چکیده
جهت بررسی تأثیر بازیدیومیست پوسیدگی سفید، *Phanerochaete chrysosporium* در بهبود ارزش غذائی کاه گندم آزمایشی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با دو گروه آزمایشی گروه شاهد، کاه گندم بدون قارچ و گروه آزمایشی، کاه گندم همراه با کنیدیسپورهای قارچ مذکور در هفت تکرار صورت گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که مقادیر ماده خشک، پروتئین خام، الیاف خام، خاکستر، ADF، NDF، ADL، همی سلولز و قابلیت هضم به روش آزمایشگاهی برای گروه شاهد (کاه بدون قارچ) به ترتیب ۹۰/۷، ۳/۱۲، ۴۲/۲۲، ۱۰/۲۸، ۴۸/۹۷، ۷۲/۶۱، ۹/۲۵، ۲۳/۶۴، ۳۸/۵۵ و این مقادیر برای کاه همراه با قارچ ۹۲/۴، ۵/۴۵، ۳۰/۲۸، ۱۵/۵۷، ۳۶/۸، ۴۶/۸۱، ۵/۸۸، ۱۰/۰۱ و ۴۷/۱۴ بود که اختلاف بین مقادیر اندازه‌گیری شده در تمامی موارد معنی‌دار بود ($P<0/05$). با توجه به آنکه قارچ مذکور از میکروارگانیسم‌های تجزیه‌گر لیگنین است به نظر می‌رسد با ترشح آنزیم‌های لیگنین پراکسیداز (Lip) و منگنز پراکسیداز سبب زدودن لیگنین و شکستن پیوندهای بین لیگنین و پلی ساکارید شده، میزان الیاف خام و دیوارهٔ سلولی بدون همی‌سلولز را نسبت به گروه شاهد کاهش داده است، بنابر آنچه مشاهده شد و نیز اثر تخریبی مهم بازیدیومیست پوسیدگی سفید – *Phanerochaete chrysosporium* شاید بتوان از گونه‌های مختلف قارچهای پوسیدگی سفید جهت لیگنین‌زدایی مواد خشبی بهره‌برداری نمود و از طریق افزایش قابلیت هضم این مواد تا حدودی کمبود منابع خوراک دام در کشور را مرتفع نمود.

✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۳۷، زمستان ۱۳۷۶

لیگنین‌زدایی بیولوژیکی کاه گندم با استفاده از بازیدیومیست *Phanerochaete chrysosporium*

● علیرضا هادی‌زاده تثبیتی، سیداحمد میرهادی و حسین غلامی، اعضاء مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور

مقدمه

مواد خشبی که اغلب به مصرف تغذیه دام میرسند اعم از کاه، کلش، باگاس و دیگر مواد فرعی کشاورزی معمولاً قابلیت هضم پائین داشته و بخش عمدهٔ آنها از دیوارهٔ سلولی تشکیل شده است شکل (۱). دیواره سلولی از سلولز، همی‌سلولز، لیگنین و مواد معدنی ساخته شده است که در این میان لیگنین علاوه بر این که خود قابل هضم نیست بلکه مانع از هضم اجزاء دیگر یعنی سلولز و همی‌سلولز نیز می‌گردد. پیوندهای کربن – کربن واتری لیگنین با هیدرولیز ساده شکسته نمی‌شوند و این امر موجب می‌گردد که تجزیه ساختمان آن مشکل شود (۴ و ۳). بنابراین مواد فرعی کشاورزی دارای ارزش غذایی عمده‌ای نبوده و لازم است از طرق مختلف بر کیفیت آنها افزود (۴). یکی از روش‌های عمل آوری بیولوژیک جهت افزایش ارزش غذایی مواد خشبی استفاده از میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده لیگنین است (۵ و ۴). میکروارگانیسم‌های تجزیه‌گر لیگنین عمدتاً سه گروه قارچ‌ها، اکتینومیست‌ها و یوباکترها می‌باشند که مهمترین گروه تجزیه کننده لیگنین در طبیعت قارچ‌ها خواهند بود (۲۱). در مورد قارچ‌ها باید دانست که سیستم‌های تخریب لیگنین در گونه‌های مختلف متفاوت است (۷).

این قارچ‌ها به سه گروه اصلی تقسیم می‌شوند: قارچ‌های پوسیدگی نرم[1]، قارچ‌های پوسیدگی قهوه‌ای[2]، (که از سلولز و همی‌سلولز استفاده می‌کنند) و قارچ‌های پوسیدگی سفید[3] که باعث تجزیه لیگنین، سلولز و همی‌سلولز می‌گردند (۲۶). رشد قارچ به وسیلهٔ نفوذ هیف به درون سلول گیاهی و از سلولی به سلول دیگر است برخی از آنها هیف خود را به درون تیغهٔ میانی و برخی به دیوارهٔ ثانویه می‌فرستند (شکل ۲). این قارچ‌ها از قارچ‌های رشته‌ای بازیدیومیست و مزوفیل بوده، حرارت مناسب آنها بین ۳۰-۲۰ درجه سانتی‌گراد است، با این وجود *Phanerochaete chrysosporium* (قارچ پوسیدگی سفید با پتانسیل قوی تجزیه لیگنین) تا دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد را نیز تحمل می‌کند. تجزیهٔ لیگنین توسط این قارچ‌ها یک روند پیچیدهٔ بیوشیمیائی است و برخلاف بیشتر روندهای هضمی در این مورد تکید اصلی بر آنزیم‌های هیدرولیتیک نمی‌باشد بلکه تجزیه لیگنین به وسیله آنزیم‌های اکسیداتیو و فنل‌اکسیدازها شامل لیگنین پراکسیداز و منگنز پراکسیداز و در برخی از قارچ‌ها به وسیله لاکاز انجام می‌شود (۲۶ و ۷). چرخهٔ نحوهٔ عمل آنزیم لیگنین پراکسیداز (lip) در شکل شماره ۳ توصیف گردیده است (۱۳).

