

اثر عمل آوری پیت خام نیشکر با فشار بخار بر فراسنجه های تولید گاز با استفاده از میکروارگانسیم های جداسازی شده شکمبه

طاهره محمدآبادی^{۱*} - مرتضی چاجی^۲ - محمد بوجارپور^۳

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۹۱/۵/۹

چکیده

این آزمایش برای تعیین تاثیر عمل آوری پیت خام نیشکر با بخار آب تحت فشار بالا (دمای ۲۱۰ تا ۲۲۰ درجه سانتی گراد، ۱۹ بار فشار به مدت ۳ دقیقه با رطوبت ۷۰ درصد) بر فعالیت تخمیری و فراسنجه های تولید گاز و تجزیه آن توسط میکروارگانسیم های خالص شکمبه انجام شد. گروههای مختلف میکروبی شکمبه با استفاده از روشهای فیزیکی، شیمیایی و استفاده از آنتی بیوتیکها جدا شدند. گروههای میکروبی شامل کل میکروارگانسیم ها، قارچ ها، باکتری ها، پروتوزوا، مجموع قارچ و باکتری، باکتری و پروتوزوا، و قارچ و پروتوزوا بودند. فراسنجه های تولید گاز در طی ۹۶ ساعت انکوباسیون توسط این گروه های میکروبی با استفاده از معادله نمایی ارسکوف و مکدونالد تعیین شدند. عمل آوری با بخار به طور معنی داری نرخ تولید گاز و تولید گاز از بخش قابل تخمیر پیت خام را توسط همه گروه های میکروبی افزایش داد. بالاترین تولید گاز از بخش قابل تخمیر (۱۹۳/۲۵ میلی لیتر) و نرخ تولید گاز (۰/۰۹ میلی لیتر در ساعت) توسط مجموع میکروارگانسیم های شکمبه مربوط به تیمار عمل آوری با بخار بود. بیشترین مقدار تولید گاز توسط کل میکروارگانسیم های شکمبه و کمترین مقدار هم توسط پروتوزواهای شکمبه مشاهده شد. بنابراین نتایج آزمایش نشان داد که بخار آب تحت فشار بدون ایجاد اثرات منفی می تواند سبب بهبود هضم و تخمیر پیت خام نیشکر شود.

واژه های کلیدی: پیت خام نیشکر، بخار، میکروارگانسیم های شکمبه

مقدمه

۱۶۰ درجه سانتی گراد) گروه های استیل را از ماتریکس همی سلولزی آزاد کرده و اسید استیک تولید می کند، و تا حد قابل قبولی منجر به شکست دیواره سلولی می شود (۳۷).

عمل آوری با بخار باعث هیدرولیز جزئی همی سلولز و محلول شدن آن و آزاد شدن مواد قابل هضم از بخش لیگنینی و به دنبال آن افزایش هضم پذیری و تولید گاز می شود (۱۵).

هضم دیواره سلولی در شکمبه توسط اثر متقابل بین میکروارگانسیم ها که شامل باکتری، پروتوزوا و قارچ می باشند، انجام می شود. محققان گزارش کردند که قارچ های فیکومیست به سبب داشتن توانایی نفوذ عمیق به داخل بافت گیاهی نقش مهمی در هضم سلولز در شکمبه دارند (۱۸). اما باکتری های سلولولیتیک به سبب غالب بودن و تنوع متابولیک نقشی مهم تر از قارچ ها در هضم دیواره سلول گیاهی دارند (۱۱). محققان گزارش کردند که باکتریهای شکمبه تنها از طریق روزه ها و زمانی که پوشش شاخی گیاهان با عواملی مانند نشخوار آسیب دیده باشد، می تواند به بافت های زیرین نفوذ کنند. اما به نظر می رسد که قارچ های بی هوازی شکمبه قادرند از طریق این پوشش به درون بافت گیاهی نفوذ کنند، و شرایط را

سالانه به طور متوسط در حدود ۲/۲ میلیون تن محصولات فرعی نیشکر مانند باگاس، پیت خام و مقادیر زیادی سرشاخه نیشکر در کشور تولید می شود. یکی از راه های استفاده از محصولات فرعی نیشکر (باگاس و پیت خام)، تهیه خوراک دام است. یکی از عمده ترین موانع تغذیه از باقی مانده های محصولات کشاورزی به عنوان ماده خوراکی دام، نرخ پایین هضم و محتوای پایین نیتروژن آن ها می باشد (۳۴). چندین روش برای افزایش ارزش تغذیه ای علوفه های با کیفیت پایین مانند کاه برنج و باگاس نیشکر وجود دارد (۲۶). امروزه در استان خوزستان از روش عمل آوری با بخار آب تحت فشار بالا برای این منظور استفاده می شود. کلید اصلی برای بهبود ارزش تغذیه ای مواد لیگنوسلولزی، تخریب دیواره سلولی برای دسترسی کامل به مواد مغذی محتوی آن می باشد (۷). بخار آب تحت فشار (دما \leq

