مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۳۳ شماره ۲/ سال۱۴۰۲/ صفحات ۴۷ تا ۶۲
DOI: 10.22034/AS.2022.49423.1642

تأثیر فرآوری کاه گندم با استفاده از کشت مایع و جامد قارچ *شیزوفیلوم کمون* بر ترکیب شیمیایی، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و گوارش‌پذیری و تولید گاز در شرایط برون‌تنی

مریم ثاقبی[۱]، حامدخلیل‌وندی بهروزیار[۲*]، رسول پیرمحمدی[۲] و مریم دنیادوست چلان[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۹/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۶

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه
[۲] به‌ترتیب استادیار و استاد گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه
[۳] گروه تحقیق و توسعه شرکت دانش بنیان کیمیادانش الوند
*مسئول مکاتبه: Email: h.khalilvandi@urmia.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: امروزه استفاده از قارچ‌های بازیدومیستی به دلیل ترشح آنزیم‌های تجزیه‌کننده لیگنین در فراوری خوراک‌های حاوی مقدار زیاد لیگنین مورد توجه قرار گرفته است. **هدف**: در این تحقیق ترکیب شیمیایی، حجم گاز تولیدی، تجزیه‌پذیری ماده خشک و تجزیه‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاه گندم فراوری شده با قارچ *شیزوفیلوم کمون* به‌صورت کشت مایع و کشت جامد مورد مطالعه قرار گرفت. **روش‌کار**: به‌منظور فراوری، قارچ رشد یافته در محیط کشت جامد و محیط کشت مایع حاوی آنزیم‌های مترشحه پس از فیلتراسیون قارچ‌های روئی مایع و به درون محفظه شیشه‌ای حاوی کاه گندم استریل و خیس شده تلقیح و به مدت ۲۵روز در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. میزان تولید گاز تیمارها در ویال‌های شیشه‌ای و تجزیه‌پذیری با استفاده از کیسه‌های نایلونی و سه رأس گاو هلشتاین فیستولا گذاری شده، اندازه‌گیری گردید. **نتایج**: با فراوری کاه گندم توسط قارچ *شیزوفیلوم کمون* به‌صورت کشت مایع و جامد مقدار ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاهش و مقدار پروتئین خام، الیاف گوارش ناپذیر نامحلول در شوینده خنثی افزایش یافت. فرآوری با قارچ سبب افزایش قابلیت تخمیر و افزایش کل اسیدهای چرب فرار تولیدی و نیتروژن آمونیاکی شد. فراوری به روش کشت جامد قارچی سبب افزایش حجم گاز تولیدی و تجزیه‌پذیری ماده خشک کاه گندم شد ولی تأثیر معنی‌داری بر تجزیه‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی نداشت. تجزیه پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاه گندم فراوری شده با هر دو روش کشت کاهش یافت. **نتیجه‌گیری نهایی**: به‌طورکلی فراوری کاه گندم با قارچ شیزوفیلوم به روش کشت جامد سبب بهبود برخی مؤلفه‌های تغذیه‌ای شد، اما افزودن محیط کشت مایع قارچی تأثیر مثبت معنی‌داری در افزایش ارزش تغذیه‌ای کاه گندم نداشت.

واژه‌های کلیدی: ارزش غذایی، تجزیه‌پذیری، *شیزوفیلوم کمون*، فرآوری، کاه گندم

مقدمه

امروزه یکی از مهم‌ترین مشکلات در صنعت دام‌پروری مربوط به هزینه‌ی بالای خوراک‌ها و کیفیت پایین آن‌ها می‌باشد (سوجانی و همکاران ۲۰۱۵). سالیانه مقدار زیادی باقیمانده‌ی کشاورزی در کشورهای جهان، ازجمله ایران تولید می‌شود. این باقیمانده‌های کشاورزی، خوراک‌های مهمی در تغذیه نشخوارکنندگان هستند. اما استفاده از این محصولات به‌عنوان منبع خوراکی در