آنزیم‌های تجزیه‌گر لیگنین در *Phanerochaete chrysosporium* وجود دارد (۷).

Jung (۱۹۹۲) با استفاده از ۵ قارچ بازیدیومیست آزمایشی انجام داد و افزایش معنی‌داری در قابلیت هضم سوبسترا به وسیلهٔ *P. chrysosporium* را نشان داد (۱۸). همچنین در پژوهش دیگر لیگنین‌زدایی به

جدول شماره ۱- ترکیبات شیمیایی کاه گندم عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با قارچ *P. chrysosporium* بر حسب ماده خشک

صفات اندازه‌گیری شده		گروههای آزمایشی: کاه گندم عمل‌آوری نشده	کاه گندم عمل‌آوری شده با قارچ *P. chrysosporium*	t محاسبه شده
ماده خشک	٪	۹۰/۷±۰/۲۳	۹۲/۴±۰/۱۶	۶/۰۴*
پروتئین خام	٪	۳/۱۲±۰/۰۷	۵/۴۵±۰/۱۸	۱۱/۶۷*
الیاف خام	٪	۴۲/۲۲±۰/۱۲	۳۰/۲۸±۰/۱۵	۶۰/۰۲*
خاکستر	٪	۱۰/۲۸±۰/۱۷	۱۵/۵۷±۰/۲۴	۱۷/۶۶*

ns تفاوت معنی‌دار نیست * تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد ($P<0/05$)

جدول شماره ۲- مقادیر دیواره سلولی بدون همی سلولز، دیواره سلولی، لیگنین (ADL)، همی سلولز و قابلیت هضم (به روش آزمایشگاهی) کاه گندم عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با قارچ *P. chrysosporium* بر حسب ماده خشک

صفات اندازه‌گیری شده		گروههای آزمایشی: کاه گندم عمل‌آوری نشده	کاه گندم عمل‌آوری شده با قارچ *P. chrysosporium*	t محاسبه شده
دیواره‌سلولی‌بدون‌همی‌سلولز (ADF)	٪	۴۸/۹۷±۰/۹۴	۳۶/۸±۰/۴۳	۱۱/۷۲*
دیواره سلولی (NDF)	٪	۷۲/۶۱±۰/۴۷	۴۶/۸۱±۰/۵	۳۷/۱۵*
ADL	٪	۹/۲۵±۰/۲۴	۵/۸۸±۰/۱۳	۱۱/۹۸*
همی‌سلولز	٪	۲۳/۶۴±۱/۱۴	۱۰/۰۱±۰/۴۲	۱۱/۱۷*
قابلیت هضم	٪	۳۸/۵۵±۱/۰۶	۴۷/۱۴±۰/۷۱	۶/۶۹*

ns تفاوت معنی‌دار نیست * تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد ($P<0/05$)

روش‌های بیوشیمیایی و بیولوژیکی توسط Hans و همکاران (۱۹۹۲) مقایسه گردید و مشخص شد که لیگنین‌زدایی شیمیایی عمدتاً باعث از بین رفتن لیگنین می‌شود اما در روش بیولوژیک تخریب لیگنین به مراتب بیشتر است (۱۴).

Akin و همکاران (۱۹۹۳) سه گونه وحشی و دو گونه جهش یافته از قارچ پوسیدگی سفید *P. chrysosporium* را بر روی علف برمودا کشت داده و مشاهده نمودند که *Ceriporiopsis subvermispora* به مقدار زیاد اسیدهای فرولیک و پاراکوماریک با اتصالات استری و نیز مقدار زیادی از ترکیبات حلقوی با اتصالات غیراستری را حذف می‌نماید (شکل شماره ۴) (۸). این تحقیقات نشان می‌دهد که استفاده از روش‌های بیولوژیک در عمل آوری مواد خشبی احتمالاً تلاشی در جهت استفاده کمتر از مواد شیمیایی و مصرف کمتر انرژی در مقایسه با روش‌های فیزیکی و شیمیایی است (۴). بنابراین هدف از این بررسی بهبود ارزش غذایی کاه گندم بوسیله تأثیر یک گونه بازیدیومیست پوسیدگی سفید موسوم به *Phanerochaete chrysosporium* می‌باشد. این قارچ در سلسلهٔ قارچ‌ها در ردهٔ بازیدیومیستها و راستهٔ پلی‌پورالس طبقه‌بندی می‌گردد (شکل شماره ۵) (۱۹). رشد این قارچ سریع بوده و رنگ آن سفید تاکرم و سطح کلنی اغلب پودری تاگرانولر می‌باشد، کنیدیاها تک سلولی و شفاف هستند (۱).