۱، ۲ و ۳- استادیاران گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
* نویسنده مسئول: Email: t.mohammadabadi@gmail.com

گرفتن مایع شکمبه و صاف کردن آن، در ۱۰۰۰ دور برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و سپس با استفاده از قارچ کش ها (بنومیل، ۱۰ میلی گرم در لیتر و متلاکسیل، ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) (۱۲)، قارچ های بی‌هوازی شسته شدند. محصول به دست آمده به عنوان محیط حاوی باکتری های خالص شکمبه استفاده شد. برای تهیه پروتوزوهای شکمبه، بعد از گرفتن و صاف کردن آن، محلول آنتی بیوتیک و قارچ کشها به مایع شکمبه صاف شده اضافه شدند. برای جدا سازی مجموع قارچ+پروتوزوا، بعد از گرفتن مایع شکمبه و صاف کردن آن، محلول آنتی بیوتیک به مایع شکمبه اضافه شد، و برای تهیه مایع شکمبه حاوی مجموع قارچ و باکتری، مایع شکمبه با سرعت ۱۰۰۰ دور برای مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. مجموع باکتری و پروتوزوای شکمبه، بعد از گرفتن مایع شکمبه و صاف کردن آن، و اضافه کردن قارچ کشها به آن تهیه شد. آنتی بیوتیکها و دیگر مواد شیمیایی به مقدار ۰/۱ میلی لیتر به ازای هر میلی لیتر محیط کشت استفاده می شوند. تولید گاز سرنگ ها در دمای ۳۹، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت آنکوباسیون اندازه گیری شد. هضم پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم با استفاده از معادله منک و استیونگس (۲۸)، محاسبه شد:

$$148.8 + 8.89 GP + 4.5 CP + 0.651A$$

$$2.20 + 0.136 GP + 0.057 CP + 0.0029 CP^2$$

در روابط بالا، CP، مقدار پروتئین خام (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک)؛ A، خاکستر خام (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) و GP، نرخ خالص تولید گاز به ازای ۲۰۰ گرم نمونه بعد از ۲۴ ساعت می باشد.

تجزیه و تحلیل های آماری

نتایج حاصل از تولید گاز نمونه های مختلف در محیط کشت های متفاوت با استفاده از معادله نمایی ارسکوف و مکدونالد (۳۳)، در برابر زمان برآزش شدند تا فراسنجه های هضمی برآورد شوند (۲۹).

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

Y: تولید گاز از ماده خوراکی در زمان t

b: تولید گاز از بخش قابل تخمیر

c: ثابت تولید گاز

داده های به دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با نرم افزار SAS (۱۹۹۶) آنالیز شدند. مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن در سطح معنی داری $P < 0.05$ انجام شد.

نتایج و بحث

فراسنجه های تولید گاز در محیط حاوی پیت نیشکر عمل آوری

برای رسیدن باکتریها به بافت های زیرین فراهم کنند (۱۸). هم چنین محققان نشان دادند که حدود یک سوم تجزیه الیاف گیاهی توسط پروتوزواها در شکمبه انجام می شود (۱۹). بنابراین، هدف این مطالعه تعیین تاثیر عمل آوری پیت خام نیشکر با بخار آب تحت فشار بالا (دمای ۲۱۰ تا ۲۲۰ درجه سانتی گراد، ۱۹ بار فشار به مدت ۳ دقیقه با رطوبت ۷۰ درصد) بر فراسنجه های تولید گاز و تجزیه آن توسط میکروارگانیسم های خالص شکمبه بود.

مواد و روش ها

تولید گاز پیت خام و عمل آوری شده با بخار آب تحت فشار توسط کل میکروارگانیسم های شکمبه با استفاده از روش منک و استیونگس (۲۸)، در سرنگ های شیشه ای ۱۰۰ میلی لیتری که حاوی ۵۰۰ میلی گرم نمونه، ۲۰ میلی لیتر بزاق مصنوعی و ۱۰ میلی لیتر مایع شکمبه بود، اندازه گیری شد. بزاق مصنوعی با مخلوط کردن ۲۴۰ میلی لیتر محلول معدنی پر نیاز، ۲۴۰ میلی لیتر بافر، ۰/۱۲ میلی لیتر محلول معدنی کم نیاز، ۱/۲۲ میلی لیتر محلول ریزازورین ۰/۱ درصد و ۴۰ میلی لیتر محلول احیاء (سولفید سدیم ۹ آب و سود یک مولار) تهیه شد (۲۸). مایع شکمبه از گوسفندان نر عربی فیسستوله دار (متوسط وزن ۳۵ کیلوگرم) - که یک بار در شبانه روز با ۲۵۰ گرم مواد متراکم، ۵۵۰ گرم یونجه و ۲۰۰ گرم کاه گندم تغذیه شدند (۲/۳۴ مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک و ۱۱/۳۹ درصد پروتئین) - پیش از خوراک دهی که در هر روز ساعت ۹:۰۰ صبح انجام می شد، گرفته شد. مایع شکمبه جمع آوری شده با استفاده از پارچه متقال ۴ لایه صاف شد و با حجم مناسب از بزاق مصنوعی مخلوط گردید (۲۸). ریزازورین به عنوان شناساگر اکسیژن استفاده شد، و از دی اکسید کربن برای کاستن و حداقل سازی آلودگی اکسیژنی مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی استفاده شد.

