Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Ruminant Research

Print ISSN: 2345 - 4261
Online ISSN: 2345 - 4253

Evaluation of the effects of biological processing of wheat straw by *Aspergillus oryzae* on rumen fermentation parameters and fiber degradability in ruminants

Maryam Saghebi[1], Hamed Khalilvandi-Behroozyar[2*], Rasoul Pirmohammadi[3], Maryam Donyadoust-Chelan[4]

[1]MSc graduate, Department of Animal Sciences, Urmia University, Iran
[2]Associate Professor, Department of Animal Sciences, Urmia University, Iran, Email: h.khalilvandi@urmia.ac.ir
[3]Professor, Department of Animal Sciences, Urmia University, Iran
[4]Research and Development Department, Kimia-Danesh Alvand Enterprise Company

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 11/13/2021
Revised: 12/24/2021
Accepted: 1/30/2022

Keywords:
Agricultural by-products
Fungal enzymes
Rumen Degradability
uNDF

ABSTRACT

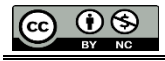
Background and Objectives: Lack of green fodder and high costs of concentrated feed is among the limiting factors in the feed and livestock production industry. Therefore, crop residues are used for feeding ruminants. These agricultural residues contain high contents of the cell wall and low amounts of protein and metabolisable energy. To improve the quality of these by-products, various processing methods are applied, including biological processes. Processing of straws using fungi has been shown to improve the nutritional value and degradability of their cell wall compounds. Therefore, this study was conducted to investigate the effect of *Aspergillus oryzae* on chemical composition, the volume of gas produced, degradability, and the amount of volatile fatty acids produced by wheat straw.

Materials and Methods: In this study, two methods of liquid culture and solid culture of fungus were used to process wheat straw. The fungal contents were transferred to jars containing sterilized wheat straw and stored at 26 ° C for 25 days. The contents of the jars were dried and ground after 25 days and used for further experiments such as chemical composition, gas volume, dry matter degradability, neutral detergent fiber and the amount of volatile fatty acids produced.

Results: Processing with *A. oryzae* reduced dry matter, organic matter, neutral detergent fiber, and indigestible neutral detergent fiber and was able to significantly increase the amount of protein (from 2.94% to 5.86% in solid culture). Processing of wheat straw by solid and liquid culture methods increased the volume of gas produced during 144 hours of incubation from 267.92 to 327.50 and 338.98 ml per gram of dry matter, respectively. Processing increased the amount of metabolisable energy and the amount of dry matter digestibility of straw and the highest amount of metabolisable energy was observed in wheat straw processed by solid culture. The effective degradability of dry matter increased at the level of 2% passing through the rumen in wheat straw processed by solid culture method. The nutritional value index increased in both treatments compared to the control group. The degradability of neutral detergent fiber was not affected by processing in solid culture but liquid culture reduced the degradability. Processing by both methods increased the total amount of volatile fatty acids produced and ammonia nitrogen of wheat straw.

Conclusion: Processing wheat straw by liquid and solid cultures of *A. oryzae* partially improved the nutritional value of this crop and affected the amount of neutral detergent fiber as well as insoluble neutral detergent fiber. It can digest some lignin-cellulosic compounds in the cell wall as solid culture exerted significant beneficial effects compared to the liquid culture. In conclusion, extracting the enzymatic complex of *A. oryzae* cultivar grown in solid culture medium and injecting it into wheat straw improves the nutritional value of straw.

Cite this article: Saghebi, M., Khalilvandi-Behroozyar, H., Pirmohammadi, R., Donyadoust-Chelan, M. (2022). Evaluation of the effects of biological processing of wheat straw by *Aspergillus oryzae* on rumen fermentation parameters and fiber degradability in ruminants. *Journal of Ruminant Research*, 10 (4), 1-20.



© The Author(s).
DOI: 10.22069/ejrr.2022.19674.1818
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

پژوهش در نشخوارکنندگان
شاپا چاپی: ۴۲۶۱-۲۳۴۵
شاپا الکترونیکی: ۴۲۵۳-۲۳۴۵

بررسی اثرات فراوری بیولوژیکی کاه گندم توسط قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای و تجزیه‌پذیری الیاف در نشخوارکنندگان

مریم ثاقبی[۱]، حامد خلیل‌وندی بهروزیار[۲*]، رسول پیرمحمدی[۳]، مریم دنیادوست چلان[۴]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه، ایران
[۲]دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه، ایران، رایانامه: h.khalilvandi@urmia.ac.ir
[۳]استاد گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه، ایران
[۴]گروه تحقیق و توسعه شرکت دانش بنیان کیمیادانش الوند

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۸/۲۲
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۱۱/٤
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۰

واژه‌های کلیدی:
آنزیم قارچی
الیاف نامحلول در شوینده خنثی گوارش‌ناپذیر
تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای
محصولات فرعی زراعی

چکیده

سابقه و هدف: کمبود علوفه سبز و هزینه‌ی بالای خوراک‌های کنسانتره‌ای از جمله عوامل محدودکننده در صنعت تغذیه و تولید دام است. لذا نشخوارکنندگان از بقایای محصولات زراعی برای تغذیه استفاده می‌کنند. این باقی‌مانده‌های کشاورزی حاوی محتوای بالای دیواره سلولی و مقدار کم پروتئین و انرژی قابل متابولیسم هستند. جهت بهبود کیفیت این محصولات فرعی زراعی از فراوری‌های مختلفی استفاده می‌شود که از جمله آن‌ها می‌توان به فراوری‌های بیولوژیکی اشاره کرد. ثابت‌شده است که فراوری کاه‌ها با استفاده از قارچ‌ها سبب بهبود ارزش غذایی و تجزیه‌پذیری ترکیبات دیواره سلولی آن‌ها می‌شود. لذا این پژوهش جهت بررسی اثر قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* بر ترکیب شیمیایی، حجم گاز تولیدی، تجزیه‌پذیری و مقدار اسیدهای چرب فرار تولیدی کاه گندم انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش از دو روش کشت مایع و کشت جامد قارچی برای فراوری کاه گندم استفاده شد. محتویات قارچی به درون شیشه‌های حاوی کاه گندم استریل شده منقل و به مدت ۲۵ روز در دمای ۲٦ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. محتویات درون شیشه‌ها پس از ۲۵ روز خشک و آسیاب گردید و برای آزمایشات بعدی نظیر تعیین ترکیب شیمیایی، حجم گاز تولیدی، تجزیه‌پذیری ماده خشک، تجزیه‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی و مقدار اسیدهای چرب فرار تولیدی مورداستفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: فراوری با قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* سبب کاهش ماده خشک، ماده آلی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف گوارش ناپذیری نامحلول در شوینده خنثی شد و توانست مقدار پروتئین را به‌طور چشمگیری افزایش دهد به‌گونه‌ای که کشت جامد سبب افزایش پروتئین از ۲/۹٤ درصد به ۵/۸٦ درصد شد. فراوری کاه گندم به روش کشت جامد و کشت مایع سبب افزایش حجم گاز تولیدی طی ۱٤٤ ساعت انکوباسیون به‌ترتیب از ۲٦۷/۹۲ به ۳۲۷/۵۰ و ۳۳۸/۹۸ میلی‌لیتر به ازای هر گرم ماده خشک گردید. فراوری توانست مقدار انرژی قابل متابولیسم و مقدار قابلیت هضم ماده خشک کاه را افزایش دهد و بیشترین مقدار انرژی قابل متابولیسم در کاه گندم فراوری‌شده به روش کشت جامد مشاهده شد. تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک در سطح ۲ درصد عبوری از شکمبه در کاه گندم فراوری‌شده به روش کشت جامد افزایش یافت. شاخص ارزش غذایی در هر دو تیمار در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. تجزیه‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی در کشت جامد تحت تأثیر فراوری قرار نگرفت اما کشت مایع سبب کاهش تجزیه‌پذیری شد. فراوری به هر دو روش کشت سبب افزایش مقدار کل اسیدهای

چرب فرار تولیدی و نیتروژن آمونیاکی کاه گندم شد.

نتیجه‌گیری: فراروی کاه گندم با قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* به روش کشت مایع و کشت جامد سبب بهبود برخی مؤلفه‌های تغذیه‌ای این محصول فرعی زراعی شد و با تأثیر بر مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی و همچنین الیاف گوارش ناپذیر نامحلول در شوینده خنثی مشخص شد که مجموعه‌ی آنزیمی این قارچ توانایی هضم برخی ترکیبات لیگنینوسلولزی دیواره سلولی را دارد و چون کشت جامد در مقایسه با کشت مایع اثرات مفید چشمگیری را به‌جای گذاشت به‌طورکلی می‌توان بیان کرد که استخراج مجموعه آنزیمی قارچ *آسپرژیلوس اوریزای* کشت یافته در محیط کشت جامد و تزریق آن به درون کاه گندم سبب بهبود ارزش تغذیه‌ای کاه می‌شود.