تغذیه نشخوارکنندگان به علت محدودیت در ساختار پیچیده بیولوژیکی و پروتئین کم آن‌ها محدود شده است (ناصحی و همکاران ۲۰۱٤). امروزه علاقه‌ی زیادی به استفاده از کاه‌ها به‌عنوان محصولات فرعی کشاورزی برای تغذیه نشخوارکنندگان در بسیاری از کشورهای آسیایی وجود دارد، زیرا ازیک‌طرف هزینه علوفه‌های باکیفیت، بالا است و از طرف دیگر دسترسی به این علوفه‌ها محدود می‌باشد. این ترکیبات فرعی اغلب با نام لیگنینوسلولزی بیان می‌شوند چون حاوی سلولز زیادی می‌باشند که با بیوپلیمر لیگنین باند شده است (تامیا و همکاران ۲۰۱۷). اعتقاد بر این است که این مقدار زیاد فیبر با مصرف اختیاری خوراک، نرخ تخمیر ماده آلی، مقدار سلول میکروبی به ازای هر واحد ماده آلی تخمیر شده و نسبت استات به پروپیونات یک همبستگی منفی دارد. بنابراین فراوری این فراورده‌های فرعی قبل از مصرف بسیار ضروری می‌باشد (عبدالعزیز و همکاران ۲۰۱۵). روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی متفاوتی برای فراوری کاه گندم استفاده شده است که هدف تمامی این روش‌ها شکستن لیگنین و در دسترس قرار دادن بیشتر سلولز و همی سلولز برای تخمیر در شکمبه است. استفاده از روش‌های فراوری بیولوژیکی توسط قارچ‌ها به دلیل عدم آلودگی محیطزیست مورد توجه بیشتری قرار گرفته است. قارچ‌های پوسیدگی سفید تنها ارگانیسم‌هایی هستند که قادر به تجزیه هوازی لیگنین و تبدیل آن به Co_2 و آب می‌باشند (هرموسیلا و همکاران ۲۰۱۸). تجزیه لیگنین توسط قارچ‌های پوسیدگی سفید متکی به ۳ آنزیم: لیگنین پراکسیداز، منگنزپراکسیداز و لاکاز است. آنزیم‌های قارچ‌های پوسیدگی سفید به ۳ دسته تقسیم می‌شوند. اولین مورد شامل آنزیم هایی است که مستقیماً به اجزای چوب حمله می کنند. این گروه شامل آنزیم هایی است که بر روی هر دو اجزای کربوهیدراتی (سلولز، همی سلولز) و لیگنین اثر می کنند. آنزیم سلولاز جز این دسته از آنزیم‌ها قرار می‌گیرد که از یک آنزیم اندوگلوکاناز و ۲ آنزیم اگزوگلوکاناز تشکیل شده است. آنزیم بتا ۱-٤ اندوگلوکاناز که همان متیل سلولاز می‌باشد باعث شکسته شدن پیوندهای بتا ۱-٤ سلولز و در نتیجه سبب ایجاد گلوکز می‌شود (لیونوویکز و همکاران ۱۹۹۹). در طول کشت جامد کاه گندم با قارچ‌ها، ماده آلی و مقدار فیبر کاهش پیدا می‌کند و لیگنین به‌صورت انتخابی از کمپلکس لیگنینوسلولزی حذف می‌شود. البته این تغییرات بستگی به نوع قارچ و نوع محیط کشت دارد (هونگ و همکاران ۲۰۱۲). شیزوفیلوم کمون یک قارچ خوراکی از خانواده بازیدومیست‌ها است. سطح آنزیم تولیدی در این قارچ به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر زمان انکوباسیون سوبسترا با قارچ قرار می‌گیرد (اصغر و همکاران ۲۰۱٦). اسپری آنزیم لاکاز حاصل از *شیزوفیلوم* (لاکاز حاصل از کشت مایع، لاکاز حاصل از کشت جامد و لاکاز خالص‌شده) بر روی کاه گندم، کاه ذرت و کاه سورگوم سبب کاهش تدریجی در مقدار فیبر نامحلول در شوینده خنثی کاه‌ها شده و درنتیجه سبب افزایش گوارش‌پذیری کاه‌ها می‌شود (کومار و همکاران ۲۰۱۵). از طرف دیگر آب، پروتئین و اجزای نامحلول در سود (NaoH)، ترکیب اصلی میسلیوم‌های قارچی بازیدومیست‌ها را تشکیل می‌دهند. این ترکیبات نامحلول در سود عمدتاً شامل کیتین، پلی ساکاریدهای اسیدی و مقدار اندکی کیتوسان می‌باشد. واحدهای استیل دی گلوکز آمین موجود در پلیمر کیتین توسط پروتوزوآهای مژک‌دار در شکمبه به منومرهای استیل دی گلوکز آمین تجزیه می‌شوند که می‌توان از آن‌ها به عنوان یک منبع بالقوه انرژی در جیره نشخوارکنندگان استفاده کرد (بلزکی و همکاران ۲۰۰۸).

هدف از اجرای این آزمایش تعیین ترکیب شیمیایی، حجم گاز تولیدی، تجزیه‌پذیری ماده خشک، تجزیه‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدهای چرب فرار تولیدی توسط کاه گندم فراوری شده با قارچ *شیزوفیلوم کمون* تحت شرایط کشت مایع و کشت جامد با استفاده از کیسه‌های نایلونی و تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها و تلقیح قارچ محل، زمان اجرا و حیوانات مورد استفاده 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. به منظور 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 مجهز به فیستولای شکمبه‌ای با وزن ۲۰±٤٥٠ کیلوگرم و سن ٤سال استفاده شد. حیوانات مورد استفاده 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 گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه بود.

کاه گندم از مزرعه علوم دامی دانشگاه ارومیه تهیه و قارچ *شیزوفیلوم کمون* از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران) خریداری شد. جهت کشت جامد، ابتدا کاه گندم ۱۲ساعت در آب خیسانده شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در درون اتوکلاو (ریحان طب،RT2، ایران) با دمای ۱۲۱درجه سانتی‌گراد استریل گردید. 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 میکروزیستی استریل (class2, Lamin air flow) منتقل شد (ادیریورا و همکاران ۲۰۱۵) و به مدت ۲۵روز در درون انکوباتور با دمای ۲٦ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید(زاهیدا و همکاران ۲۰۱۵). 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 (PDB) منقل شد (رنگخاونگ و همکاران ۲۰۱۳). ارلن‌های حاوی محیط کشت مایع و قارچ به مدت ۷ روز بر روی شیکرانکوباتور (پویش طب آداک، ایران) با سرعت ۱۸۰دور در دقیقه و دمای ۲٦درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (دو و همکاران ۲۰۱۷). پس از ۷ روز محتویات درون ارلن‌ها توسط کاغذصافی صاف گردید و ۱۰۰میلی‌لیتر از محلول صاف‌شده در زیر هود میکروزیستی 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 به مدت ۲۵روز در درون انکوباتور با دمای ۲٦درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. کاه گندم پس از گذشت ۲۵روز از درون شیشه‌ها بیرون آورده شد و به مدت ٤روز در دمای ٦۰درجه سانتی‌گراد خشک گردید.