برای تعیین تولید گاز توسط گروه های خالص میکروبی شکمبه (باکتری ها، قارچ ها و پروتوزواها) روش مورد استفاده مانند تعیین تولید گاز توسط مجموع میکروارگانیسم های شکمبه بود، با این تفاوت که به جای استفاده از مایع شکمبه، میکروارگانیسم های خالص شکمبه که با روش زنگ و همکاران (۳۸) خالص سازی شدند، مورد استفاده قرار گرفتند. در این روش برای جداسازی قارچ های شکمبه، بعد از گرفتن مایع شکمبه و صاف کردن آن، ابتدا پروتوزواها با سانتریفیوژ نمونه های مایع شکمبه با ۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از سانتریفیوژ مدل Hermel آلمان جدا شدند. سپس محلول آنتی بیوتیک (پنی سیلین، استرپتومایسین و کلرامفنیکل هر کدام به مقدار ۰/۱ میلی گرم در میلی لیتر) به محیط کشت اضافه شد. محصول نهایی به دست آمده به احتمال حاوی قارچ های بی هوازی شکمبه بوده است. برای فراهم کردن باکتری های شکمبه، بعد از

در مطالعات چاچی و همکاران (۹) نیز مشاهده شد. مطابق با نتایج این آزمایش عمل آوری با بخار سبب افزایش توانایی تولید گاز پیت خام توسط گروه های مختلف میکروبی شکمبه شد. تیمار بخار سبب تورم دیواره سلولی (۳۰)، هیدرولیز کامل همی سلولز (۱۴)، دیپلاریزاسیون لیگنین (۷)، افزایش بهره وری استفاده از پلی ساکاریدهای دیواره سلول توسط آنزیم های میکروارگانیزم های شکمبه (۶)، و بنابراین تخمیر و تولید بالاتر گاز می شود. محققان نتیجه گرفتند که در باگاس نیشکر عمل آوری شده با بخار آب تحت فشار، قابلیت بخش سلولزی برای هیدرولیز آنزیمی افزایش می یابد (۲۲)، بنابراین با فرآیند بخار به سبب انحلال سلولز و همی سلولز و یا آزاد شدن مواد قابل هضم از درگیری بخش لیگنینی و سیلیکا، دسترسی به انرژی افزایش می یابد (۱۵). عمل آوری کاه برنج با بخار سبب شد که در بخش باقی مانده نامحلول در آب، هگزوزها به طور معنی داری بیشتر از پنتوزها باشند که نشان دهنده هیدرولیز همی سلولز در طی تیمار با بخار است، که دلیل آن را احتمالاً هیدرولیز جزئی همی سلولز و تبدیل آن به شکل محلول در آب دانستند (۲۷).

شده با بخار آب تحت فشار توسط گروه های مختلف میکروبی شکمبه در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است. میزان پروتئین خام و لیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی پیت نیشکر به ترتیب ۵/۲، ۶۵ و ۵۲ درصد بود. نتایج، افزایش توانایی تولید گاز (b) در طی عمل آوری با بخار تحت فشار را برای تمام گروه های میکروبی شکمبه نشان می دهد. بالاترین تولید گاز از بخش قابل تخمیر بعد از ۹۶ ساعت انکوباسیون (۱۹۳/۲ میلی لیتر در ۵۰۰ میلی گرم ماده خشک نمونه) مربوط به پیت خام نیشکر عمل آوری شده با بخار آب تحت فشار توسط کل میکروارگانیزم های شکمبه بود ($P < 0.05$). آزمایش محققان دیگر (۲۷)، نیز نشان داد که کاه برنج عمل آوری شده با بخار تحت فشار (۱۵) بار به مدت ۵ دقیقه) در مقایسه با کاه عمل آوری نشده، تولید گاز را بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ۲۷ درصد افزایش می دهد. همچنین کریمی و همکاران (۲۰) افزایش تجزیه پذیری ماده خشک و تولید گاز برگ خرما را در نتیجه عمل آوری با فشار بخار مشاهده کردند. افزایش ۲۰ درصدی تجزیه پذیری ماده خشک (۸) و تولید گاز در نتیجه تخمیر پیت نیشکر عمل آوری شده با بخار