استناد: ثاقبی، م.، خلیل‌وندی بهروزیار، ح.، پیرمحمدی، ر.، دنیادوست چلان. م. (۱٤۰۱). بررسی اثرات فراوری بیولوژیکی کاه گندم توسط قارچ آسپرژیلوس اوریزا بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای و تجزیه‌پذیری الیاف در نشخوارکنندگان. *پژوهش در نشخوارکنندگان*، ۱۰ (٤)، ۲۰-۱.

DOI: 10.22069/ejrr.2022.19674.1818

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

تولید دام و سیستم‌های تولید دامی در کشورهای درحال‌توسعه فاقد پایداری بلندمدت است. کمبود علوفه سبز و هزینه‌ی بالای خوراک‌های کنسانتره‌ای ازجمله عوامل محدودکننده اصلی در این صنعت هستند. درنتیجه نشخوارکنندگان عمدتاً از بقایای محصولات زراعی مانند کاه گندم، کاه برنج و کاه ذرت برای تغذیه استفاده می‌کنند که این مواد خوراکی به‌سختی می‌توانند نیازهای نگهداری حیوان را برآورده سازند (Khan و Habibi، ۲۰۱۲). این باقی‌مانده‌های کشاورزی حاوی محتوای بالای دیواره سلولی و بخش بالایی از لیگنین در دیواره سلولی و مقدار کمی پروتئین و انرژی قابل متابولیسم هستند. محتوای بالای لیگنین عامل اصلی محدودکننده تجزیه میکروبی دیواره سلولی باقی‌مانده‌های کشاورزی در شکمبه است و از تجزیه کامل کربوهیدرات‌های باارزش جلوگیری می‌کند (Khan و همکاران، ۲۰۱٤). گندم یک خوراک بر پایه انرژی است که در تغذیه انسان و حیوان مورداستفاده قرار می‌گیرد. کاه گندم یک خوراک کم کیفیت است که به‌عنوان محصول فرعی کشاورزی به هنگام برداشت گندم حاصل می‌شود. به‌منظور بهبود کیفیت غذایی کاه گندم مطالعاتی بر روی علوفه‌های مختلف همانند باگاس نیشکر، کاه کلزا و کاه ماش به‌عنوان جایگزین کاه گندم انجام‌شده است. همچنین از فراوری‌های مختلف فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی برای بهبود ارزش غذایی کاه استفاده‌شده است (Ayaşan و همکاران، ۲۰۲۰). باید در نظر گرفت که فراوری‌های فیزیکی و شیمیایی ازیک‌طرف گران بوده و از طرف دیگر سبب آلودگی محیط‌زیست می‌شوند اما استفاده از فراوری‌های بیولوژیکی مانند استفاده از قارچ‌ها و عصاره مخمر آن‌ها یک روش مقرون‌به‌صرفه جهت جایگزینی با سایر روش‌ها است (Tuyen و همکاران، ۲۰۱۳).

فراوری کاه گندم با ترکیبی از سه نوع قارچ *پلوروتوس ساجور*، *پلوروتوس کولومبینوس* و *پلوروتوس فلوریدانوس* به مدت ۱٦ روز و تغذیه آن توسط خرگوش‌ها سبب افزایش وزن بدنی و ضریب تبدیل غذایی خرگوش‌ها می‌شود (El-Fallal و همکاران، ۲۰۲۰). در مطالعه‌ای مشخص شد که در طول تخمیر کاه گندم به‌صورت کشت جامد به‌وسیله ۵ گونه مختلف از قارچ پوسیدگی سفید *پلوروتوس*، ماده آلی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاهش و لیگنین به‌صورت انتخابی از مجموعه لیگنینوسلولزی حذف می‌شود. مقدار پروتئین و خاکستر در کاه فراوری‌شده افزایش می‌یابد البته این‌گونه تغییرات بستگی به گونه قارچ و نوع محیط کشت دارد (Fazaeli و همکاران، ۲۰۰٤). *آسپرژیلوس اوریزا* نوع دیگری از قارچ‌ها می‌باشد که به دلیل داشتن مجموعه آنزیمی متفاوت برای تجزیه ترکیبات لیگنینوسلولزی و پروتئین به کار می‌رود. گنجاندن *آسپرژیلوس اوریزا* در جیره نشخوارکنندگان سبب بهبود شاخص‌های تولیدی در حیوانات می‌شود (Sosa و همکاران، ۲۰۲۰). تحقیقات نشان داده است که فراوری سیلاژ ذرت و علوفه چاودار وحشی با قارچ *اوریزا* سبب افزایش حجم گاز تولیدی و مقدار کل اسیدهای چرب فرار تولیدی می‌شود (Sun و همکاران، ۲۰۱٤). در مطالعه‌ی دیگری افزودن عصاره مخمر قارچ *اوریزا* و *نیجر* به جیره کاملاً مخلوط سبب افزایش قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی شد (Kong و همکاران، ۲۰۲۱). اکثر این آزمایش‌ها با محصولات تجاری بر اساس عصاره تخمیری خشک‌شده *آسپرژیلوس اوریزا* صورت گرفته است و مطالعات کمی تأثیر *اوریزا* در سیستم‌های تخمیر مداوم (کشت مستقیم قارچ بر روی سوبسترا و پایش تأثیر قارچ بر روی سوبسترا) را مورد ارزیابی قرار داده‌اند، بنابراین این آزمایش به‌منظور

بررسی اثر کشت جامد و کشت مایع قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* بر ترکیب شیمیایی، حجم گاز تولیدی، تجزیه‌پذیری ماده خشک، تجزیه‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدهای چرب فرار تولیدی کاه گندم فراوری‌شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

محل، زمان اجرا و حیوانات مورداستفاده در آزمایش: این پژوهش از مهرماه سال ۱۳۹۸ به مدت ٦ ماه در ایستگاه آموزشی و تحقیقاتی و آزمایشگاه تغذیه دام گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه صورت گرفت. به‌منظور انجام آزمایش‌های مربوط به تجزیه‌پذیری و نمونه‌گیری از شیرابه شکمبه برای انجام آزمون تولید گاز در شرایط برون‌تنی، از سه رأس گاو نر بالغ هلشتاین استفاده شد که مجهز به فیستولای شکمبه‌ای بودند. حیوانات مورداستفاده بر اساس راهنمای نگهداری و استفاده از حیوانات مزرعه‌ای در تحقیقات علوم دامی (فدراسیون انجمن‌های علوم دامی آمریکا، ۲۰۱۰) نگهداری شدند. تمامی فرایند آزمایش با دام زنده، تحت نظارت، کنترل و تأیید کمیته اخلاق زیستی دانشگاه ارومیه بود.

آماده‌سازی نمونه‌ها و تلقیح قارچ: کاه گندم از مزرعه علوم دامی دانشگاه ارومیه تهیه و قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران) خریداری شد. جهت کشت جامد، ابتدا کاه گندم ۱۲ ساعت در آب خیسانده شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در درون اتوکلاو (ریحان طب، RT2، ایران) با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل گردید. این فرایند عیناً برای تمامی نمونه‌ها از جمله نمونه‌های گروه شاهد نیز انجام شد تا اگر تغییری در این مراحل در مقادیر گوارش‌پذیری ایجاد شود، تصحیح لازم صورت گیرد. یک قسمت (۱×۱) از قارچ رشد یافته ۷ روزه بر روی پتری‌های حاوی سیب‌زمینی دکستروز آگار به درون هر شیشه حاوی کاه گندم استریل شده در زیر هود میکرو زیستی استریل[1] منتقل شد (Ediriweera و همکاران، ۲۰۱۵) و به‌مدت ۲۵ روز در درون انکوباتور با دمای ۲٦ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. جهت کشت مایع، ۱۰ قسمت (۱×۱) از قارچ رشد یافته بر روی پتری‌های حاوی سیب‌زمینی دکستروز آگار به درون ارلن‌های استریل یک لیتری حاوی سیب‌زمینی دکستروز[2] منتقل شد (Rangkhawong، ۲۰۱٤). ارلن‌های حاوی محیط کشت مایع و قارچ به مدت ۵ روز بر روی شیکرانکوباتور (پویش طب آداک، ایران) با سرعت ۱۳۰ دور در دقیقه و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (Begum و همکاران، ۲۰۰۹). پس از ۵ روز محتویات درون ارلن‌ها توسط کاغذ صافی صاف گردید و ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول صاف‌شده در زیر هود میکرو زیستی استریل به درون شیشه‌های حاوی کاه گندم که قبلاً مقداری آب بر روی آن‌ها اسپری شده بود و توسط اتوکلاو استریل گردیده بود منتقل شد. کاه گندم حاصل به‌مدت ۲۵ روز در درون انکوباتور با دمای ۲٦ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. کاه گندم پس از گذشت ۲۵ روز از درون شیشه‌ها بیرون آورده شد و به مدت ٤ روز در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید.