مواد و روشها

در این آزمایش از بازیدیومیست پوسیدگی سفید *P. chrysosporium* سویهٔ DSM-6909 استفاده گردید.

قبل از تلقیح به سوبسترای اصلی، قارچ، بر روی محیط Malt extract agar کشت داده شد. ترکیب محیط کشت شامل مواد زیر می‌باشد (۶):

Malt extract 20.0 gr, glucose 20.0 gr, peptone 10.0 gr, Agar 20.0 gr, Distilled water 1.0 lit.

محیط‌های کشت پس از تلقیح کنیدیسپورهای قارچ، به انکوباتور ۲۸ درجه سانتی‌گراد برای ۵ روز منتقل گردید. پس از اتمام دورهٔ انکوباسیون و رشد قارچ در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند (شکل شماره ۵).

کاه گندم به عنوان بستر اصلی آزمایش (*Triticum aestivum*: 90.7% DM) ابتدا از آسیاب (Tecator - 1093-cyclotec) یک میلی‌متری گذشته و پس از توزین با ترازو به میزان ۶ گرم، به فلاسک‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل گردیدند. به هر فلاسک ۱۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه شده بوسیله اتوکلاو (۸۵ لیتری - مگا ساخت ایران) استریلیزه شدند. هفت فلاسک آزمایشی (کاه‌گندم حاوی قارچ) و هفت فلاسک شاهد (کاه گندم) انتخاب گردیدند. مجموعه فلاسک‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳۰ روز نگهداری شده پس از طی زمان مذکور، مجدداً استریل گردیده جهت تجزیه شیمیائی مورد استفاده قرار گرفتند (شکل‌های شماره ۷ و ۶) (۲۷ و ۱۸).

برای تعیین ماده خشک، نمونه در آون خشک شد. وزن نمونه‌ها قبل و بعد از خشک شدن با استفاده از ترازوی (Sartorius-R-160-P) با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد (۱۶). اندازه‌گیری پروتئین خام نمونه‌ها با استفاده از دستگاه کجلدال (Kjeltec-Auto-1030-tecator) انجام گرفت (۲۲).

تعیین الیاف خام به وسیلهٔ Fibertec system - 1010-tecator و اندازه‌گیری خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی Heraeus-M-110 در دمای ۵۵۰ °C بر طبق روش‌های AOAC انجام گرفت (۲۲، ۲۰ و ۱۵).

برای تعیین ADF[۴] و NDF[۵] براساس روش Harris و Van Soest از محلول شوینده اسیدی (جهت تعیین دیواره سلولی بدون همی سلولز) ومحلول شوینده خنثی (جهت تعیین دیواره سلولی) استفاده گردید (۳۱ و ۱۶).

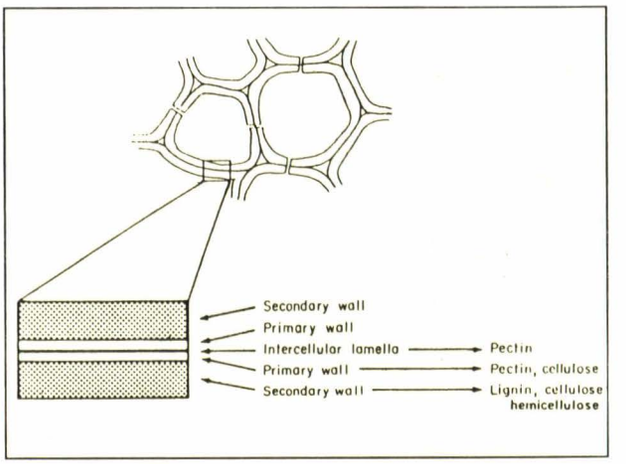
لیگنین[۶] از اضافه کردن اسید سولفوریک ۷۲٪ به بقایای ADF (دیواره سلولی بدون همی‌سلولز) نمونه‌ها و پس از صاف کردن اسید و خشک شدن نمونه‌ها، با احتساب اختلاف وزن قبل و بعد از سوختن در کوره ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد بر مبنای روش‌های AOAC و Harris تعیین گردید (۲۲ و ۱۶). همی‌سلولز از اختلاف NDF با ADF محاسبه شد (۳۱).