جدول ۱- اثر عمل آوری با بخار آب بر تولید گاز آزمایشگاهی پیت خام نیشکر توسط گروه های میکروبی شکمبه بعد از ۹۶ ساعت انکوباسیون

P-Value	SEM	پیت عمل آوری شده	پیت خام	میکروارگانیزم های شکمبه
۰/۰۱	۲/۱	۱۰۳/۵۰±۳/۴۲ ^a	۸۸/۵۶±۱/۳۱ ^b	توانایی تولید گاز (میلی لیتر در ۰/۵ گرم) بعد از ۹۶ ساعت
۰/۰۴	۰/۰۰۱	۰/۰۱۵±۰/۰۰۱ ^a	۰/۰۱۲±۰/۰۰۲ ^b	ثابت تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)
۰/۰۲	۳/۶	۸۶/۵۰±۵/۸۱ ^a	۷۶/۵۶±۲/۶۶ ^b	توانایی تولید گاز (میلی لیتر در ۰/۵ گرم) بعد از ۹۶ ساعت انکوباسیون
۰/۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۲۲±۰/۰۰۱ ^a	۰/۰۱۸±۰/۰۰۰۸ ^b	ثابت تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)
۰/۰۲	۳/۲	۵۴/۵۰±۳/۴۰ ^a	۴۶/۵۶±۱/۳۰ ^b	توانایی تولید گاز (میلی لیتر در ۰/۵ گرم) بعد از ۹۶ ساعت انکوباسیون
۰/۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۱۵±۰/۰۰۱ ^a	۰/۰۱۱±۰/۰۰۰۸ ^b	ثابت تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)
۰/۰۲	۱/۴	۲۱/۵۰±۰/۶ ^a	۱۸/۵۶±۰/۴ ^b	پروتوزوای شکمبه
۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۵۱±۰/۰۰۸ ^a	۰/۰۳۴±۰/۰۰۴ ^b	توانایی تولید گاز (میلی لیتر در ۰/۵ گرم) بعد از ۹۶ ساعت انکوباسیون
				ثابت تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)

SEM: میانگین خطای استاندارد؛ میانگین های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0.05$)

جدول ۲- اثر عمل آوری با بخار آب بر تولید گاز آزمایشگاهی پیت خام نیشکر توسط گروه های میکروبی شکمبه بعد از ۹۶ ساعت انکوباسیون

P-Value	SEM	پیت عمل آوری شده	پیت خام	میکروارگانیزم های شکمبه
۰/۰۱	۲/۵	۶۴/۵۰±۲/۷ ^a	۵۲/۵۶±۱/۵ ^b	توانایی تولید گاز (میلی لیتر در ۰/۵ گرم) بعد از ۹۶ ساعت انکوباسیون
۰/۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۲۱±۰/۰۰۷ ^a	۰/۰۱۹±۰/۰۰۲ ^b	ثابت تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)
۰/۰۲	۳/۳	۹۱/۵۰±۸/۸ ^a	۸۲/۵۶±۵/۶ ^b	مجموع قارچ و باکتری های شکمبه
۰/۰۳	۰/۰۰۵	۰/۰۱۸±۰/۰۰۵ ^a	۰/۰۱۶±۰/۰۰۳ ^b	توانایی تولید گاز (میلی لیتر در ۰/۵ گرم) بعد از ۹۶ ساعت انکوباسیون
۰/۰۳	۰/۰۰۵	۰/۰۱۸±۰/۰۰۵ ^a	۰/۰۱۶±۰/۰۰۳ ^b	ثابت تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)
۰/۰۱	۲/۴	۹۶/۵۰±۷/۱ ^a	۸۵/۵۶±۴/۶ ^b	مجموع باکتری و پروتوزوای شکمبه
۰/۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۲۲±۰/۰۰۳ ^a	۰/۰۱۹±۰/۰۰۲ ^b	توانایی تولید گاز (میلی لیتر در ۰/۵ گرم) بعد از ۹۶ ساعت انکوباسیون
				ثابت تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)

SEM: میانگین خطای استاندارد؛ میانگین های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0.05$)

شدید منجر به آزاد سازی گروه های استیل از ماتریکس همی سلولزی و تولید اسید استیک (۳۱)، تخریب موثر دیواره و سطوح بالای دسترسی به مواد مغذی می شود (۳۳).