تعیین ترکیب شیمیایی: کلیه نمونه‌ها با آسیاب آزمایشگاهی با الک ۱ میلی متری آسیاب گردید. ترکیب شیمیایی کاه گندم فراوری‌شده و فراوری نشده ازجمله مقادیر ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام بر اساس روش استاندارد (AOAC، ۲۰۰۰) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی با استفاده از روش فیلتر بگ (Komarek، ۱۹۹٤) و محلول‌های شوینده

1. Lamin air flow class 2
2. Potato dextrose broth

VanSoest و همکاران (۱۹۹۱) با استفاده از سیستم اندازه‌گیری آنکوم اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری الیاف گوارش ناپذیر نامحلول در شوینده خنثی (uNDF) از محتویات درون کیسه‌های نایلونی پس از ۲٤۰ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای همانند روش توصیف‌شده در بخش تجزیه‌پذیری استفاده شد و مقدار آن توسط روش Soufizadeh و همکاران (۲۰۱۸) محاسبه گردید. به‌منظور اندازه‌گیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی تصحیح‌شده برای خاکستر (NDFom)، بقایای حاصل از تعیین الیاف نامحلول در شوینده خنثی نمونه‌ها، به مدت شش ساعت در کوره الکتریکی با دمای ٤٥۰ درجه سانتی‌گراد سوزانده شد (AOAC، ۲۰۰۰).

آزمون تولید گاز و تعیین فراسنجه‌های شکمبه‌ای: میزان گاز تولیدی با استفاده از فشارسنج دیجیتالی (Theodorou و همکاران، ۱۹۹٤) در سه دور[1] مجزا و سه تکرار به ازای هر نمونه در هر دور، تعیین شد. نمونه شیرابه شکمبه از ۳ رأس گاو نر بالغ نژاد هلشتاین فیستوله‌دار پیش از مصرف وعده غذایی صبح جمع‌آوری، مخلوط و صاف گردید و در فلاسک محتوی گازکربنیک سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد. حیوانات دو بار در روز و با جیره حاوی ٤ کیلوگرم یونجه، ۳ کیلوگرم سیلاژ ذرت و ۱/۵ کیلوگرم جو خردشده تغذیه می‌شدند. پس از صاف نمودن شیرابه شکمبه، شیرابه و بافر (محلول‌های ماکرومینرال، میکرومینرال، احیا کننده، بافر و ریسازورین) مطابق روش Menke و همکاران (۱۹۷۹) و روش تصحیح‌شده Menke و Staingass (۱۹۸۸) به نسبت یک قسمت شیرابه و دو قسمت بزاق مصنوعی به داخل بالن سه دهانه مخصوص تحت جریان مداوم دی‌اکسید کربن ریخته شده و تا زمان انتقال به شیشه‌های حاوی نمونه در دمای ۳۹ درجه سلسیوس قرار گرفت. برای اندازه‌گیری میزان گاز تولیدی در ساعات مختلف، ۵۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های آزمایشی (آسیاب شده با غربال ۱ میلی‌متری) آسیاب و در شیشه‌های مخصوص ۱۲۵ میلی‌لیتری ریخته شد. به هر شیشه ۵۰ میلی‌لیتر از مخلوط شیرابه شکمبه و بافر اضافه‌شده و پس از بستن درب شیشه‌ها با درپوش پلاستیکی و پرس فلزی در حمام آب گرم با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد برای انکوباسیون قرار داده شد. سه فلاسک مجزا به ترتیب به‌منظور تعیین ضریب‌های گوارش‌پذیری مواد مغذی و برای تعیین فراسنجه‌های شکمبه‌ای اختصاص یافت. در تعیین ضریب‌های گوارش‌پذیری، مواد داخل فلاسک‌ها با استفاده از کاغذ صافی واتمن بدون خاکستر جدا شده و به‌مدت ۷۲ ساعت در آون ٦۰ درجه سانتی‌گراد برای تعیین میزان ماده خشک قرار گرفت (AOAC، ۲۰۰۰) فشار گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۲، ۲٤، ٤۸، ۷۲، ۹٦، ۱۲۰ و ۱٤٤ ساعت توسط دستگاه فشارسنج اتوماتیک اندازه‌گیری شد (گل‌پونه صفاهان، اصفهان، ایران). سپس با رسم نمودار در نرم‌افزار Excel، معادله نمایی منحنی به‌دست‌آمده و داده‌های فشار به حجم گاز تبدیل شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها توسط معادله Orskov و McDonald (۱۹۷۹) و با استفاده از رویه NLIN نرم‌افزار SAS و نرم‌افزار FitCurve انجام شد. ضرایب گوارش‌پذیری ماده خشک، ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم بر اساس فرمول‌های ارائه‌شده توسط Menke و همکاران (۱۹۷۹) محاسبه گردید. به‌منظور تصحیح مواد خوراکی و تخمیر و تولید گاز از منشأ مایع شکمبه انکوبه‌شده، در هر دوره شش فلاسک که تنها حاوی مایع شکمبه و بافر بودند، به‌عنوان بلانک استفاده شدند. به‌منظور تعیین میزان اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی از شیشه‌های انکوباسیون مجزا با ۲٤ ساعت زمان انکوباسیون، هنگام انجام آزمون تولید گاز در شکمبه استفاده شد. محتویات

1. Run

درون شیشه‌ها با یک میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۵۰ درصد با نسبت ۱ به ۵۰ مخلوط و به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار از فام نگاری گازی با ستون موئین استفاده شد. نیتروژن آمونیاکی با استفاده از سنجش دستگاه میکرو پلت ریدر (مدل Garni کشور آلمان) اندازه‌گیری شد (Sherafat و همکاران، ۲۰۲۰).

تعیین تجزیه‌پذیری با روش کیسه‌های نایلونی: تعیین تجزیه‌پذیری ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی با استفاده از ۳ رأس گاو نر بالغ اخته فیستوله گذاری شده نژاد هلشتاین که در سطح ۱۰ درصد بالاتر از نیاز انرژی نگهداری (AFRC ۱۹۹۵)[1] تغذیه شدند، انجام گرفت. جیره مصرفی (یونجه خردشده، ذرت سیلوشده و دانه جو آسیاب شده به نسبت ۱ به ۱ علوفه به جو) حیوانات مورد آزمایش به روش پیشنهادی AFRC (۱۹۹۲) تهیه و در دو وعده صبح و بعدازظهر در ساعات ۸:۰۰ و ۱۸:۰۰ به حیوانات داده شد. حیوانات در جایگاه انفرادی نگهداری شدند و آب و سنگ نمک در طول شبانه‌روز به‌صورت اختیاری در دسترس آن‌ها قرار گرفت. برای تعیین میزان تجزیه‌پذیری از کیسه‌های پلی‌استر با ابعاد ۱۸×۸ سانتی متر، با قطر منافذ ۵۰ میکرومتر استفاده شد. مقدار ۵ گرم از نمونه‌های آسیاب شده (با قطر توری ۲ میلی‌متر) در داخل کیسه‌های نایلونی ریخته شد تا نسبت اندازه نمونه به سطح کیسه‌ها، برابر با ۱۲/۵ میلی‌گرم به ازای هر سانتی‌متر مربع شود. نمونه‌ها پیش از توزین، به‌منظور زدودن ذرات کمتر از ۵۰ میکرون با استفاده از الک با توری ۵۰ میکرون الک شدند. زمان قرار دادن نمونه‌ها در شکمبه بلافاصله قبل از خوراک‌دهی صبح بود و کیسه‌ها در زمان‌های ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۲، ۲٤، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ ساعت از شکمبه خارج شدند. دو کیسه برای هر زمان انکوباسیون در شکمبه هر گاو قرار گرفت. کیسه‌ها بلافاصله پس از خارج شدن از شکمبه در آب سرد قرار داده‌شده و با دست به روش پیشنهاد Coblentz و Walgenbach (۲۰۱۰) به مدت ۲۰ دقیقه و تا صاف شدن آب خروجی از سطل، شستشو شدند. برای تعیین تجزیه‌پذیری در زمان صفر، کیسه‌ها بدون انکوباسیون در شکمبه، با استفاده از آب ۳۹ درجه سلسیوس، همانند کیسه‌های خارج‌شده از شکمبه شسته شدند. کیسه‌ها پس از شستشو، به مدت ٤۸ ساعت در آون با دمای ٦۰ درجه سلسیوس خشک شدند. فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری و میزان تجزیه‌پذیری مؤثر در سرعت‌های مختلف عبور از شکمبه با استفاده از معادلات غیرخطی Orskov و McDonald (۱۹۷۹) با استفاده از نرم‌افزار FitCurve تعیین شدند.