تعیین ترکیب شیمیایی

کلیه نمونه‌ها با آسیاب آزمایشگاهی با الک ۱ میلی‌متری آسیاب گردید. ترکیب شیمیایی کاه گندم فراوری شده و فراوری نشده ازجمله مقادیر ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام بر اساس روش استاندارد (AOAC, 2000) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی با استفاده از روش فیلتر بگ (کومارک ۱۹۹٤) و محلول‌های شوینده ونسوست 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 ۲٤۰ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای همانند روش توصیف شده در بخش تجزیه‌پذیری استفاده شد و مقدار آن توسط روش صوفی زاده و همکاران (۲۰۱۸) محاسبه گردید. به‌منظور اندازه‌گیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی تصحیح شده برای خاکستر (NDFom)، بقایای حاصل از تعیین الیاف نامحلول در شوینده خنثی نمونه‌ها، به مدت شش ساعت در کورهٔ الکتریکی (Atra, Tehran, Iran) با دمای ٤٥۰ درجه سانتی‌گراد سوزانده شد (AOAC, 2000).

آزمون تولید گاز و تعیین فراسنجه‌های شکمبه‌ای میزان گاز تولیدی با استفاده از فشارسنج دیجیتالی (تئودورو و همکاران ۱۹۹٤) در سه دور 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 (بر اساس ماده خشک حاوی ١٤ درصد پروتیین خام و ۱/٤ مگاکالری انرژی خالص شیردهی در هر کیلوگرم ماده خشک تغذیه شدند (جدول ۱) . پس از صاف نمودن شیرابه شکمبه، شیرابه و بافر (محلول‌های ماکرومینرال، میکرومینرال، احیا کننده، بافر و ریسازورین) مطابق روش منک و همکاران (۱۹۷۹) و روش تصحیح‌شده منک و استینگاس (۱۹۸۸) به نسبت یک قسمت شیرابه و دو قسمت بزاق مصنوعی به داخل بالن سه دهانه مخصوص تحت جریان مداوم دی اکسید کربن ریخته شده و تا زمان انتقال به شیشه‌های حاوی نمونه در دمای ۳۹ درجه سیلسیوس 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 اضافه شده 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 به‌ترتیب به منظور 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 جداشده و به مدت ۷۲ساعت در آون$٦٠^{\circ}C$ برای تعیین میزان مادهٔ خشک قرار گرفت (AOAC, 2000) فشار گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۲، ٢٤، ٤٨، ۷۲، ۹٦، ۱۲۰و ١٤٤ ساعت توسط دستگاه فشارسنج اتوماتیک اندازه‌گیری شد (گل‌پونه صفاهان، اصفهان، ایران). سپس با رسم نمودار در نرم‌افزار Excel، معادله نمایی منحنی به دست آمده و داده‌های فشار به حجم گاز تبدیل شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها توسط معادله مکدونالد و ارسکوف (۱۹۷۹) و با استفاده از رویه NLIN نرم‌افزار SAS9.1 و نرم افزار Fitcurve انجام شد. برای تخمین انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی از معادلات تصحیح شده منک و استینگاس (۱۹۸۸) که برای خوراک‌های علوفه‌ای پیشنهاد شده بود استفاده گردید.

به‌منظور تصحیح مواد خوراکی و تخمیر و تولیدگاز 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 ٢٤ ساعت زمان انکوباسیون، هنگام انجام آزمون تولید گاز در شکمبه استفاده شد. محتویات درون شیشه‌ها با یک میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۵۰درصد با نسبت ۱ به ۵۰ مخلوط و به مدت ۱۵دقیقه با سرعت ۳۰۰۰دور در دقیقه سانتریفیوژ و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار از فام‌نگاری گازی با ستون موئین استفاده شد (صاحبی و همکاران ۲۰۲۰). نیتروژن آمونیاکی با استفاده از سنجش دستگاه میکروپلت ریدر (مدل Garni کشور آلمان) و روش تغییریافته بوریدریک و کانگ (۱۹۸۰) اندازه‌گیری شد (شرافت و همکاران ۲۰۲۰).تعیین تجزیه‌پذیری با روش کیسه‌های نایلونی