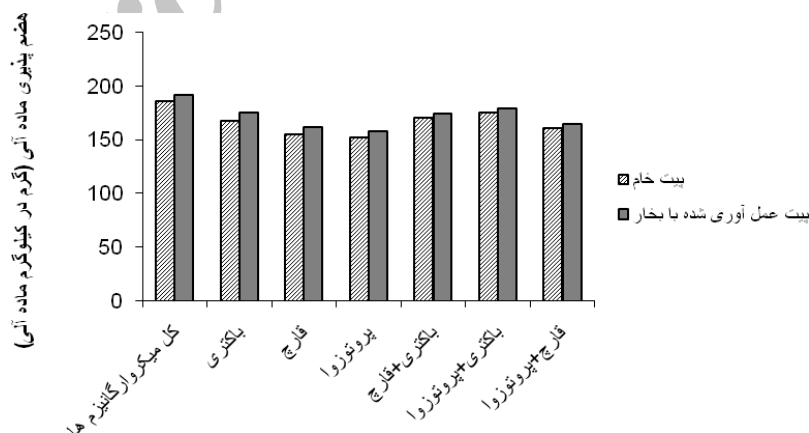
شکل های ۱ و ۲، هضم پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم مربوط به پیت خام و عمل آوری شده با بخار آب توسط گروه های مختلف میکروبی شکمبه را نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود، عمل آوری با بخار آب سبب افزایش این فراسنجه ها توسط همه بخش های میکروبی می شود. آزمایش چاچی و محمدآبادی (۱۰)، نیز نشان داد که عمل آوری پیت نیشکر با بخار در دمای پایین همراه با اسید، باعث افزایش تولید گاز و هضم پذیری ماده آلی توسط همه گروههای میکروبی می شود. در این آزمایش در بین گروه های مختلف بالاترین مقدار مربوط به کل جمعیت میکروبی، مجموع باکتری و پروتوزوا و قارچ و باکتری بوده و کمترین مقدار مربوط به قارچ ها و پروتوزوهای خالص شکمبه به تنهایی بود.

بالاترین مقدار هضم پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم مربوط به پیت خام و عمل آوری شده با بخار آب تحت فشار توسط کل میکروارگانیسم های شکمبه بود. کاهش ناگهانی فشار در عمل آوری با بخار آب تحت فشار، منجر به از هم باز شدن مواد لیگنوسولزی تحت عمل آوری می شود؛ همچنین گزارش شده است که این عمل سبب الیاف زدایی وسیع و تغییر اندازه و واحد سطح ذرات می شود (۵). به نظر می رسد که سطح تماس بیشتر ماده اولیه امکان فعالیت آنزیمی بیشتر و وسیع تری را فراهم می کند. در باگاس نیشکر عمل آوری شده با بخار آب تحت فشار (۲۲)، دسترسی بخش سلولزی برای هیدرولیز آنزیمی، و دسترسی به انرژی به سبب محلول شدن سلولز و همی سلولز و یا آزاد شدن مواد قابل هضم همراه با بخش لیگنینی و سیلیکا افزایش می یابد (۱۷).

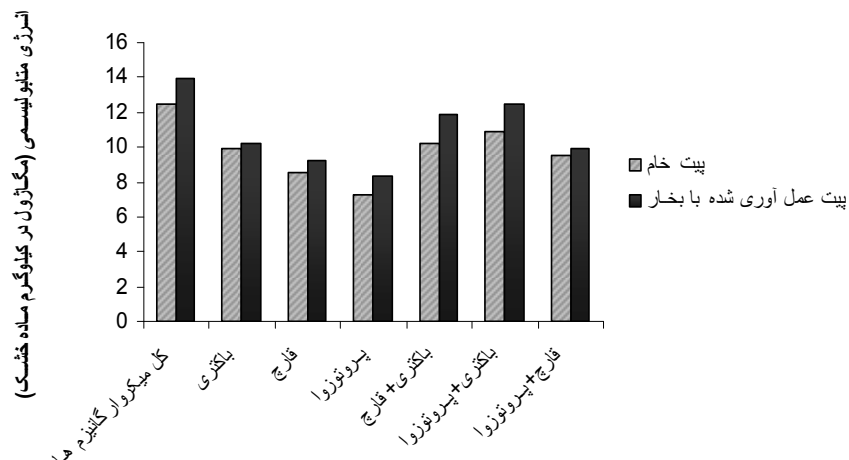
کاهش مقدار همی سلولز پیت خام نیشکر در طی عمل آوری با بخار آب تحت فشار از دو نظر می تواند مفید باشد اولاً، با آزاد شدن همی سلولز، افزایش قابلیت دسترسی آن برای آنزیم ها و در نتیجه افزایش راندمان و بهره وری انرژی آن مشاهده شده است (۱۷ و ۲۵). ثانیاً، برداشت همی سلولز، و تا حدودی لیگنین و کاهش نسبت همی سلولز به سلولز باعث افزایش قابلیت دسترسی سلولز برای آنزیم های میکروارگانیسم های شکمبه می شود (۶).