محاسبات و مدل آماری: غلظت انرژی قابل متابولیسم و ماده آلی قابل‌هضم به‌وسیله فرمول‌های زیر محاسبه شدند (Menke و Staingass، ۱۹۸۸).

$$OMD=14/88+0/8893\ GP+0/0448\ CP+0/0651\ XA$$

$$ME=2/2+0/1357\ GP+0/057CP+0/0002589\ CP^2$$

در این معادلات، ME، GP، CP، CA و DOM به ترتیب معادل باانرژی قابل متابولیسم، میزان گاز تجمعی تولیدی در ٢٤ ساعت به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک نمونه، پروتئین خام، خاکستر خام، پروتئین خام میکروبی و ماده آلی قابل‌هضم می‌باشد.

داده‌های مربوط به تأثیر روش‌های مختلف فرآوری بر ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری و تولید گاز با استفاده از طرح کاملاً تصادفی ($Y_i=\mu+T_i+e_i$)؛ μ: میانگین جامعه؛ T_i: اثر تیمار؛ e_i: اثر اشتباه آزمایشی) و با استفاده از رویه مدل

1. AFRC (Agriculture and Fisheries Research Council)

خطی تعمیم‌یافته[1] (GLM) نرم‌افزار SAS9.1(2002) مورد ارزیابی آماری قرار گرفت. در آنالیز کینتیکی آزمون تولید گاز و تجزیه‌پذیری اثر زمان انکوباسیون (ساعت) به‌عنوان عامل تکرارشونده و اثر متقابل زمان انکوباسیون و نوع فرآوری در مدل قرار گرفت (Yij=μ+Ti+Itj+Titij+eij). (μ: میانگین جامعه؛Ti: اثر تیمار؛ Itj: اثر زمان انکوباسیون؛ Titij: اثر متقابل زمان انکوباسیون و نوع فرآوری؛eij: اثر اشتباه آزمایشی). آنالیز آماری با استفاده از PROC MIXED نرم‌افزار SAS 9.1 انجام و از ساختار کوواریانس نوع اول[2] استفاده شد. داده‌ها به‌صورت میانگین حداقل مربعات و خطای استاندارد[3] در جداول مربوطه گزارش‌شده و تصحیح داده‌ها با استفاده از آزمون توکی و مقایسه میانگین‌ها با گزینه PDIFF در سطح احتمال آماری ۰/۹۵ (P <۰/۰۵) انجام شد.

بحث و نتایج

نتایج مربوط به تغییرات ترکیب شیمیایی کاه گندم فراوری‌شده توسط قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* و فراوری نشده در جدول ۱ آورده شده است. تجزیه آماری داده‌های مربوط به ترکیب شیمیایی کاه گندم فراوری‌شده به روش کشت مایع و کشت جامد نشان داد که مقدار ماده خشک، ماده آلی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف گوارش ناپذیر نامحلول در شوینده خنثی کاهش یافت. کم‌ترین مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی در کشت جامد قارچ *اوریزا* مشاهده شد. کاهش در ماده خشک ممکن است به دلیل استفاده قارچ از کاه گندم به‌عنوان خوراک و خروج مقداری کربن از طریق تنفس باشد. قارچ‌ها دارای مجموعه آنزیمی متفاوتی هستند که آنزیم‌های حاصل در حال رشد قارچ بر روی سوبسترا ترشح‌شده و سبب شکسته شدن پیوندهای هیدروکربنی سوبسترا می‌شوند بنابراین با شکسته شدن پیوندهای فوق و تولید انرژی، قارچ رشد نموده و گاز کربن دی‌اکسید متصاعد می‌شود که این مکانیسم در پژوهش حاضر نیز اتفاق افتاد و سبب کاهش مقدار ماده خشک شد (Mahmoodmolai و همکاران، ۲۰۱۵). Niu و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که فراوری کاه گندم با قارچ‌های پوسیدگی سفید سبب کاهش ماده خشک شد. بیان‌شده است که در مراحل اولیه رشد میسلیوم قارچی، همی سلولز و سلولز موجود در کاه تجزیه‌شده که درنهایت سبب کاهش غلظت ماده آلی در بستر می‌شود که با افزایش طول دوره کشت مواد آلی بستر بیشتر تخلیه می‌گردد (Nakhaei و همکاران، ۲۰۱۶). تحقیق دیگری فراوری تفاله شیرین‌بیان با قارچ سبب کاهش درصد خاکستر شد (Dehghani، ۲۰۰۱). کاهش در مقدار ماده آلی با تحقیقات انجام‌شده توسط Nasehi و همکاران (۲۰۱۷) و Omarini و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت داشت. برخی قارچ‌ها به مقدار زیادی الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی را تجزیه می‌کنند. این به دلیل زیستگاه طبیعی این قارچ‌ها است که برای تأمین انرژی به کربن آلی (منبع لیگنینوسلولزی) وابسته هستند. کاهش در مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی در پژوهش‌های صورت گرفته توسط Metri و Warly (۲۰۱۸) و Khonkhaeng و Cherdthong (۲۰۲۰) گزارش‌شده است. کم‌تر بودن الیاف نامحلول در شوینده خنثی ازیک‌طرف و کم‌تربودن الیاف گوارش ناپذیر نامحلول در شوینده خنثی از طرف دیگر نشان‌دهنده فعالیت آنزیمی لیگنینوسلولزی قارچ *اوریزا* می‌باشد که این قارچ علاوه بر فعالیت سلولازی، فعالیت زایلانازی نیز از خود نشان داده است (Hu و همکاران، ۲۰۱۱).

1. Generalized Linear Model (GLM)
2. First order autoregressive
3. Standard Error of Means (SEM)

مقدار پروتئین خام در تیمارهای آزمایشی به‌طور چشمگیری افزایش یافت. کشت مایع و کشت جامد قارچ *اوریزا* سبب افزایش پروتئین خام کاه گندم به‌ترتیب از ۲/۹٤ به ٤/۲۰ و ٥/۸٦ شد. افزایش توده سلولی قارچ‌ها در حین فراوری سبب می‌شود که مقدار پروتئین خام در محصول نهایی افزایش یابد، زیرا این قارچ‌ها با استفاده از آنزیم‌های خارج سلولی، ترکیبات لیگنینوسلولزی را مورد متابولیسم قرار داده و پروتئین تولید می‌کنند (Dashti و همکاران، ۲۰۱۰). ثابت‌شده است که در توده سلولی قارچ‌ها در حدود ٤٥ درصد پروتئین خام وجود دارد. علاوه براین فراوری موجب کاهش ماده خشک می‌شود. لذا از این راه نیز میزان پروتئین خام بر اساس درصد ماده خشک تا حدودی افزایش می‌یابد (Ghoorchi و همکاران، ۲۰۱٦). افزایش در مقدار پروتئین در تحقیقات انجام‌شده Metri و Warly (۲۰۱۸)، Omarini و همکاران (۲۰۱۹) و Motamedi (۲۰۱۹) نیز گزارش‌شده است.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی کاه گندم فراوری‌شده با قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* به‌صورت کشت مایع و جامد (درصد ماده خشک)

Table 1. Chemical composition of processed wheat straw with *A. oryzae* under liquid- and solid-state culture (percentage of dry matter)

	شاهد Control	کشت جامد Solid-state culture	کشت مایع Liquid-state culture	SEM	p value
ماده خشک DM	99.21^{a}	93.46^{b}	92.03^{b}	0.318	<.0001
ماده آلی OM	91.50^{a}	88.75^{b}	87.50^{b}	0.474	0.0138
پروتئین CP	2.94^{c}	5.86^{a}	4.20^{b}	0.200	0.0005
الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	79.62^{a}	71.75^{c}	72.75^{b}	0.325	<.0001
الیاف نامحلول در شوینده خنثی بدون	69.62^{a}	63.00^{c}	64.75^{b}	0.325	<.0001
*الیاف نامحلول در شوینده خنثی گوارش	32.59^{a}	29.86^{b}	30.76^{b}	0.281	<.0001