تعیین تجزیه‌پذیری ماده خشک و الیاف ناملول در شوینده خنثی، بر اساس روش استاندارد شده ونزانت و همکاران (۱۹۹۸) و 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, 1995)[1] تغذیه شدند، انجام گرفت. خوراک حیوانات مورد آزمایش به روش پیشنهادی AFRC(۱۹۹۲) با نسبت علوفه به کنسانتره ی برابر با ۶۰:۴۰ بانرم افزار CNCPS V5 ، با استفاده از دستگاه خوراک ساز اتوماتیک تهیه شد. خوراک به میزان ۱۰ درصد بالاتر از سطح نگهداری در ۲ وعده برابر در ساعات ۸ صبح و ۱۸ عصر به حیوانات داده شد (جدول ۱). حیوانات در جایگاه انفرادی نگهداری شدند و آب و سنگ نمک در طول شبانه‌روز به صورت اختیاری در دسترس آن‌ها قرار گرفت. برای تعیین میزان تجزیه‌پذیری از کیسه‌های پلی‌استر با ابعاد ۸×۱۸ سانتی‌متر، 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، به منظور 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 خوراک دهی صبح بود و کیسه‌ها در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲و ۹۶ ساعت از شکمبه خارج شدند. دو کیسه برای هر زمان انکوباسیون در شکمبه‌ی هر گاو قرار گرفت. کیسه‌ها بلافاصله پس از خارج شدن از شکمبه در آب سرد قرار داده‌شده و با دست به روش پیشنهادی کوبلنتز و همکاران (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 سیلسیوس، همانند کیسه‌های خارج شده از شکمبه شسته شدند. کیسه‌ها پس از شستشو، به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۰ درجه سیلسیوس خشک شدند.فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری و میزان تجزیه‌پذیری مؤثر در سرعت های مختلف عبور از شکمبه با استفاده از معادلات غیرخطی مکدوناالد و ارسکوف (۱۹۷۹) و مکدوناالد (۱۹۸۱) با استفاده از نرم‌افزار FitCurve تعیین شدند.

محاسبات و مدل آماری

غلظت انرژی قابل متابولیسم و ماده آلی قابل هضم به وسیله فرمول‌های زیر محاسبه شدند (منک و استسنگاس ۱۹۸۸). پروتئین میکروبی (MCP) نیز به صورت ۱۹/۳ گرم نیتروژن میکروبی به ازای هر کیلوگرم ماده آلی قابل‌هضم محاسبه گردید.

OMD=14/88+0/8893 GP+0/0448 CP+0/0651 CA

ME= 2/2 + 0/1357 GP + 0/057CP + 0/0002589 " CP2

در این معادلات، ME، GP ، CP، CA، MCP، و DOM به ترتیب معادل با انرژی قابل متابولیسم، میزان گاز تجمعی تولیدی در ۲۴ ساعت به ازای ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک نمونه، پروتئین خام، خاکستر خام، پروتئین خام میکروبی و ماده آلی قابل هضم می باشد.

داده‌های مربوط به تأثیر روش‌های مختلف فرآوری بر ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری و تولید گاز با استفاده از طرح کاملاً تصادفی ($Y_i=\mu+T_i+e_i$) و با استفاده از رویه‌ی مدل خطی تعمیم‌یافته[2] (GLM) نرم‌افزار SAS9.1(2002) مورد ارزیابی آماری قرار گرفت. در آنالیز کینتیکی آزمون تولید گاز و تجزیه‌پذیری اثر زمان انکوباسیون (ساعت) به عنوان عامل تکرارشونده و اثر متقابل زمان انکوباسیون و نوع فرآوری در مدل قرار گرفت.

$$Y_{ij}=\mu+T_i+It_{j+}\ Tit_{ij}+\ e_{ij}$$

μ: میانگین جامعه؛ T_i: اثر تیمار؛ It_j: اثر زمان انکوباسیون؛ Tit_{ij}: اثر متقابل زمان انکوباسیون و نوع فرآوری؛ e_{ij}: اثر اشتباه آزمایشی. آنالیز آماری با استفاده از PROC MIXED نرم‌افزار SAS 9.1 انجام

[1] AFRC (Agriculture and Fisheries Research Council)

[2] Generalized Linear Model (GLM)

و از ساختار کواریانس نوع اول[1] استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین حداقل مربعات و خطای استاندارد[2] در جداول مربوطه گزارش‌شده و تصحیح داده‌ها با استفاده از آزمون توکی و مقایسه میانگین‌ها با گزینه PDIFF در سطح احتمال آماری ۹۵ درصد (P < ۰/۰۵) انجام شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی کاه گندم فراوری‌شده و نشده توسط قارچ *شیزوفیلوم کمون* به‌صورت کشت مایع و کشت جامد در جدول ۲ آورده شده است. تجزیه آماری داده‌های مربوط به ترکیب شیمیایی کاه گندم فراوری‌شده توسط قارچ شیزوفیلوم کمون به‌صورت کشت مایع و کشت جامد نشان داد که ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاهش و مقدار پروتئین افزایش یافت. مقدار الیاف گوارش ناپذیر نامحلول در شوینده خنثی کاه گندم تحت تأثیر فراوری با روش کشت مایع قرار نگرفت اما کشت جامد قارچ سبب افزایش مقدار الیاف گوارش ناپذیر نامحلول در شوینده خنثی شد. قارچ‌ها به هنگام رشد بر روی سوبسترا، انواع مختلف آنزیم‌های خارج سلولی را تولید می‌کنند که این آنزیم‌ها سبب شکسته شدن پیوندهای هیدروکربنی برای تأمین انرژی جهت رشد توده قارچی و درنتیجه متصاعد شدن گاز کربن دی‌اکسید می‌شوند. به‌این‌ترتیب این پدیده باعث می‌شود که از وزن ماده خشک اولیه کاسته شود. کاهش در ماده خشک به هنگام فراوری پوست سبز گردو توسط قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* و باگاس نیشکر توسط قارچ *پلوروتوس فلوریدا* مشاهده شده است (تکلوزاده و همکاران ۲۰۱٤ و محمودمولایی و همکاران ۲۰۱۵). درصد ماده آلی تحت تاثیر فراوری توسط قارچ *شیزوفیلوم* به روش کشت مایع و کشت جامد قرار نگرفت. فراوری تفاله چغندر نیز توسط گونه‌ی دیگری از قارچ‌های پوسیدگی سفید تاثیری بر مقدار ماده آلی نداشت (دشتی و همکاران ۲۰۰۹).

