*, 4(3), 240-246. (in Farsi)
26. Nagpal, R., Puniya, A. K. & Singh, K. (2009). In vitro fibrolytic activities of the anaerobic fungus. Caecomyces sp., immobilized in alginate beads. *Journal of Animal Feed Science*, 18, 758-768.
27. Orpin, C. G. (1975). Studies on the rumen flagellate *Neocallimastix frontalis*. *General Microbiology*, 91, 249-262.
28. Orskov, E. R. & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighted according to rat of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92, 499-503.
29. 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.
30. Russell, J. B. & Strobel, H. J. (1989). Effect of ionophores on ruminal fermentation. *Applied Environmental Microbiology*, 55, 1-6.
31. Sage, R. F., Sage, T. L. & Kocacinar, F. (2012). Photorespiration and the Evolution of C4 Photosynthesis. *Annual Review of Plant Biology*, 63, 19-47.
32. SAS (2005). User's Guide. Release 6.08. SAS Institute Inc., Cary, NC.
33. Schofield, P., Pitt, R. E. & Pell, A. N. (1994). Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *Journal of Animal Science*, 72, 2980-2991.
34. Schillhorn, V. V. & Leoffler, T. W. (1990). Mineral deficiencies in ruminants in Sub-Saharan Africa: a review. *Tropical Animal Health and Production*, 22, 197-205.
35. Sharifi, M. & Khadem, A. A. (2012). Dynamic fermentation in ruminants animal products to biogas. *Adine book*. 281-282.
36. Shawket, M. S. & Ahmed, M. H. (2009). Effect of prolonged feeding Atriplex (*saltbush*) to camels on digestibility, nutritive value and nitrogen utilization. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 12 (3) Special Issue: 205- 214.
37. Shawket, S. M., Youssef, K. M. & Ahmed, M. H. (2010). Comparative evaluation of Egyptian clover and Atriplex Haliums diets for growth and milk production in camel (Camelus dromedarius). *Animal Science Reporter*, 4, 9-20.
38. Sirohi, S. K., Choudhury, P. K., Dagar, S. S., Puniya, A. K. & Singh, D. (2012). Isolation, characterization and fibre degradation potential of anaerobic rumen fungi from cattle. *Annuals of Microbiology*, DOI 10.1007/s13213-012-0577-6.

39. Sliwinski, B. J., Soliva, C. R., Machmuller, A. & Kreuzer, M. (2002). Efficacy of plant extracts rich in secondary constituents to modify rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 101, 101-114.
40. Smith, G. S. (1992). Toxification and detoxification of plant compounds by ruminants: an overview. *Journal of Range Management*, 45, 25-30.
41. Smith, A. H., Zoetendal, E. & Mackie, R. I. (2005). Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. *Microbiology Ecology*, 50, 197-205.
42. Soltan, Y. A., Morsy, A. S., Sallam, S. M. A., Louvandini, H. & Abdalla, A. L. (2012). Comparative *in vitro* evaluation of forage legumes (prosopis, acacia, atriplex, and leucaena) on ruminal fermentation and methanogenesis. *Animal and Feed Science*, 21, 759-772.
43. Tavendale, M. H., Meagher, L. P., Pacheco, D., Walker, N., Attwood, G. T. & Sivakumaran, S. (2005). Methane production from in vitro rumen incubations with Lotus pedunculatus and Medicago sativa, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Animal Feed Science and Technology*, 123(1), 403-419.
44. Teferedegne, B. (2000). New perspectives on the use of tropical plants to improve ruminant nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society*, 59, 209-214.
45. Thareja, A., Puniya, A. K., Goel, G., Nagpal, R., Sehgal, J. P., Singh, P. & Singh, K. (2006). In vitro degradation of wheat straw by anaerobic fungi from small ruminants. *Archive of Animal Nutrition*, 60, 412-417.
46. Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, A. B. & France, J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 74, 3583-3597.
47. Towhidi, A., Saberifar, T. & Dirandeh, E. (2011). Nutritive value of some herbage for dromedary camels in the central arid zone of Iran. *Tropical Animal Health and Production*, 43, 617-622.
48. Van Soest, P. J., Robertson, J. B. & Lewis, B. A. (1991) Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583- 3597.
49. Von-Engelhardt, W., Dycker, C. H. & Lechner-Doll, M. (2007). Absorption of short-chain fatty acids, sodium and waterfrom the forestomach of camels. *Journal of Comparative Physiology*, 177, 631-640.
50. Waghorn, G. C., Shelton, I. D., McNabb, W. C. & McCutcheon, S. N. (1994). Effects of condensed tannin in Lotus pedunculatus on nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. *Journal of Agricultural Science*, 123, 109-119.
51. Wang, Y., McAllister, T. A., Yanke, L. J., Xu, Z. J., Cheeke, P. R. & Cheng, K. J. (2000). In Vitro effects of steroidal saponins from Yucca sc hidigera extract on rumen microbes. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 887-896.
52. Wilson, R.T. (1998). Camels. Macmillan Education Ltd., London.
53. Zhang, Y., Gao, W. & Meng, Q. (2007). Fermentation of plant cell walls by ruminal bacteria, protozoa and fungi and their interaction with fibre particle size. *Archives of Animal nutrition*, 61(2), 114-125.

Iranian Journal of Animal Science, Vol. 47, No. 1, Spring 2016

Investigation of *in vitro* digestibility, fermentation and enzyme activity of rumen anaerobic fungi of dromedary camels fed by cultivated and pasture forages

Pouriya Dadvar[1], Tahereh Mohammadabadi[2*], Mohsen Sari[3] and Jamal Fayazi[4]
1, 2, 3, 4. Ph.D Student of Animal Nutrition, Assistant Professors, and Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khouzestan, Khouzestan, Iran
(Recieved: Oct. 27, 2014 - Accepted: Dec. 20, 2015)

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the fermentation characteristics and cellulolytic enzymes activities of dromedary camels rumen anaerobic fungi in fed with cultivated and pasture forages. Hence, the inoculant of rumen anaerobic fungi was prepared by using specific medium and the gas production, digestibility and enzyme activity of rumen fungi were determined on the basis of a 2 × 2 factorial design. The results showed that gas production potential was higher in treatments containing atriplex substrate, but the rate of gas production was higher in wheat straw treatments. Also the total gas production (50.71 ml) in treatment with rumen fluid of camel fed pasture forage and atriplex substrate was the highest ($P \leq 0.01$). The medium's ammonia nitrogen at different times of incubation was affected by the type of feed and substrate ($P \leq 0.01$). The results showed that the organic matter digestibility was not affected by the type of feed but was decreased in atriplex treatments by changing substrate. Also digestibility of DM and NDF in atriplex treatment showed increasing trend at the end of experiment. Endo and exoglucanas activity of rumen fungus in treatment with rumen fluid of camel fed with pasture forage and atriplex substrate had the highest increase ($P \leq 0.01$) in the final hours of incubation. It seems that for *in vitro* evaluating fermentation of halophilic forages, it is better to use a rumen fluid accordance with substrate.

Keywords: Gas production, NDF and Atriplex, OM digestibility, rumen fungi.

* Corresponding author E-mail: mohammadabadi@ramin.ac.ir Tel: +98 913 614 8848