حروف بالانویس متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح آماری ۰/۰۵ می‌باشند

a,b,c: Means within each column with different superscripts are significantly different (P < 0.05)
*Indigestible neutral detergent fibers are expressed as a percentage of neutral detergent fiber
SEM: Standard error of mean

نتایج مربوط به کنتیک و فراسنجه‌های تولید گاز تجمعی کاه گندم فراوری نشده و فراوری‌شده توسط قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* در جدول ۲ آورده شده است. در این مطالعه با افزایش زمان انکوباسیون از ۲ به ۱٤٤ ساعت حجم گاز تولیدی توسط کاه گندم فراوری‌شده به‌صورت کشت مایع و کشت جامد افزایش یافت. در این پژوهش کاه گندم فراوری‌شده به روش کشت مایع حجم گاز تولیدی بیشتری را نسبت به گروه فراوری‌شده به روش کشت جامد به خود اختصاص داد. به‌طورکلی تولید گاز منعکس‌کننده ترکیبات تجزیه‌پذیر است و بنابراین مقدار گاز تولیدشده به کربوهیدرات‌ها بستگی دارد. الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی با تولید گاز در تمام زمان‌های انکوباسیون و فراسنجه‌های تخمینی همبستگی منفی دارد. کاهش الیاف نامحلول در شوینده خنثی با افزایش شرایط مطلوب محیطی در طول زمان انکوباسیون باعث افزایش فعالیت میکروبی می‌شود؛ بنابراین مقدار کم‌تر بخش الیافی در کاه تیمار شده سبب افزایش گاز تولیدی می‌گردد (Nasehi و همکاران، ۲۰۱۷). افزایش در حجم گاز تولیدی در پژوهش‌های انجام‌شده توسط Zuo و همکاران (۲۰۱۹) و Motamedi (۲۰۱۹) نیز مشاهده شد.

جدول ۲. کنتیک و فراسنجه‌های تولید گاز کاه گندم فراوری‌شده با قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* به‌صورت کشت مایع و جامد

Table 2. Kinetics and parameters of gas production of wheat straw as control and treated with *Aspergillus oryzae* under liquid and solid-state culture

کنتیک تولید گاز تجمعی (درصد)(%) Cumulative gas production kinetics				
زمان انکوباسیون Incubation time	شاهد Control(ml)	کشت جامد Solid state culture(ml)	کشت مایع liquid state culture(ml)	SEM
2	8.43	9.67	10.32	2.762
4	17.02	19.99	21.13	2.762
6	26.32	30.63	31.17	2.762
8	35.68	32.43	35.63	2.762
12	45.07^{b}	50.38^{ab}	54.55^{a}	2.762
24	74.67^{b}	92.45^{a}	90.50^{a}	2.762
48	119.35^{b}	143.30^{a}	139.67^{a}	2.762
72	177.98^{b}	207.18^{a}	205.01^{a}	2.762
96	210.17^{b}	241.61^{a}	247.30^{a}	2.762
120	232.11^{b}	273.67^{a}	280.06^{a}	2.762
144	267.92^{c}	327.50^{b}	338.98^{a}	2.762

فراسنجه‌های تولید گاز Cumulative gas production parameters					
	P value	SEM			
b	392.85^{b}	491.07^{ab}	622.42^{a}	31.571	<.0001
C	0.007	0.006	0.005	0.0077	0.3753
OMD (%)	35.01^{b}	41.27^{a}	41.09^{a}	0.178	<.0001
DMD (%)	21.87^{c}	44.37^{a}	41.87^{b}	0.327	<.0001
ME (MJ.kg DM)	6.12^{c}	8.93^{a}	7.52^{b}	0.027	<.0001

حروف بالانویس متفاوت در هر سطر نشان دهنده معنی‌داری در سطح آماری ۰/۰۵ می‌باشند

مقایسه میانگین حداقل مربعات گاز تولیدی در ساعات مختلف انکوباسیون یک تیمار، دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ بوده و برای جلوگیری از شلوغی جداول از ارائه حروف بالانویس خودداری شده است

b: بخش قابل تخمیر c: نرخ تولید گاز(درصد در ساعت) OMD: درصد گوارش‌پذیری ماده آلی ME: انرژی قابل متابولیسم (مگا ژول در کیلوگرم ماده خشک) DMD: درصد گوارش‌پذیری ماده خشک

SEM: خطای استاندارد میانگین

a,b,c: Means within each row with different superscripts are significantly different (P < 0.05)

b: Milliliter of gas production from insoluble fraction c: Rate of gas production(ml.h)

OMD: The amount of digestibility of organic matter ME: Metabolisable energy

DMD: The amount of digestibility of dry matter SEM: Standard error of mean

فراوری کاه گندم به روش کشت مایع سبب بهبود بخش قابل تخمیر شد. افزایش در بخش قابل تخمیر بازتابی از کاهش بخش الیافی می‌باشد. علاوه بر این نتیجه ممکن است مربوط به بهبود دسترسی بخش کربوهیدراتی برای تخمیر میکروبی در شکمبه باشد. بین تیمارهای مختلف و گروه شاهد ازنظر نرخ تولید گاز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. فراوری با قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* سبب بهبود درصد گوارش‌پذیری ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم و درصد گوارش‌پذیری ماده خشک شد. فراوری به روش کشت جامد سبب بهبود انرژی قابل متابولیسم از ٦/۱۲ به ۸/۹۳ مگا ژول در کیلوگرم ماده خشک شد و تأثیر مثبت بیشتری را نسبت به کشت مایع از خود به‌جای گذاشت. افزایش گوارش‌پذیری ماده آلی می‌تواند به دلیل دسترسی بیشتر میکروارگانیسم‌ها به کربوهیدرات‌های ساختمانی در اثر شکسته شدن پیوند لیگنین با همی‌سلولز به‌وسیله‌ی آنزیم‌های قارچ و افزایش بخش محلول در آب باشد. قارچ‌ها برای رشد از ترکیبات سریع الهضم در مقایسه با ترکیبات دیواره سلولی بهتر استفاده می‌کنند. همچنین قارچ با ترشح آنزیم‌های مختلف ترکیبات مختلف (پروتئین، ترکیبات دیواره سلولی و لیگنین) را تجزیه می‌کند که سبب بهبود گوارش‌پذیری ماده آلی می‌شود (Nakhaei و همکاران، ۲۰۱٦). Nasehi و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که فراوری کاه گندم با قارچ پوسیدگی سفید گونه *Pleurotus florida* سبب افزایش درصد گوارش‌پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم می‌شود. آن‌ها دلیل افزایش درصد گوارش‌پذیری ماده خشک را کاهش ترکیبات دیواره سلولی همراه با افزایش مقدار پروتئین پس از فراوری بیان کردند که با نتایج بیان‌شده توسط Akinfemi (۲۰۱۰) و Sharma و Arora (۲۰۱۰) مطابقت داشت. عوامل مختلفی همانند افزایش گاز تولیدی در گروه‌های تیمار شده، کاهش در ترکیبات دیواره سلولی و افزایش پروتئین خام در گروه‌های تیمار شده می‌توانند سبب افزایش انرژی قابل متابولیسم شوند.

کنتیک و فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک کاه گندم فراوری‌شده با قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* و فراوری نشده در جدول ۳ آورده شده است. فراوری به روش کشت جامد سبب افزایش تجزیه‌پذیری ماده خشک نسبت به گروه شاهد شد اما فراوری به روش کشت مایع تنها در ساعت‌های ۹٦،۷۲،۱۲،۸،٦ انکوباسیون سبب افزایش تجزیه‌پذیری نسبت به گروه شاهد شد. بیشترین مقدار تجزیه‌پذیری ماده خشک در کاه گندم فراوری‌شده به روش کشت جامد مشاهده شد. دلیل احتمالی افزایش تجزیه‌پذیری تیمارها با افزودن قارچ، احتمالاً تأثیر آنزیم‌های قارچ بر دیواره و محتویات سلولی بوده که فراوری تجزیه را به‌وسیله‌ی میکروارگانیسم‌های شکمبه تسهیل نموده است. به دلیل تجزیه لیگنین به‌وسیله‌ی آنزیم‌های پراکسیداز قارچ پیوندهای آن با سلولز و همی سلولز شکسته شده و باعث افزایش دسترسی میکروارگانیسم‌های شکمبه به دیواره سلولی شده و میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک افزایش‌یافته است که نتایج به‌دست‌آمده با نتایج دیگر تحقیق‌ها مطابقت داشت (Motamedi، ۲۰۱۹). در میان فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری، بخش محلول در کاه گندم فراوری‌شده افزایش یافت. بخش زیادی از الیاف و پلی ساکاریدها براثر آنزیم‌های برون سلولی قارچ تجزیه می‌شود و اجزای محلول در آب افزایش می‌یابد به همین دلیل بخش محلول در آب افزایش یافت. با افزایش میزان بخش محلول در آب انرژی بیش‌تری برای میکروارگانیسم‌های شکمبه فراهم‌شده و موجب افزایش تجزیه مواد خوراکی موجود در شکمبه می‌شود (Ghoorchi و همکاران، ۲۰۱٦).