اندازه‌گیری قابلیت هضم در آزمایشگاه (In vitro) با استفاده از روش Tilly and Terry انجام گرفت، در مرحله اول در طی ۴۸ ساعت میکروارگانیزم‌های شکمبه هضم بی هوازی را انجام دادند، در مرحلهٔ دوم در طول ۴۸ ساعت هضم پپسین در محیط اسیدی (pH=۲) صورت گرفت که هر دو مرحله در دمای ۳۹-۳۸ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت (۳۱، ۳۰ و ۱۶). برای بررسی آماری، میانگین دو گروه آزمایشی و شاهد به روش T-Test در سطح ۵ درصد در ۲ تیمار شامل ۷ تکرار تجزیه واریانس گردید.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج آزمایشات نشان داد که میزان ماده خشک، پروتئین خام، الیاف خام و خاکستر در کاه گندم

۱



۲

شکل شماره ۱- ساختمان و خصوصیات شیمیائی بافت گیاهی (۱۰)
شکل شماره ۲- میسلیوم‌های قارچ پوسیدگی سفید، منتشر شده در ساختمان دیواره سلولی چوب کاج
شکل شماره ۳- چرخهٔ نحوه عمل آنزیم Lip ترشح شده از بازیدیومیست پوسیدگی سفید (*Phanerochaete chrysosporiun*) (۱۱).
شکل شماره ۴- میکروگراف الکترونی از دیواره سلولی علف برمودا و تخریب تیغه میانی و دیگر اجزا دیواره به وسیله آنزیمهای Lip و لاکاز ترشح شده از بازیدیومیست پوسیدگی سفید (۱۴).

عمل‌آوری نشده (گروه شاهد) به ترتیب ۹۰/۷، ۳/۱۲، ۴۴/۲۲ و ۱۰/۲۸ درصد و در کاه گندم عمل‌آوری شده با قارچ (گروه آزمایش) ۹۲/۴، ۵/۴۵، ۳۰/۲۸ و ۱۵/۵۷ درصد بوده (جدول شماره ۱) و اختلاف بین میانگین‌های اندازه‌گیری شده در تمامی موارد معنی‌دار می‌باشد ($P<0/05$). از آنجاکه خود قارچ نیز دارای ماده خشک می‌باشد بالا بودن درصد ماده خشک در گروه آزمایشی نسبت به کنترل قابل توجیه است.

Hamissa و Shoukry (۱۹۸۵) افزایش ماده خشک باگاس نیشکر را بعد از عمل‌آوری قارچی گزارش نمودند (۲۹ و ۱۷). طبق داده‌های جدول ۱ درصد پروتئین خام کاه عمل‌آوری شده با قارچ بیش از کاه عمل‌آوری نشده است. این نتایج، با مطالعات مشابه محققین قبلی از جمله Beg (۱۹۸۶)، Boda (۱۹۹۰) Kokhreidze (۱۹۹۳)، Leng (۱۹۹۱) و Sundstol (۱۹۸۴) مطابقت دارد. بنابر نظر این محققین افزایش پروتئین حقیقی با کیفیت بالا و باقی‌ماندن برخی ویتامین‌ها در ماده خشبی عمل‌آوری شده، دلیلی بر افزایش سرعت تجزیه پلی‌ساکاریدهای ساختمانی و نیز بالارفتن راندمان میکروبی خواهدبود(۱۱،۲۳،۲۵،۲۸و۱۰).

همانگونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود درصد الیاف خام از ۴۲/۲۲ در کاه گندم شاهد به ۳۰/۲۸ در کاه گندم عمل‌آوری شده تغییر یافته به عبارت دیگر درصد الیاف خام، در نمونه عمل‌آوری شده کاهش داشته است. علت پائین بودن درصد الیاف خام می‌تواند به دلایل احتمالی زیر باشد. می‌دانیم که *Phanerochaete chrysosporium* قادر به ترشح آنزیم‌های سلولتیک از جمله کلوکونازها و آنزیمهای اکسیداتیو و اکسیدو ردوکتاز می‌باشد. تجزیه لیگنین توسط این آنزیم‌ها در شرایط هوازی رخ می‌دهد. قارچ‌های تجزیه‌گر لیگنین ظاهراً قدرت استفاده از لیگنین به عنوان تنها منبع کربن را نداشته برای رشد و نمو خود از سلولز و همی‌سلولز نیز استفاده می‌کنند (۲۶ و ۷). بنابر آنچه گفته شد می‌توان این گونه برداشت نمود که علت پائین بودن الیاف خام در نمونه‌های کاه حاوی قارچ، استفاده میکروارگانیسم از پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی جهت رفع نیازهای خود می‌باشد. نتایج مشابهی توسط Hamissa (۱۹۸۵) و Shoukry (۱۹۸۵) در عمل‌آوری باگاس نیشکر بوسیلهٔ تیمارهای قارچی *Trichoderma viride* به دست آمده است که میزان الیاف خام از ۵۶/۷به ۴۹/۳ در آزمایش Hamissa و از ۴۵/۲ به ۳۲/۴ در آزمایش Shoukry کاهش نشان داده است (۲۹ و ۷).