در باگاس نیشکر عمل آوری شده با بخار آب تحت فشار، قسمت عمده بخش همی سلولزی هیدرولیز شده و به دنبال آن قابلیت دسترسی بخش سلولزی برای هیدرولیز آنزیمی افزایش می یابد. از این رو مقایسه ترکیبات شیمیایی پیت خام و عمل آوری شده نشان می دهد که پیت عمل آوری شده با بخار تحت فشار به نسبت دارای همی سلولز و لیگنین کم تر و سلولز بیشتری است، اما در مقایسه، قند محلول آن افزایش دارد، که سبب افزایش هضم پذیری دیواره خواهد شد (۲۲).

پس از بخاردهی ملایم، همی سلولز تقریباً ۶۰ درصد محلول می شود، اما با این حال بهبود اندکی در مواد جامد باقی مانده دیواره سلولی مشاهده شده است. این نشان می دهد که هنوز یک سد فیزیکی شیمیایی در نمونه های بخار داده شده وجود دارد که دسترسی به دیواره سلولی را برای آنزیم های باکتریایی و با مشاء خارجی محدود می کند. علاوه بر هیدرولیز همی سلولز، دپلمیریزاسیون لیگنین و توزیع مجدد (جا به جایی مکانی برای لیگنین) در دیواره سلول نیز نقش عمده ای را در بهبود قابلیت دسترسی زیستی به سلولز در مواد لیگنوسولزی بخار داده شده بازی می کند (۳۶). همچنین دپلمیریزاسیون اندک لیگنین در حین اعمال فشار بخار در مواد لیگنوسولزی گزارش شده است (۲۱). عمل آوری



شکل ۱- اثر عمل آوری با بخار آب بر هضم پذیری ماده آلی پیت خام نیشکر توسط گروه های مختلف میکروبی شکمبه



شکل ۲- اثر عمل آوری با بخار آب بر انرژی متابولیسمی پیت خام نیشکر توسط گروه های مختلف میکروبی شکمبه

میکروبی در تجزیه دیواره سلولی ممکن است مربوط به روش های متفاوت برای جداسازی گروه های میکروبی شکمبه باشد. تولید گاز از نمونه های آزمایشی توسط مجموع باکتری و پروتوزواها به طور معنی داری بیش از پروتوزواها و یا باکتریها به تنهایی بود، که نشان دهنده اثرات متقابل همکوشی بین گروه های مختلف میکروبی مخصوصاً بین باکتری ها و قارچها در شکمبه می باشد. گاز تولید شده توسط مجموع پروتوزوا و قارچ بعد از ۹۶ ساعت انکوباسیون خیلی نزدیک به حجم گاز تولیدی از پروتوزواها یا قارچ ها به تنهایی بود.

نتیجه گیری

نتایج این آزمایش نشان داد که تولید گاز از بخش قابل تخمیر پیت خام نیشکر عمل آوری شده با بخار، توسط گروه های مختلف میکروبی شکمبه، هضم پذیری ماده آلی و انرژی متابولیسمی، بیش از میزان این فراسنجه ها توسط این میکروارگانیسم ها به طور جداگانه است. بیشترین مقدار تولید گاز توسط کل میکروارگانیسم های شکمبه و کم ترین مقدار هم توسط پروتوزواهای شکمبه مشاهده شد. هم چنین در همه گروه های میکروبی شکمبه، تولید گاز از بخش قابل تخمیر پیت خام عمل آوری شده با بخار، بیش از نمونه های عمل آوری نشده بود.

میکروارگانیسم های اصلی هضم کننده دیواره سلول گیاهی در شکمبه، باکتری های سلولولیتیک می باشند (۱۱)، به گونه ای که محققان گزارش کردند تعداد زیادی از آن ها توانایی مصرف سلولز کریستالی و یا زایلان را به عنوان منابع انرژی دارند (۱۳). بر طبق مطالعه اکین و همکاران (۱)، قارچ های شکمبه بیش از ۷۰ درصد هضم سلولز در شرایط آزمایشگاهی را دارند. از طرفی، حدود ۲۵ تا ۳۰ درصد کل هضم الیاف توسط پروتوزواها انجام می شود (۲۴). *Epidinium ecuadatum* دارای اندوگزیلاناز است که گزیلان، آرابینوزایلان و همی سلولز را تجزیه می کند (۳). نتایج آزمایشی دیگر (۳۲) نیز نشان داد که اگر چه پروتوزوا نقش مهمی در هضم الیاف در شکمبه دارند، اما حذف آنها اجازه می دهد که باکتری ها بیشتر روی الیاف گیاهی کلونی تشکیل دهند. پروتوزواها هضم الیاف را مستقیماً با تحریک باکتری های سلولولیتیک افزایش می دهند (۳۷). مطابق با نتایج این آزمایش، بالاترین مقدار تولید گاز از بخش قابل تخمیر بعد از مایع شکمبه صاف شده (کل جمعیت میکروبی شکمبه)، به ترتیب توسط مجموع باکتری و پروتوزوا و باکتری و قارچ بود و این حالت برای هر دو نمونه آزمایشی (پیت خام و پیت عمل آوری شده با بخار آب تحت فشار) مشاهده شد، که تایید کننده نتایج دانش مسگران و محمدآبادی (۲۹) بود. اما دیگران (۱۶)، گزارش کردند که بالاترین نرخ تولید گاز مربوط به مایع شکمبه حاوی مجموع باکتری و پروتوزوا بود. این نتایج متفاوت در مورد شرکت گروه های مختلف