جدول ۳. کنتیک و فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک کاه گندم فراوری‌شده با قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* به‌صورت کشت مایع و جامد

Table 3. Dry matter degradation parameters of wheat straw as control and treated with *Aspergillus oryzae* under liquid and solid state culture

کنتیک تجزیه‌پذیری (درصد)(%) Degradation kinetics				
زمان انکوباسیون Incubation time	شاهد Control (%)	کشت جامد Solid state culture	کشت مایع Liquid state culture	SEM
2	13.60[b]	18.14[a]	15.46[b]	0.7701
4	15.05[b]	19.58[a]	16.49[b]	0.7701
6	16.70[b]	20.00[a]	21.03[a]	0.7701
8	17.47[b]	25.56[a]	25.36[a]	0.7701
12	23.50[b]	29.69[a]	26.39[a]	0.7701
24	36.41[a]	36.70[a]	32.16[b]	0.7701
48	47.36[b]	54.22[a]	45.77[b]	0.7701
72	52.63[c]	62.47[a]	55.67[b]	0.7701
96	56.36[c]	65.36[a]	61.85[b]	0.7701
فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری Degradability parameters				
			SEM	P value
a(%)	9.06[b]	14.92[a]	14.61[a]	0.405	<.0001
b(%)	50.16[b]	56.82[b]	67.00[a]	2.279	0.0004
c(%)	0.029[a]	0.024[a]	0.012[b]	0.0018	<.0001
a + b	59.2[b]	71.8[a]	81.625[a]	2.467	0.0001
P(k=0.02)	31.58[b]	36.84[a]	32.66[b]	0.416	<.0001
P(k=0.05)	23.05[b]	26.89[a]	22.67[b]	0.435	<.0001
P(k=0.08)	19.41[b]	22.65[a]	19.13[b]	0.396	<.0001
NVI	35.12[b]	42.63[a]	44.00[a]	0.816	<.0001

حروف بالانویس متفاوت در هر سطر نشان دهنده معنی‌داری در سطح آماری ۰/۰۵ می‌باشند

مقایسه میانگین حداقل مربعات تجزیه‌پذیری در ساعات مختلف انکوباسیون یک تیمار، دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ بوده و برای جلوگیری از شلوغی جداول از ارائه حروف بالانویس خودداری شده است.

SEM: خطای استاندارد میانگین

a: بخش محلول b: بخش بالقوه قابل‌تجزیه c: سرعت تجزیه بخش بالقوه قابل‌تجزیه k: نرخ عبور از شکمبه P: تجزیه‌پذیری مؤثر NVI: شاخص ارزش غذایی

a,b,c: Means within each row with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

a: The soluble and fast degradable fraction b: The insoluble and slowly degradable fraction

c: The rate of degradability a+b: The potential degradability p(k=0.02): Effective degradability(2 percent in hour)

p(k=0.05): Effective degradability(5 percent in hour) p(k=0.08): Effective degradability(8 percent in hour) NVI: Nutritional value index

فراوری به روش کشت مایع توانست به‌طور چشمگیری مقدار بخش بالقوه قابل‌تجزیه را افزایش دهد. در پژوهش‌های دیگر نشان داده شد که بخش بالقوه قابل‌تجزیه در اثر فرآوری با قارچ افزایش یافت (Dehghani، ۲۰۰۱). سرعت تجزیه‌پذیری بخش بالقوه قابل‌تجزیه در کاه گندم فراوری‌شده به روش کشت مایع کاهش یافت. کاهش در سرعت تجزیه بخش بالقوه تجزیه با تحقیقات انجام‌شده توسط Takalloozadeh و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت داشت اما با پژوهش انجام‌شده توسط Motamedi (۲۰۱۹) مطابقت نداشت. تجزیه‌پذیری مؤثر در هر سه نرخ عبور ۲، ۵ و ۸ درصد در ساعت در تیمار فرآوری شده با قارچ *اوریزا* به‌صورت کشت جامد افزایش معنی‌داری یافت. بین تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک کاه گندم فراوری‌شده با قارچ *اوریزا* به‌صورت کشت مایع در هر سه نرخ عبوری با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین تجزیه‌پذیری مؤثر در نرخ ۲ درصد در ساعت در کاه گندم فراوری‌شده با قارچ *اوریزا* به‌صورت جامد مشاهده شد. نرخ عبور مواد از شکمبه (k) تحت تأثیر مقدار خوراک مصرفی است. به‌طوری‌که با افزایش سطح مصرف خوراک در دام این مقدار نیز افزایش می‌یابد. همچنین افزایش مقدار k سبب می‌شود که مدت‌زمان دسترسی میکروارگانیسم‌های شکمبه به مواد خوراکی نیز کاهش‌یافته و درنتیجه میزان تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک در مواد خوراکی کاهش یابد (Takalloozadeh و همکاران، ۲۰۱۵). آنزیم‌های قارچ سبب شکستن دیواره سلولی شده و دسترسی میکروارگانیسم ها به دیواره سلولی تسهیل شده که موجب تجزیه بیشتر مواد خوراکی در شکمبه می‌شود (Fazaeli و همکاران، ۲۰۰٤). فراوری به روش کشت مایع و کشت جامد سبب بهبود شاخص ارزش غذایی کاه گندم شد.

کنتیک و فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاه گندم فراوری‌شده توسط قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* در جدول ٤ آورده شده است. تجزیه‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاه گندم فراوری‌شده به روش کشت جامد طی ۹٦ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای نسبت به گروه شاهد تغییر معنی‌داری نشان نداد اما فراوری به روش کشت مایع سبب کاهش تجزیه‌پذیری شد. نتایج حاصل با پژوهش‌های انجام‌شده توسط Motamedi (۲۰۱۹) که از قارچ *ترامتس* برای فراوری کاه گندم استفاده کرده بودند مطابقت نداشت که علت آن می‌تواند به گونه قارچ، نوع آنزیم‌های تولیدی توسط قارچ و محتویات محیط کشت بستگی داشته باشد. مقدار بخش محلول در گروه‌های تیمار شده به‌طور چشمگیری کاهش یافت به‌طوری‌که کم‌ترین مقدار بخش محلول در کاه گندم فراوری‌شده به روش کشت جامد مشاهده شد. ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی با بخش‌های مختلف تجزیه‌پذیری دارای روابطی هستند. در این میان دیواره سلولی فاقد همی سلولز بر بخش a دارای بیش‌ترین اثر می‌باشد. به همین دلیل با کاهش مقدار همی سلولز مقدار a نیز کاهش پیدا می‌کند (Ghoorchi و همکاران، ۲۰۱٦). مقدار بخش بالقوه قابل‌تجزیه کاه گندم تحت تأثیر فراوری به روش کشت مایع قرار گرفت و به‌طور چشمگیری افزایش یافت. این بخش تحت تأثیر تجزیه باکتری‌ها، قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه و پروتوزوا قرار می‌گیرد. تجزیه میکروارگانیسم‌ها بستگی به بافت خوراک، نحوه اتصال باکتری‌های شکمبه به پلی ساکاریدها و همکاری میکروارگانیسم‌ها در گوارش دارد (Ghoorchi و همکاران، ۲۰۱٦). افزایش در مقدار بخش بالقوه قابل‌تجزیه در پژوهش‌های انجام‌شده توسط Motamedi (۲۰۱۹) نیز گزارش‌شده است.