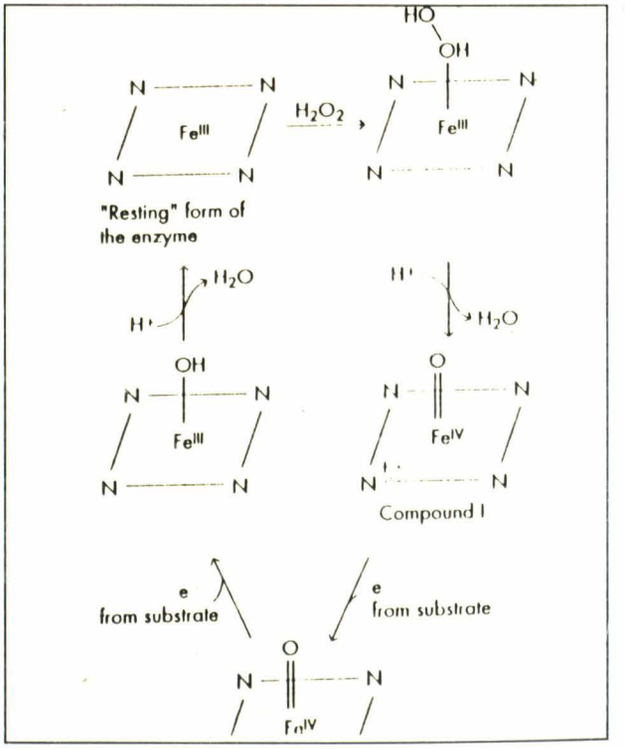
بر طبق داده‌های جدول شماره ۱ درصد خاکستر کاه گندم عمل‌آوری شده میسلیوم قارچی بیشتر از کاه گندم عمل‌آوری نشده است. این مسئله به دلیل مورد استفاده قرار گرفتن بخشی از سلولز و همی‌سلولز دیواره سلولی و احتمالاً مصرف بیشتر مواد آلی و باقی ماندن زیادتر مواد معدنی در واحد وزن مواد و نهایتاً افزایش درصد خاکستر است. این داده‌ها با نتایج حاصله از مطالعهٔ Agosin و همکاران (۱۹۸۶) که از چند گونه قارچ پوسیدگی سفید *P. chrysosporium* در پیش عمل‌آوری کاه گندم استفاده کرده بودند (۹) و نیز با مطالعات مشابه Rai و همکاران (۱۹۸۹)، Calazada و همکاران (۱۹۸۷)، Hamissa (۱۹۸۵) و Shoukry (۱۹۸۵) در کاربرد قارچ *T. viride* مطابقت می‌نماید (۲۷، ۱۲، ۱۷ و ۲۹). نتایج جدول شماره ۲ نشان می‌دهد که اجزاء دیواره سلولی اعم از ADF، NDF، ADL و همی‌سلولز در کاه گندم عمل‌آوری نشده (گروه شاهد) به ترتیب از ۴۸/۹۷، ۷۲/۶۱، ۹/۲۵ و ۲۳/۶۴ به ۳۶/۸، ۴۶/۸۱، ۵/۸۸ و ۱۰/۰۱ کاهش پیدا کرده است که در نهایت در قسمت الیاف خام در جدول شماره ۱ نیز مشاهده گردید. همچنین قابلیت هضم به روش آزمایشگاهی از ۳۸/۵۵ به ۴۷/۱۱ افزایش یافته است که اختلاف بین میانگین‌های اندازه‌گیری شده در تمامی موارد معنی‌دار می‌باشد ($P<0/05$).

کاه گندم استفاده شده در این آزمایش از نمونه‌های موجود در انبار مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور تهیه شده است، میزان معیارهای فوق الذکر با توجه به کاه واریته‌های مختلف گندم متغیر خواهد بود به طوریکه در گزارش شریفی (۱۳۷۳) درصد دیواره سلولی بدون همی سلولز (ADF)، دیواره سلولی (NDF)، همی‌سلولز و قابلیت هضم ارقام مختلف کاه گندم زمستانه در مناطق سردسیری و معتدله به ترتیب در دامنه‌های ۵۲-۴۱ برای ADF، ۷۸/۵-۶۸/۵ برای NDF، ۲۸/۹-۲۳/۹ برای همی سلولز و ۵۹/۹-۳۷/۷ برای قابلیت هضم تعیین گردیده است (۲).

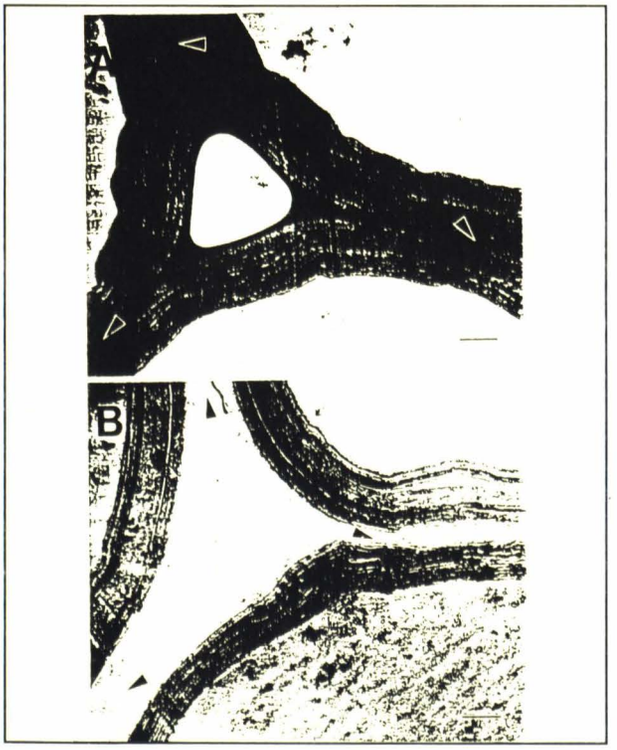
بر طبق داده‌های جدول شماره ۲ همانگونه که انتظار می‌رفت میزان درصد اجزاء دیواره سلولی (همی‌سلولز، ADL، NDF و ADF) در گروه آزمایشی نسبت به گروه شاهد کاهش محسوسی را نشان می‌دهد. عوامل احتمالی این کاهش را می‌توان بدین گونه تفسیر نمود که قارچ‌های پوسیدگی سفید به طور اختصاصی در تجزیه لیگنین فعال بوده باعث تجزیه کامل لیگنین می‌شوند (۱۰).