منابع

- 1- Akin, D. E., N. Ames Gottferd, R. D. Hartly, R. G. Fulcher, and C. L. Rigsby. 1990. Micro-spectrometry of phenolic compounds in Bermuda grass cell walls in relation to microbial digestion. *Crop. Sci.* 10:396-401.
- 2- Bauchop, T., and D. O. Mountfort. 1981. Cellulose fermentation by a rumen anaerobic fungus in both the absence and the presence of rumen methanogens. *Appl. Environ. Microb.* 42: 1103-1110.

- 3- Bonhomme, A. 1990. Rumen ciliates: their metabolism and relationship whit bacteria and their hosts. Anim. feed Sci.Tech. 30:203-266.
- 4- Brownell, H. H., and J. N. Saddler. 1987. Steam pre-treatment of lignocellulosic material for enhanced enzymatic hydrolysis. Biotech. Bioeng. 29: 228-235.
- 5- Capretti, G., A. Marzetti, B. Ficher, P. L. Beltrame, P. Carniti, and F. Sciaraffia. 1987. Fibres and chemicals from steam exploded straw. In: Int. Conf. Proc. Straw - a valuable raw material, Cambridge, 27-29 October 1987. p. 37.
- 6- Castro, F. B., P. M. Hotten, and E. R. Qrskov. 1994. Inhibition of rumen microbes by compounds formed in the steam treatment of wheat straw. Biores. Tech. 50: 25-30.
- 7- Castro, F. B., and P. F. Machado. 1990. Feeding value of steam sugar cane bagasse in ruminant ration. Lives. Res. rural Develop. 2, no 1.
- 8- Chaji, M., and A. A. Naserian. 2006. Chemical composition and *in situ* dry matter degradability of sugar cane pith treated with steam at high pressures. Proc. Br. Soci. Anim. Sci.158.
- 9- Chaji, M., A. A. Naserian, R. Valizadeh, F. Eftekhari Shahroodi, and T. Mohammadabadi. 2008. The *in vitro* gas production of untreated and high pressure steam treated sugarcane pith. Proc. Br. Soci. Anim. Sci. 250.
- 10- Chaji, M., and T. Mohammadabadi. 2011. The Investigation of *in vitro* fermentation of sugarcane Pith treated with low temperature steam and sulphuric acid by isolated rumen microbial fractions. Anim. Nutr. Feed Tech. 11: 185-193.
- 11- Cheng, K. J., C. W. Forsberg, H. Minato, and J. W. Costerton. 1991. Microbial ecology and physiology of feed degradation within the rumen. Tsuda T, Sasaki Y, Kawashima R, (ed). Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants. Toronto, Ontario, Canada: Academic Press. pp. 595 – 624.
- 12- Danesh Mesgaran, M., T. Mohammadabidi, A. R. Heravi Moussavi, and M. Nassiry. 2009. Disappearance of dry matter and neutral detergent fibre (NDF) of sunflower meal treated with sodium hydroxide or formaldehyde by isolated mixed rumen bacteria using *in vitro* culture. Proc. Br. Soci. Anim. Sci. 183.
- 13- Dehority, B. A. 1991. Symposium on 'Fibre digestion in farm livestock' Effects of microbial synergism on fibre digestion in the rumen. Proceedings of the Nutrition Society. 50: 149-159.
- 14- Grohmann, K., R. Torget, and M. Himmel. 1985. Optimization of dilute acid pre-treatment of biomass. Biotech. Bioeng. Symp. 15: 59-80.
- 15- Hart, M. R., H. G. Walker Jr. R. P. Graham, P. J. Hanni, A. H. Brown, and G. O. Kohler. 1980. Steam treatment of crop residues for increased ruminant digestibility. I. Effects of process parameters. J. Anim. Sci. 5: 402- 408.
- 16- Hidayat, K., K. Hillman, C. J. Newbold, and C. S. Stewart. 1993. The contributions of bacteria and protozoa to ruminal forage fermentation *in vitro*, as determined by microbial gas production. Anim. Feed Sci. Tech. 42: 193 – 208.
- 17- Horton, G. M. J., F. M. Pate, and W. D. Pitman. 1991. The effect of steam pressure treatment, pelleting and ammoniation on the feeding value of sugarcane bagasse for cattle. Can. J. Anim. Sci. 71: 79-86.
- 18- Hungate, R. E. 1966. The rumen and its microbes. Academic Press, Inc., New York, N.Y.
- 19- Joblin, K. N. 1990. Bacterial and protozoal interactions with ruminal fungi. In: Akin DE, Ljungdahl, and L.G. Wilson JR.
- 20- Karimi, N., A. Nikkhah, M. Zahedifar, H. Fazaeli, and M. Chamani. 2008. Study of steam pressure and reaction time effect on chemical composition and degradability of palm date leaves Proc. Br. Soci. Anim. Sci. 241.
- 21- Karina, M., M. Tanahashi, and T. Higuchi. 1992. Degradation mechanism of lignin by a steam explosion. IV. Steam treatment of a dehydrogenative polymer of coniferyl alcohol. Mokuza Gakkaishi. 38: 159-165
- 22- Kling, S. H., C. Carvalho-Neto, M. A. Ferrara, J. C. R. Torres, D. B. Magalhaes, and D. D. Y. Ryu. 1987. Enhancement of enzymatic hydrolysis of sugar cane bagasse by steam explosion treatment. Biotech. Bioeng. 29: 1035-1039
- 23- Kyuma, T., M. Ishida, and A. Takigawa. 1991. Influence of furfural contents in steamed wood on the feed consumption and digestibility in goats. Bull. Nat. Inst. Anim. Ind. 51:59-63.
- 24- Lee, S. S., J. K. Ha, and K. J. Cheng. 2000. Relative contributions of bacteria, protozoa, and fungi to *in vitro* degradation of orchard grass cell walls and their interactions. Appl. Environ. Microb. 66: 3807 – 3813.
- 25- Lin, K. W., M. R. Ladicsh, M. Voloch, J. A. Patterson, and C. H. Noller. 1985. Effect of pretreatments and fermentation on pore size in cellulosic materials. Biotech. Bioeng. 27:1427-1433.
- 26- Liu, J. X., E. R. Orskov, and X. B. Chen. 1999. Optimization of steam treatment as method for upgrading rice straw as feeds. J. Anim. Feed Sci. Tech. 76: 345-357.
- 27- Liu, J. X., and E. R. Orskov. 2000. Cellulase treatment of untreated and steam pre-treated rice straw effect on *in vitro* fermentation characteristic. Anim. Feed Sci. Tech. 88: 189-200.
- 28- Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Anim Res Develop. 28: 6-55.
- 29- Mesgaran, M. D., and T. Mohammadabadi. 2010. The effect of fat content of chemically treated sunflower meal on *in vitro* gas production parameters using isolated Rumen microbiota. J. Anim. Vet. Adv. 9: 2466-2471.
- 30- Morjanoff, P. J., and P. P. Gray. 1987. Optimization of Steam Explosion as a Method for Increasing Susceptibility