میکروارگانیسم‌های تولیدکننده پروتئین میکروبی، کربوهیدرات‌های ساختمانی موجود در کاه‌ها را به‌عنوان منبع انرژی استفاده کرده و با استفاده از منابع نیتروژنی موجود یا اضافه شده در حین فراوری، آن را در توده سلولی خود به پروتئین تبدیل می‌کنند، یعنی کاه با استفاده از روش تبدیل زیستی غنی می‌شود. از طرف دیگر در توده سلولی قارچ در حدود ٤٥درصد پروتئین خام وجود دارد (حاجی گرایی و همکاران ۲۰۲۰، قورچی و همکاران ۲۰۱٦ و یالچی و حاجی گرایی ۲۰۱۱). همه قارچ‌های پوسیدگی سفید به مقدار زیادی الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی را تجزیه می‌کنند. این به دلیل زیستگاه طبیعی قارچ‌های پوسیدگی سفید است که برای تأمین انرژی به کربن آلی (منابع لیگنوسلولزی) وابسته هستند (مهرابی و همکاران ۲۰۱۵، یالکی ۲۰۱۵ و متری و همکاران ۲۰۱۵). بنابراین کاهش الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاه گندم پس از فراوری توسط قارچ قابل پیش‌بینی بود. تحقیقات صورت گرفته بر روی ژنوم قارچ *شیزوفیلوم کمون* مشخص کرده است که تعداد کمی از ژن‌ها در این قارچ مسئول تولید آنزیم لاکاز هستند و اکثر ژن‌های این قارچ بیان‌کننده تولید آنزیم سلولاز و زایلاناز هستند (توار هریا و همکاران ۲۰۱۸). در یک آزمایش دیگر زمانی که فعالیت آنزیمی قارچ *شیزوفیلوم کمون* را موردبررسی قرار گرفت مشخص شد که در بین چند قارچ پوسیدگی سفید دیگر قارچ *شیزوفیلوم کمون* بالاترین فعالیت سلولازی و زایلانازی را داشت و هیچ فعالیت لاکازی از خود نشان نداد (سورنالکه و همکاران ۲۰۱۷). پس می‌توان نتیجه گرفت که در آزمایش حاضر نیز شیزوفیلوم با ترشح آنزیم سلولاز و زایلاناز سبب تجزیه سلولز و همی سلولز شده است و سبب کاهش الیاف نامحلول در شوینده خنثی گردیده است اما هیچ تأثیری بر مقدار لیگنین نداشته است و چون الیاف

[1] First order autoregressive
2 Standard Error of Means (SEM)

گوارش ناپذیر نامحلول در شوینده خنثی به‌صورت درصدی از الیاف نامحلول در شوینده خنثی بیان می‌شود طبیعی است که مقدار الیاف گوارش ناپذیر نامحلول در شوینده خنثی افزایش یابد.

نتایج مربوط به میانگین حجم گاز تجمعی تولیدشده کاه گندم فراوری نشده و فراوری‌شده توسط قارچ *شیزوفیلوم کمون* به‌صورت کشت مایع و کشت جامد در جدول ۳ آورده شده است. در این مطالعه با افزایش زمان انکوباسیون از ۲ به ۱٤٤ ساعت، حجم گاز تولید شده از کاه گندم فراوری نشده و فراوری شده با قارچ *شیزوفیلوم* افزایش یافت. همچنین در زمان‌های انکوباسیون ۱۲۰ و ۱٤٤ ساعت حجم گاز تولیدی توسط کاه گندم فراوری شده به روش کشت جامد بیشتر از کاه گندم فراوری نشده بود و کاه گندم فراوری‌شده به روش کشت مایع حجم گاز تولیدی کمتری نسبت به گروه فراوری شده با کشت جامد نشان داد. فاکتورهای زیادی بر میزان گاز تولیدی در هنگام تخمیر تأثیر دارند ازجمله ماهیت و سطح الیاف و قدرت مایعات شکمبه مورداستفاده. 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 دارند. کاهش مقدار الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و 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 علوفه‌های تیمار شده سبب افزایش گاز تولیدی می‌گردد (ناصحی و همکاران ۲۰۱۷). فراوری کاه گندم توسط قارچ *پلوروتوس فلوریدا* نیز سبب افزایش تولید گاز تجمعی می‌شود. در بین فراسنجه‌های تولید گاز تجمعی بخش قابل تخمیر در کاه گندم فراوری شده به روش کشت جامد افزایش یافت اما نرخ تولید گاز تحت تأثیر فراوری توسط قارچ قرار نگرفت. افزایش بخش قابل تخمیر احتمالاً به دلیل تأثیر آنزیم‌های قارچی بر ترکیبات دیواره سلولی و افزایش قابلیت دسترسی به بخش‌های قابل تخمیر بود. مقدار انرژی قابل متابولیسم در کاه گندم فراوری شده به هر دو روش کشت و درصد گوارش‌پذیری ماده خشک در کاه گندم فراوری شده به روش کشت مایع افزایش یافت. ناصحی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که فراوری کاه گندم با قارچ پوسیدگی سفید گونه *پلوروتوس فلوریدا* سبب افزایش درصد گوارش‌پذیری ماده خشک و انرژی قابل متابولیسم می‌شود. دلیل افزایش درصد گوارش‌پذیری ماده خشک را می‌توان کاهش ترکیبات دیواره سلولی همراه با افزایش مقدار پروتئین پس از فراوری بیان کرد (شارما و اورا ۲۰۱۰ و آکینفمی و همکاران ۲۰۱۰). 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 (سلام و همکاران ۲۰۰۷ و آکینفمی و همکاران ۲۰۱۰). درصد گوارش‌پذیری ماده آلی تحت تأثیر فراوری به روش کشت مایع قرار نگرفت ولی در کشت جامد کاهش یافت که نتایج حاصل با کارهای انجام گرفته توسط نخعی و همکاران (۲۰۱٦) مطابقت نداشت.