تجزیه لیگنین بوسیله آنزیم‌های اکسیداتیو و فنل اکسیدازها انجام می‌شود. این آنزیم‌ها از سلول قارچی ترشح شده و وظیفه آنها اکسیده کردن لیگنین می‌باشد. واکنش‌های اکسیداتیو وابسته به هیدروژن پراکسید بوده و تولید H_2O_2 خود مستلزم وجود آنزیم‌های دیگر

۳



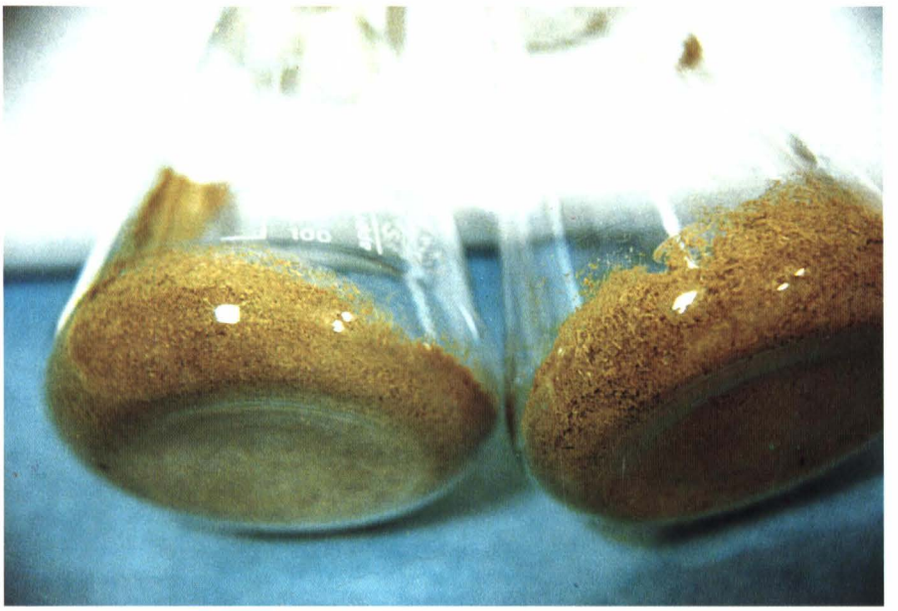
۴



است. اکسیداسیون لیگنین غیر اختصاصی بوده، در ابتدا حلقهٔ لیگنینی باز می‌شود و سپس رادیکال‌های کاتیونی ناپایدار بوجود می‌آید که این رادیکال‌ها سبب واکنش‌های غیر آنزیمی بعدی می‌گردند. واکنش‌های دیگر می‌تواند شامل باز شدن حلقه‌های لیگنین، شکست زنجیره‌های جانبی، تخریب اتصالات بین مونومرها و دیگر واکنش‌های اکسیداسیون گردد.

علاوه بر آن تجزیه لیگنین به تولید یک متابولیت ثانویه دیگر به نام الکل و راتریل وابسته است که آن نیز توسط قارچ ترشح می‌شود (الکل و راتریل سوبسترای آنزیم Lip است). الکل وراتریل از فنل‌اکسیداز در برابر عمل اکسیدکنندگی H_2O_2 محافظت می‌نماید. در نهایت قسمت‌های تجزیه شده لیگنین توسط سلول قارچی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷، ۲۶ و ۱۳). از طرف دیگر چون لیگنین نمی‌تواند تنها منبع کربن برای رشد قارچ باشد بنابراین در ابتدا مقادیری از سلولز و همی سلولز شکسته شده و بدین طریق هم منبع کربن قارچ تأمین گردیده و هم متابولیت‌های مورد نیاز برای سنتز آنزیم‌های اصلی تجزیه لیگنین فراهم می‌شود.