جدول ٤. کنتیک و فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاه گندم فراوری‌شده با قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* به‌صورت کشت مایع و جامد

Table 4. Neutral Detergent Fiber degradation parameters of wheat straw as control and treated with *Aspergillus oryzae* under liquid and solid state culture

کنتیک تجزیه‌پذیری (درصد)(%) Degradation kinetics				
SEM	کشت مایع Liquid state culture	کشت جامد Solid state culture	شاهد Control (%)	زمان انکوباسیون Incubation time
0.749	11.22^{b}	12.78^{b}	18.35^{a}	2
0.749	12.54^{b}	14.42^{b}	20.51^{a}	4
0.749	14.20^{b}	16.14^{b}	19.89^{a}	6
0.749	19.31^{b}	19.91^{b}	22.19^{a}	8
0.749	23.82^{b}	29.17^{a}	23.35^{b}	12
0.749	24.88^{b}	39.93^{a}	41.83^{a}	24
0.749	44.16^{c}	52.36^{b}	55.33^{a}	48
0.749	54.94^{b}	61.85^{a}	60.77^{a}	72
0.749	60.90^{b}	64.64^{a}	66.40^{a}	96
فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری Degradability parameters				
P value	SEM			
<.0001	0.408	9.99^{b}	7.90^{c}	13.25^{a}	a(%)
<.0001	2.460	74.08^{a}	59.91^{b}	59.36^{b}	b(%)
0.0002	0.0018	0.012^{c}	0.031^{a}	0.023^{b}	c(%)
0.0013	2.663	84.07^{a}	67.85^{b}	72.62^{ab}	a + b
<.0001	0.358	38.42^{b}	44.22^{a}	45.62^{a}	P(k=0.02)
<.0001	0.402	24.77^{c}	30.80^{b}	32.57^{a}	P(k=0.05)
<.0001	0.371	19.97^{c}	24.65^{b}	27.12^{a}	P(k=0.08)

حروف بالانویس متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح آماری ۰/۰۵ می‌باشند

مقایسه میانگین حداقل مربعات تجزیه‌پذیری در ساعات مختلف انکوباسیون یک تیمار، دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ بوده و برای جلوگیری از شلوغی جداول از ارائه حروف بالانویس خودداری شده است

a: بخش محلول b: بخش بالقوه قابل‌تجزیه c: سرعت تجزیه بخش بالقوه قابل‌تجزیه k: نرخ عبور از شکمبه P: تجزیه‌پذیری مؤثر SEM : خطای استاندارد میانگین

a,b,c: Means within each row with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

a: The soluble and fast degradable fraction b: The insoluble and slowly degradable fraction

c: The rate of degradability a+b: The potential degradability p(k=0.02): Effective degradability(2 percent in hour) p(k=0.05): Effective degradability(5 percent in hour)

p(k=0.08): Effective degradability(8 percent in hour)

مقدار تجزیه‌پذیری مؤثر کاه گندم فراوری‌شده با قارچ آسپرژیلوس *اوریزا* به‌صورت کشت مایع و جامد در تمامی نرخ‌های عبوری (۲،٤،۸) به‌طور معنی‌داری کم‌تر از گروه شاهد بود و فقط بین کشت جامد *اوریزا* در نرخ عبور ۲ درصد در ساعت نسبت به گروه شاهد تفاوتی معنی‌داری مشاهده نشد. دلیل اصلی برای این کار احتمالاً تأثیر این قارچ بر کاهش بخش سلولز و همی سلولز در ساختار الیاف و عدم تأثیر مناسب بر میزان لیگنین باشد. به عبارت بهتر فعالیت سلولازی و همی سلولازی بیشتر نسبت به فعالیت لیگنیازی سبب می‌شود، قارچ‌ها خود بخشی از الیاف قابل‌هضم را تخمیر و مواد مغذی اصل از آن را برای رشد مورداستفاده قرار دهند. یا در شرایط کشت مایع در مراحل فرآوری این بخش از خوراک مورد گوارش قرارگرفته و نسبت به گروه کنترل، ترکیب با گوارش‌پذیری بالقوه پایین‌تری در اختیار میکروارگانیسم‌های شکمبه برای تجزیه در شکمبه قرارگرفته باشد. به‌طورکلی قارچ‌هایی برای فرایند تولید آنزیم و فرآوری باید مورداستفاده قرار بگیرند که با فعالیت آلکالازی و لیگنیازی بالاتر سبب کاهش مقدار لیگنین و آزاد شدن بخش کربوهیدراتی دیواره سلولی به منظور هضم میکروبی شده و تأثیر اندکی بر میزان سلولز و همی سلولز داشته باشد. درحالی‌که در آزمایش حاضر به نظر می‌رسد سویه مورداستفاده فعالیت سلولازی و همی سلولازی بیشتری نسبت به فعالیت لیگنینازی داشته است.

مقدار اسیدهای چرب فرار تولیدی در گروه تیمارها تحت تأثیر فراوری قرار نگرفت و تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان نداد. فراوری کاه گندم با قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* سبب افزایش مقدار کل اسیدهای چرب فرار تولیدی گردید. افزایش در مقدار کل اسیدهای چرب فرار تولیدی با پژوهش‌های انجام‌شده توسط Niu و همکاران (۲۰۱۸) که از قارچ *Irpex lacteus* برای فراوری کاه گندم استفاده کرده بودند مطابقت داشت. مقدار نیتروژن آمونیاکی تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت و به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. افزایش در مقدار نیتروژن آمونیاکی با پژوهش‌های صورت گرفته توسط Nayan و همکاران (۲۰۱۸) مطابقت نداشت. افزایش در مقدار نیتروژن آمونیاکی احتمالاً به علت تأثیر آنزیم‌های قارچی بر پروتئین سوبسترا و پروفیل متفاوت پروتئین توده قارچی *آسپرژیلوس اوریزا* بود.

جدول ۵- مقدار اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی تولیدشده توسط کاه گندم فراوری‌شده با قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* به‌صورت کشت جامد و مایع

Table 5. Amount of volatile fatty acids and ammonia nitrogen produced by wheat straw processed with *Aspergillus oryzae* under solid and liquid state culture

P value	SEM	کشت مایع Liquid state culture	کشت جامد Solid state culture	شاهد Control	
0.7704	2.170	77.08	73.51	75.88	Acetate
0.9315	2.481	7.37	9.54	8.93	Propionate
0.8677	0.963	9.19	9.21	9.42	Butyrate
0.296	0.582	5.07	6.62	4.72	Valerate
0.2555	0.035	0.51	0.42	0.36	IsoButyrate
0.5697	0.055	0.75	0.67	0.62	IsoValerate
0.0013	0.656	65.06^{a}	66.77^{a}	53.20^{b}	Total VFA
0.001	0.115	9.23^{a}	9.38^{a}	7.75^{b}	N-NH3

حروف بالانویس متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح آماری ۰/۰۵می‌باشند.

Total VFA= کل اسیدهای چرب فرار (میلی مول در لیتر) N-NH3= نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم بر دسی لیتر)

تمامی اسیدهای چرب فرار به صورت درصدی از اسیدهای چرب فرار کل بیان‌شده‌اند

a,b,c: Means within each row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).
All volatile fatty acids are expressed as a percentage of total volatile fatty acids.

نتیجه‌گیری

فراوری کاه گندم با قارچ آسپرژیلوس اوریزا به روش کشت مایع و کشت جامد سبب بهبود برخی مؤلفه‌های تغذیه‌ای این محصول فرعی زراعی شد و با تأثیر بر مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی و همچنین الیاف گوارش ناپذیر نامحلول در شوینده خنثی مشخص شد که مجموعه‌ی آنزیمی این قارچ توانایی هضم برخی ترکیبات لیگنینوسلولزی دیواره سلولی را دارد و چون کشت جامد در مقایسه با کشت مایع اثرات مفید چشمگیری را به جای گذاشت به‌طورکلی می‌توان بیان کرد که استخراج مجموعه آنزیمی قارچ آسپرژیلوس اوریزای کشت یافته در محیط کشت جامد و تزریق آن به درون کاه گندم سبب بهبود ارزش تغذیه‌ای کاه می‌شود.

سپاسگزاری

از دانشگاه ارومیه به خاطر تأمین هزینه‌های این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Akinfemi, A. 2010. Nutritive value and *in vitro* gas production of fungal treated maize cobs. African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development, 10(8): 25-38.

AOAC. 2000. Official methods of analysis. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.

Ayaşan, T., Esen, S., Cabi, E., Eseceli, H. and Esen, V. 2020. Effect of *arbuscular mycorrhizal* inoculation on the quality and *in vitro* gas production of einkorn wheat straw. South African Journal of Animal Science, 50(3): 415-420.

Begum, M.F. and Absar, N. 2009. Purification and characterization of intracellular cellulase from *Aspergillus oryzae* ITCC-4857.01. Mycobiology, 37(2): 121-127.

Coblentz, W.K. and Walgenbach, R.P. 2010. Fall growth, nutritive value, and estimation of total digestible nutrients for cereal-grain forages in the north-central United States. Journal of Animal Science, 88(1): 383-399.