نتایج تجزیه‌پذیری ماده خشک و شاخص ارزش غذایی کاه گندم فراوری شده و نشده در جدول ٤ آورده شده است. تجزیه‌پذیری ماده خشک کاه گندم فراوری شده به روش کشت جامد از ساعت ۲ انکوباسیون شکمبه‌ای تا ساعت ۱۲ انکوباسیون کم‌تر از کاه گندم فراوری نشده بود اما از ساعت ۲٤ انکوباسیون نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. 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(ناصحی و همکاران ۲۰۱۲). تجزیه‌پذیری ماده خشک کاه گندم فراوری شده توسط

قارچ *شیزوفیلوم* به‌صورت کشت مایع در ساعات ۸، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ تحت تأثیر فراوری قرار نگرفت و در بقیه ساعات انکوباسیون کم‌تر از گروه شاهد بود. کاهش در تجزیه‌پذیری ماده خشک به دلیل تجزیه بیشتر سلولز و همی سلولز توسط قارچ و عدم تأثیر بر مقدار لیگنین بود. نتایج تجزیه چند نوع خوراک توسط قارچ‌های شکمبه نشان داد که خوراکی که بیش‌ترین لیگنین را داشت به مقدار کم‌تری تجزیه شد (مهرابی و همکاران ۲۰۱٦). در بین فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری بخش محلول در کاه گندم فراوری شده به روش کشت مایع و جامد کاهش و بخش بالقوه قابل‌تجزیه به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. در موقع عمل‌آوری کاه گندم با قارچ، سیستم آنزیمی قارچ سبب شکستن پیوندهای شیمیایی در مواد هیدروکربنی ساختمانی در کاه گندم می‌گردد. لذا ازیک‌طرف مقدار الیاف خام در کاه گندم عمل‌آوری شده کاهش می‌یابد اما از طرف دیگر وجود دیواره سلولی قارچ‌ها (که رفتاری مشابه الیاف خام دارند) احتمالاً سبب می‌شود که در موقع تخمیر این خوراک در شکمبه، مقدار بخش بالقوه قابل‌تجزیه تا حدودی افزایش یابد (دشتی و همکاران ۲۰۰۹). تجزیه‌پذیری مؤثر کاه گندم فراوری شده به روش کشت جامد در نرخ عبور ۲درصد از شکمبه افزایش یافت اما فراوری به روش کشت مایع در تمامی نرخ‌های عبوری از شکمبه سبب کاهش تجزیه‌پذیری مؤثر کاه گندم شد. آنزیم‌های قارچ سبب شکستن دیواره سلولی شده و دسترسی میکروارگانیسم‌ها به دیواره سلولی تسهیل شده که موجب تجزیه بیشتر مواد خوراکی در شکمبه می‌شود (فضائلی و همکاران ۲۰۰٤ و ناصحی و همکاران ۲۰۱۲). افزایش در تجزیه‌پذیری کاه گندم فراوری شده به روش کشت جامد با کارهای انجام شده توسط مهرابی و همکاران (۲۰۱٦) که از قارچ *رنگین کمان* برای فراوری کاه گندم استفاده کرده بودند مطابقت داشت. تکلوزاده و همکاران (۲۰۱٤) از قارچ *نوروسپوراستیوفیلا* برای فراوری پوست سبز گردو استفاده کردند و نتایج آزمایش آن‌ها نشان داد که بین گروه شاهد و تیمارها در مقدار تجزیه‌پذیری ماده خشک پس از ۹٦ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای تفاوت معنی داری وجود نداشت. قورچی و همکاران (۲۰۱٦) بیان کردند که تجزیه‌پذیری موثر ماده خشک کاه ذرت فراوری شده با قارچ *ترامتس* و *پلیروتوس استریاتوس* در نرخ عبور ۲درصد از شکمبه افزایش یافت. افزایش در نرخ عبور ۲درصد از شکمبه با نتایج آزمایش حاضر مطابقت داشت. شاخص ارزش غذایی کاه گندم تحت تأثیر فراوری با قارچ قرار نگرفت. تکلوزاده و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند که فراوری پوست گردو با قارچ تأثیر مثبتی بر مقدار شاخص ارزش غذایی نداشت.