بنابر آنچه گفته شد میکروارگانیسم در ابتدا باعث تجزیه و شکستن پلی ساکاریدهای دیواره سلولی می‌گردد به عبارت دیگر زمانی که مسیرهای متابولیسم اولیه شدیداً کاهش پیدا نمود و یا متوقف گردید (مرحله Throphophase)، میکروارگانیسم وارد مرحله رشد ایدیوفازیک (Idiophase) یا متابولیسم ثانویه می‌گردد. در این حالت سرعت رشد در دوره‌های تولید بیوماس تا حد زیادی کاهش یافته و در واقع به صفر می‌رسد و تحت این شرایط است که متابولیت‌های ثانویه تولید می‌شوند. در این هنگام آنزیم لیگنیناز (Lip و دیگر فنل اکسیدازها) تولید گردیده اثرات خود را اعمال می‌دارند (۱۹). با این توصیف مشخص می‌گردد که احتمالاً به علت استفاده قارچ از پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی میزان درصد اجزاء دیواره سلولی کاهش محسوسی را بعد از عمل‌آوری نشان دهند. این نتایج با داده‌های Khazaal و همکاران (۱۹۹۰)، در بررسی مشابه‌ای که بوسیله آنزیم استخراج شده از *P. chrysosporium* برای عمل آوری کاه جو انجام داده بودند مطابقت می‌نماید (۲۴). طبق جدول ۲ قابلیت هضم کاه گندم عمل‌آوری شده با قارچ بیش ازکاه گندم عمل‌آوری نشده است که اختلاف بین میانگین‌های اندازه‌گیری شده معنی‌داری می‌باشد ($P<0/05$). درکاه عمل‌آوری نشده به علت پائین بودن میزان هضم، زمان مورد نیاز جهت هضم و تخمیر کربوهیدرات‌های ساختمانی افزایش می‌یابد اما در کاه عمل‌آوری شده‌سرعت هضم‌افزایش یافته و مواد خشبی سریعتر از شکمبه عبور می‌نمایند و بدین طریق مواد مغذی موردنیازمیکروارگانیزم‌های شکمبه جهت حداکثر رشد و فعالیت فراهم می‌شود. مضاف بر اینکه کم شدن لیگنین در اثر عمل آنزیم‌های تجزیه‌گر، خود باعث افزایش قابلیت هضم و کاهش اثر ممانعت کننده لیگنین برآن خواهد بود.این نتایج با داده‌های آزمایش Jung (۱۹۹۲) در مورد قابلیت هضم همخوانی دارد (۱۸). بنابراین با توجه به کمبود منابع خوراک دام و نیز اثر تخریبی مهم و قابل توجه *P. chrysosporium* بر کاه گندم می‌توان نتیجه‌گیری کرد که شاید بتوان از گونه‌های مختلف قارچ‌های پوسیدگی سفید جهت لیگنین زدایی مواد خشبی بهره‌برداری نمود. لیکن باید توجه داشت که هر گونه تفسیر کلی و نتیجه‌گیری نهایی در این خصوص، بنابه شرایط متفاوت کشت و متابولیسم میکربی و نوع سوبسترای بکار رفته منوط به بررسی‌های تکمیلی و آزمایشات متعدد دیگر می‌باشدلذانتایج‌حاضرباید‌محتاطانه‌تجزیه‌وتحلیل شود.



شکل شماره ۶- فلاسکهای گروه شاهد حاوی کاه گندم استریل شده

شکل شماره ۵-کنیدیسپورهای *P. chrysosporium* بر روی محیط M.E. agar

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری و مساعدت معاونت محترم پژوهشی، آزمایشگاه‌های بخش تغذیه و گروه کامپیوتر مؤسسه علوم دامی قدردانی می‌گردد.

پاورقی‌ها

1- Soft - rot - fungi
2- Brown - rot - fungi
3- White - rot - fungi
4- Acid detergent fiber
5- Neutral detergent fiber
6- ADL = Acid detergent lignin

منابع مورد استفاده

۱- امامی، مسعود، کردبچه، پریوش، ۱۳۶۵. قارچ شناسی پزشکی. انتشارات دانشگاه تهران. ۴۵۵ صفحه.

۲- شریفی حسینی، محمد مهدی، ۱۳۷۳. بررسی اثر ژنوتیپ و اقلیم بر ترکیبات شیمیائی و قابلیت هضم کاه گندم، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.

۳- غلامی، حسین. ۱۳۷۲. استفاده از پوسته پنبه دانه غنی‌شده با اوره در تغذیه گاوهای شیری و گوساله‌های پرواری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

۴- فروغی، علیرضا، ۱۳۷۵. استفاده از کاه گندم فرآیند شده با قارچ در تغذیه بره‌های پرواری و تعیین قابلیت هضم آن به روش *In vitro* و *In vivo* پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

۵- محرری، علی، ۷۳-۱۳۷۲. بررسی اثر کاه گندم غنی‌شده با اوره و ملاس بر روی قابلیت مصرف، قابلیت هضم و توان تولیدی گوساله‌ها. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دامپروری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مشهد.

۶- معظمی، نسرین، ۱۳۶۸. کلکسیون قارچ‌ها و باکتریهای صنعتی و عفونی ایران. انتشارات سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران.

شکل شماره ۷ - فلاسکهای گروه آزمایشی و میسلیومهای رشد داده شده بر روی بستر کاه گندم

Influence of lignin on digestibility forage cell wall material. J. Anim. Sci: (57): 206-219.