Dashti Saridorgh, M., Ruzbehan, Y. and Shojaosadati, S. 2010. The Effect of *Neuspora sitophila* fungi on chemical composition, digestibility and degradability of sugar beet pulp. Iranian Journal of Animal Science, 40(4): 1-12. (In Persian).

Dehghani, M. 2001. Effect of *Pleurotus sajor caju* processing on digestibility and degradability of licorice pulp. M.Sc. Thesis, Shiraz University, Shiraz, Iran. 148p. (in Persian).

Ediriweera, S.S., Wijesundera, R.L.C., Nanayakkara, C.M. and Weerasena, O.V. 2015. Comparative study of growth and yield of edible mushrooms, *Schizophyllum commune* Fr., *Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc. and *Lentinus squarrosulus* Mont. on lignocellulosic substrates. Mycosphere, 6(6): 760-765.

El-Fallal, A.A., El-Dein, M.M.N., El-Maaty, H.M A. and Awad, F.F. 2020. Effect of Biologically treated wheat straw with white- rot fungi on performance, digestibility and oxidative status of Rabbits. Pakistan. Journal of Biological Sciences, PJBS, 23(12): 1551-1562.

Fazaeli, H., Mahmodzadeh, H., Azizi, A., Jelan, Z.A., Liang, J.B., Rouzbehan, Y. and Osman, A. 2004. Nutritive value of wheat straw treated with *Pleurotus* fungi. Asian-australasian journal of Animal Sciences, 17(12): 1681-1688.

Ghoorchi, T., Razavi, S., Behzad, H., Mehrabi, A. and Mastani, R. 2016. Effect of *Trametes versicolor* and *Pleurotus ostreatus* fungi on crude protein, NDF and ruminal degradability of dry matter and NDF of crops by-products. Animal Production Research, 5(3): 59-69. (In Persian).

Hu, H.L., Van den Brink, J., Gruben, B.S., Wösten, H.A.B., Gu, J.D. and De Vries, R.P. 2011. Improved enzyme production by co-cultivation of *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae* and with other fungi. International Biodeterioration and Biodegradation, 65(1): 248-252.

Khan, N.A. and Habib, G. 2012. Assessment of *Grewia oppositifolia* leaves as crude protein supplement to low-quality forage diets of sheep. Tropical Animal Health and Production, 44: 1375-1381.

Khan, N.A., Hussain, S., Ahmad, N., Alam, S., Bezabhi, M., Hendriks, W.H. and Cone, J.W. 2014. Improving the feeding value of straws with *Pleurotus ostreatus*. Animal Production Science, 55(2): 241- 245.

Khonkhaeng, B. and Cherdthong, A. 2020. Improving nutritive value of purple field corn residue and rice straw by culturing with white-rot fungi. Journal of Fungi, 6(2): 69.

Komarek, A.R. 1994. U.S. Patent No. 5,370,007. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

Kong, F., Lu, N., Liu, Y., Zhang, S., Jiang, H., Wang, H. and Li, S. 2021. *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus niger* Co-Cultivation Extract Affects *in Vitro* Degradation, fermentation characteristics, and bacterial composition in a diet-specific manner. Animals, 11(5): 1248.

Mahmoodmolai, M., Farsi, M., Naserian, A.A. and Malekzadeh, S. 2015. Evaluation of digestibility and chemical composition of bagasse processed with *Pleurotus florida* to produce animal feed. In: Proceedings of The first national conference on modern research in livestock science focused on environmental stress, 27-28 May, Birjand University, Birjand, Iran, pp. 761-764. (In Persian).

Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. and Schneider, W. 1979. The estimation of digestibility and metabolisable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they incubated with rumen Liquor *in vitro*. The Journal of Agricultural Science, 92(1): 217-222.

Menke, K.H. and Staingass, H. 1988. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Research Development, 28(1): 7-55.

Metri, Y. and Warly, L. Suyitman. 2018. Biodegradation of lignin by white rot fungi (*Pleurotus ostreatus*) to decrease the fibre components in the palm midrib. Pakistan Journal of Nutrition, 17(2): 71-75.

Motamedi, R. 2019. Effects of fungal enzymes on iNDF content and plant cell wall digestibility parameters in ruminant's feed. M.Sc. Thesis, Urmia university, urmia, Iran. 148p. (In Persian).

Nakhaei, S.H., Dehghani, M.R. and Jalilvand, G.H. 2014. Determination of nutritional value of common reed forage treated with *oyster* fungus with gas production and nylon bag methods. Journal of Animal Science Research, 26(4): 45-57. (In Persian).

Nasehi, M., Torbatinejad, N.M., Zerehdaran, S. and Safaie, A.R. 2017. Effect of solid-state fermentation by *oyster* mushroom (*Pleurotus Florida*) on nutritive value of some agro by-products. Journal of Applied Animal Research, 45(1): 221-226.

Nayan, N., Sonnenberg, A.S., Hendriks, H.W. and Cone. J.W. 2018. Screening of white-rot fungi for bioprocessing of wheat straw into ruminant feed. Journal of Applied Microbiology, 125(2): 468-479.

Niu, D., Zuo, S., Jiang, D., Tian, P., Zheng, M. and Xu, C. 2018. Treatment using white rot fungi changed the chemical composition of wheat straw and enhanced digestion by rumen microbiota *in vitro*. Animal Feed Science and Technology, 237(1): 46-54.

Omarini, A.B., Labuckas, D., Zunino, M.P., Pizzolitto, R., Fernández-Lahore, M., Barrionuevo, D. and Zygadlo, J.A. 2019. Upgrading the nutritional value of rice bran by solid-state fermentation with *Pleurotus sapidus*. Fermentation, 5(2): 44.

Orskov, E.R. and McDonald, P. 1979. The estimation of protein digestibility in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. The Journal of Agricultural Science. 92(1): 499-503.

Rangkhawong, P. 2014. Mycelial fermentation in submerged culture of *Schizophyllum commune* and its properties. Journal of Science and Technology, 33(5): 420-420.

Sallam, S.M.A., Bueno, I.C.S., Godoy, P.B., Nozella, E.F., Vitti, D.M.S.S. and Abdalla, A.L. 2008. Nutritive value assessment of the artichoke (*Cynara scolymus*) by-product as an

alternative feed resource for ruminants. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 8(2): 181-189.

Sharma, R.K. and Arora, D.S. 2015. Fungal degradation of lignocellulosic residues: an aspect of improved nutritive quality. Critical Reviews In Microbiology, 41(1): 52-60.

Sherafat, M., alijoo, M. and Asadnezhad, B. 2020. Effects of flaxseed and soybean seeds on the performance of Maque ewes during transition period . Animal Production, 22(2): 237-247.

Sosa, A., Saro, C., Mateos, I., Díaz, A., Galindo, J., Carro, M.D. and Ranilla, M. 2020. Effects of *Aspergillus oryzae* on ruminal fermentation of an alfalfa hay: concentrate diet using the rumen simulation technique (Rusitec). Cuban Journal of Agricultural Science, 54(2): 69-83.

Soufizadeh, M., Pirmohammadi, R., Alijoo, Y. and K. Behroozyar, H. 2018. Indigestible neutral detergent fibers: Relationship between forage fragility and neutral detergent fibers digestibility in total mixed ration and some feedstuffs in dairy cattle. In Veterinary Research Forum, 9(1): 49.

Sun, H., Wu, Y.M., Wang, Y.M., Liu, J.X. and Myung, K. H. 2014. Effects of *Aspergillus oryzae* culture and 2-hydroxy-4-(methylthio)-butanoic acid on *in vitro* rumen fermentation and microbial populations between different roughage sources. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 27(9): 1285.

Takalloozadeh, M., Diyani, O., Tahmasbi, R. and Khezri, A. 2015. Determination of Chemical Composition, Physical Characteristics and Nutritive Value of Treated Walnut Hull by *Neurospora Sitophila* through Nylon Bag and Gas Production Methods. Iranian Journal of Animal Science Reaserch, 6(3): 248-257. (In Persian).

Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. and 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, 48(3-4): 185-197.

Tuyen, D.V., Phuong, H.N., Cone, J.W., Baars, J.J.P., Sonnenberg, A.S.M. and Hendriks, W.H. 2013. Effect of fungal treatments of fibrous agricultural by-products on chemical composition and *in vitro* rumen fermentation and methane production. Bioresource Technology, 129: 256-263.

Van Soest, P.V., Robertson, J.B. and Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74(10): 3583-3597.

Zuo, S., Niu, D., Jiang, D., Tian, P., Li, R., Wu, W. and Xu, W. 2019. Effect of white-rot fungal treatments on the *in Vitro* rumen degradability of two kinds of corn stover. BioResources, 14(1): 895-9.