نتایج تجزیه‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاه گندم فراوری شده و نشده در جدول ۵ آورده شده است. مقدار تجزیه‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی در کشت مایع و کشت جامد کاه گندم با قارچ *شیزوفیلوم* به‌طور معنی‌داری کم‌تر از گروه شاهد بود. دلیل احتمالی می‌تواند این باشد که آنزیم‌های قارچ سلولز و همی سلولز را تجزیه می‌کنند و بیش‌ترین ترکیبی که باقی می‌ماند لیگنین است. چون لیگنین در شکمبه قابل‌تجزیه نیست پس درصد تجزیه‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاه گندم را کاهش می‌دهد. در مدت رشد رویشی قارچ‌ها فرایند لیگنین‌زدایی با تجزیه سلولز همراه است. میکروارگانیسم‌های ایده آل برای تبدیل مواد لیگنینوسلولزی به خوراک دام باید ترکیبی از قابلیت بالای لیگنین‌زدایی و تجزیه کم سلولز و همی سلولز را دارا باشند (توین و همکاران ۲۰۱۳). در اثر فراوری کاه گندم با قارچ *شیزوفیلوم کمون* به‌صورت کشت مایع و جامد مقدار بخش محلول (a) به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت. بین کشت مایع و جامد قارچ ازنظر آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی با بخش‌های مختلف تجزیه‌پذیری دارای روابطی هستند. در این میان دیواره سلولی فاقد همی سلولز بر بخش محلول دارای بیش‌ترین اثر

می‌باشد. به همین دلیل با کاهش مقدار همی سلولز مقدار بخش محلول نیز کاهش پیدا می‌کند (قورچی و همکاران ۲۰۱۶). بخش بالقوه قابل‌تجزیه کاه گندم فراوری شده به روش کشت مایع 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 ساکارید ها و همکاری میکروارگانیسم‌ها در گوارش دارد (قورچی و همکاران ۲۰۱۶). مقدار تجزیه‌پذیری مؤثر کاه گندم فراوری شده با قارچ به‌صورت کشت مایع و جامد در تمامی نرخ‌های عبوری (۲،۴،۸ درصد در ساعت) به‌طور معنی‌داری کم‌تر از گروه شاهد بود. احتمالاً کاهش در تجزیه‌پذیری مؤثر به دلیل بالا بودن مقدار لیگنین در گروه فراوری شده نسبت به گروه شاهد بود.

مقدار اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی تولید شده توسط کاه گندم فراوری شده و نشده در جدول ٦ آورده شده است. بین اسیدهای چرب فرار تولیدی کاه گندم فراوری شده و نشده از نظر آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد اما از نظر عددی مقدار پروپیونات در گروه‌های تیمار شده افزایش یافت و نسبت استات به پروپیونات در گروه‌های فراوری شده کاهش یافت. فراوری کاه گندم با قارچ *پلیتروس استریاتوس* سبب افزایش مقدار پروپیونات و کاهش نسبت استات به پروپیونات شد. چنین تغییری به سمت پروپیونات می‌تواند تولید متان را کاهش داده و تاحدی از اتلاف انرژی توسط دفع متان در نشخوارکنندگان جلوگیری کند (زین و همکاران ۲۰۰۲). نو و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که فراوری کاه گندم با قارچ *پلیتروس کریسوس پریوم* سبب کاهش در مقدار پروپیونات تولیدی می‌شود. مقدار کل اسیدهای چرب فرار تولیدی در کاه گندم فراوری شده با قارچ *شیزوفیلوم* افزایش معنی‌داری نشان داد به طوری که مقدار کل اسیدهای چرب فرار تولیدی در کاه گندم فراوری شده به روش کشت مایع از سایر تیمارها و گروه شاهد بیش‌تر بود. به عنوان منبع اصلی تامین انرژی برای نشخوارکنندگان غلظت اسیدهای چرب فرار به طور مستقیم قابلیت هضم خوراک را منعکس می‌کند (نو و همکاران ۲۰۱۸). افزایش در مقدار کل اسیدهای چرب فرار تولیدی با کارهای انجام شده توسط کاروناندا و وارگا (۱۹۹٦) که از قارچ *کوتوس استرکورئوس* برای فراوری کاه برنج استفاده کرده بوند مطابقت داشت. گزارش شده است که فراوری کاه گندم با قارچ *ایرپکس لاکتوس* سبب افزایش مقدار اسیدهای چرب فرار تولیدی می‌شود (نو و همکاران ۲۰۱۸). مقدار نیتروژن آمونیاکی تحت تاثیر تیمارها قرار گرفت و به طور معنی داری افزایش یافت. افزایش در مقدار نیتروژن آمونیاکی با کارهای صورت گرفته توسط نایان و همکاران (۲۰۱۸) مطابقت نداشت. آن‌ها علت این کاهش را تاثیر قارچ در دسترسی پروتئین کاه بیان کردند. افزایش در مقدار نیتروژن آمونیاکی صورت گرفته در آزمایش حاضر احتمالا به علت تاثیر آنزیم‌های قارچی بر پروتئین سوبسترا و پروفیل متفاوت پروتئین توده قارچی شیزوفیلوم کمون بود.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس یافته‌های به‌دست‌آمده از این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که کشت جامد قارچ *شیزوفیلوم کمون* سبب بهبود برخی مؤلفه‌های تغذیه‌ای کاه گندم نسبت به گروه شاهد و کشت مایع این قارچ شد زیرا فراوری کاه گندم به روش کشت جامد سبب افزایش مقدار پروتئین، حجم گاز تولیدی، انرژی قابل متابولیسم، تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و کل اسیدهای چرب فرار تولیدی گردید اما فراوری به روش کشت مایع تنها سبب افزایش مقدار پروتئین، قابلیت هضم ماده آلی و مقدار کل اسیدهای چرب فرار تولیدی شد. قابل ذکر است که تجزیه پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاه گندم فراوری شده با هر دو روش کشت کاهش یافت.