21- Kirk, T.K., H. Takayoshi, C. Hou-min. 1980. Lignin biodegradation microbiology - chemistry and potential application. Vol. I, II. C.R.C. Press/Lnc. Florida. U.S.A.

22- Kenneth, H. 1990. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 55th ed. Virginia. U.S.A.

23- Kokhreidze, N.G. and V.I. Elisash Vili. 1993. Lignocellulytic activity of *Pleurotus ostreatus*. Tlok - 191. In the solid state fermentation of the waste of tea production. Appl. Biochem. Microbiol. 29: 169-173 (Abstr).

24- Khazaal. K.A., A.P. Dodson., P. Harvey, Y. Palmer. 1990. A preliminary study of the treatmemt of barley straw with ligninase enzyme: effect on *in vitro* digestibility and chemical composition. Biological wastes: (23) - 53-62.

25- Leng. R.A. 1991. Application of biotechnology to nutrition of animal in developing countries. Food and agriculture organization. Rome. Italy.

26- Moore - landecker. E.E. 1996. Fundamentals of the fungi. Prentice Hall. Simon and Schuster/Aviacom company: P.P. 376-383.

27 Rai, S.N, T.K. Walli and B.N. Supta. 1989. The chemical composition and nutritive value of rice straw after treatment urea or *Coprinus fimetarvius* in solid fermentation system. Anim. Feed. Sci. and Technol: 26: 91-92.

28- Sundstol, F. and F. Owen. 1984. Straw other fibrous by products as feed. Elsevier science publisher. Amesterdam. Holland.

29- Shoukry. M.M. Hamissa. F.A. Sawasanm. Ahmed A.H., El-Refai. H.M, Ali and Zmaabdel - Motagally. 1985. Nutritive improvement of some low quality roughages for ruminants. I. Effect of different microbial and chemical trealment on the quality of sugar cane bagasse. Egypt. J. Anim. Prod. 25. No, 2, P.P. 329-342.

30- Tilley. Y.M.A. and Terry. R.A. 1963. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. J. Br. Grassl. Soc. 18: 104-111.

31- Van Soest. P.Y. 1982. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell university press. Ithaca and London.

Valdez, Ronald. D. Hatfield and Robert. A. Blanchette. 1992. Cell wall compositions degradability of forage stems following chemicals biological delignification. J. sci. food. Agr. 58: 347-355.

15- Hammond, A.C.T.S. Rumsey and G.L. Haaland. 1984. Estimation of empty body water in steers by urea dilution. Growth 48:29.

16- Harris. L.E., 1970. Nutrition research techniques for domestic and wild animals. An international record system and procedures for analysing samples. Vol. Utah State Uiversity, Logan, Utah.

17- Hamissa. F.A. Shoukry M.M. Sawasan M. Ahmed M.El - Refai. A.H. Ali and Zme Abdel, Motagally, 1985. Nutrition improvement of some low quality roughages for ruminants. II. The effect of spraying urea *vs* microbial treatment on the quality of sugar cane bagasse. Egypt. J. Anim. Prod. 25. P.P. 343-353.

18- Jung. H.G. F.R. Valdez, A.R. Abad, R.A. Blanchete and R.D. Hatfield and et al. 1992. Effect of white - rot - basidiomycetes on chemical composition *in vitro* digestibility of oat straw and alfalfa stems. J. Anim. Sci: 70-1928-1935.

19- Jennings. D.H. and S. Lysek. 1996. Fungal biology: understanding the fungal lifestyle. Blos Scientific Publishers, Limited. Oxford, oxy IRE/UK.

20- Jung G. and K. P. Vogel. 1986.

7- Alexopoulous, C.Y. 1996. Introductory mycology. John Willey and Sons. Inc. U.S.A. P.P.-544-682.

8- Akin, D.E, A. Sethuraman, W.H. Morrison II. S.A. Martin and K.E.L. Erikson. 1993. Microbial delignification with white-rot fungi improves forage digestiblility. Appl. Environ. Microbiol. 59: 4274-4282.

9- Agosin. E., Marie Therese Tollier, Gean Mare Brillouet, Poerre Thivend and Etienneolier, 1986. Fungal pretreatment of wheat straw: effects on the biodegradation of cell walls, structural polysaccharides. Lignin and phenolic acid by rumen microorganisms. J. sci food. Agric. (37). 97-107.

10- Beg and et al, 1986. Rice husk biodegradation by *Pleurotvs ostreatus* to produce a ruminant feed. Agric. Wastes. 17: 15-17 (Abstr).

11- Boda. K., 1990. Nonconventional feedstuffs in the nutrition of farm animals. Elssevier applied science. Publisher co. New York.

12- Calazada J.F., Franco L.F., de Arrioza M.C., Rolz C. and Aortiz M., 1987. Acceptability of spent wheat straw after harvesting of *Pleurotus sagor-cajo*. Biol. Wastes. 22: 303-307.

13- Glazer. A., Nikaido H., 1995. Microbial biotechnology. W.H. Freeman and Company. New York. U.S.A. PP-339-347.

14- Hans, Joachim G., Jung, Fernado. R.