- of Sugarcane Bagasse to Enzymatic Saccharification. *Biotech. Bioeng.* 29: 733-741.
- 31- Muzzy, J. D., R. S. Roberts, C. A. Fieber, G. S. Faass, and T. M. Mann. 1983. Pre-treatment of hardwood by continuous hydrolysis. J. Soltes ed. *Wood and Agricultural Residues*. Academic Press, New York, pp. 351-368.
 - 32- Newbold, C. J., P. W. Griffin, and R. J. Wallace. 1989. Interaction between rumen bacteria and ciliate protozoa in their attachment to barley straw. *Lett. Appl. Microb.* 8: 63-66.
 - 33- Orskov, E. R., and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *J. Agric. Sci. Camb.* 92: 499-503.
 - 34- Osorio, H., and De La. Cruz. 1990. Steam treated bagasse for fattening cattle. Effect of supplementation with *Giricidia sepium* and urea/molasses. *J. Livs. Res. Rural devel.* 2(2).
 - 35- SAS Institute. Inc. 1996. *SAS/STAT User's Guide: Version 6*. 4th edn. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
 - 36- Toussaint, B., G. Excofier, and M. R. Vignon. 1991. Effect of steam explosion treatment on the physico-chemical characteristics and enzymic hydrolysis of poplar cell wall components. *Anim. Feed Sci. Tech.* 32: 235-242.
 - 37- Williams, A. G., and S. E. Witters. 1982. The production of plant cell wall polysaccharidedegrading enzymes by hemicellulolytic rumen bacterial isolates grown on a range of carbohydrate substrates. *J. Appl. Bact.* 52: 377-387.
 - 38- Zhang, Y., W. Gao, and Q. Meng. 2007. Fermentation of plant cell walls by ruminal bacteria, protozoa and fungi and their interaction with fibre particle size. *Arch. Anim. Nutr.* 61(2): 114-125.

Archive of SID