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

	DM	OM	CP	NDF	NDFom	*uNDF
Control	99/21[a]	91/5	2/94[b]	79/62[a]	69/62[a]	32/59[b]
solid state culture	95/22[b]	90/00	6/12[a]	70/12[c]	64/12[c]	34/85[a]
liquid state culture	94/58[b]	89/25	5/07[a]	71/75[b]	65/75[b]	33/48[b]
SEM	0/229	0/52	0/184	0/317	0/317	0/225
p-value	0/0014	0/1149	0/0026	</0001	</0001	0/0002

a,b,c: Means within each column with different superscripts are significantly different (P < 0.05)
* Undigested neutral detergent fibers are expressed as a percentage of Neutral Detergent Fiber

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

		Cumulative gas production kinetics (ml/g)			
Incubation times (h)	Control	Solid-state culture	Liquid-state culture	SEM	P-value
2	5.07	8.43	7.07	2.763	0.0933
4	9.32[b]	17.02[a]	11.11[ab]	2.763	<.0001
6	15.23[b]	26.32[a]	16.55[b]	2.763	<.0001
8	16.27[b]	35.68[a]	17.06[b]	2.763	<.0001
12	25.80[b]	45.07[a]	26.78[b]	2.763	<.0001
24	54.76[c]	74.67[a]	64.025[b]	2.763	<.0001
48	115.03[b]	119.35[ab]	124.13[a]	2.763	<.0001
72	156.50[c]	177.98[a]	167.32[b]	2.763	<.0001
96	203.498	210.17a	207.01ab	2.763	<.0001
120	232.11[b]	249.63[a]	242.05[a]	2.763	<.0001
144	267.92[b]	287.43[a]	272.00[b]	2.763	<.0001
		Cumulative gas production parameters			
b(ml)	392.85[b]	487.00[a]	436.95[b]	19.551	0.0001
c(ml/h)	0.005	0.003	0.003	0.007	0.3557
OMD (%)	35.01[c]	39.87[b]	42.53[a]	0.280	0.0003
ME(MJ/Kg)	6.12[c]	8.14[a]	7.49[b]	0.027	<.0001
DMD (%)	31.87[b]	38.12[c]	44.12[a]	0.335	<.0001
MCP	38.23[c]	40.85[b]	42.86[a]	0.217	0.0003

a,b,c: Means within each row with different superscripts are significantly different (P < 0.05)
b:Milliliter of gas production from insoluble and soluble 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 MCP: microbial Crude protein SEM: Standard error of mean

Table 3. Kinetics and parameters of dry matter degradability of wheat straw as control and treated with *Schizophyllum Commune* under liquid and solid state culture

Incubation time (h)	Degradation kinetics (g/100g)			SEM	P-value
	Control	Solid-state culture	Liquid-state culture		
2	13.60^{a}	10.51^{b}	9.79^{b}	0.7859	<.0001
4	15.05^{a}	12.47^{b}	10.72^{b}	0.7859	<.0001
6	16.70^{a}	13.50^{b}	12.06^{b}	0.7859	<.0001
8	17.47^{a}	14.69^{b}	16.13^{ab}	0.7859	<.0001
12	23.50^{a}	23.35^{a}	18.65^{b}	0.7859	<.0001
24	36.41^{b}	38.87^{a}	23.40^{c}	0.7859	<.0001
48	47.36^{b}	55.16^{a}	45.77^{b}	0.7859	<.0001
72	52.63^{b}	58.71^{a}	52.16^{b}	0.7859	<.0001
96	56.36^{b}	60.72^{a}	57.31^{b}	0.7859	<.0001
	Degradability parameters				
a (%)	9.06^{a}	3.51^{c}	6.65^{b}	0.344	<.0001
b (%)	50.16^{b}	60.49^{a}	67.10^{a}	2.455	0.0028
c (%/h)	0.029^{a}	0.034^{a}	0.016^{b}	0.0018	0.0001
a+b	59.20^{b}	64.00^{ab}	73.72^{a}	2.67	0.0113
p(k=0.02)	39.47^{b}	42.12^{a}	36.17^{c}	0.453	<.0001
p(k=0.05)	28.80^{a}	28.77^{a}	22.92^{b}	0.428	<.0001
p(k=0.08)	24.25^{a}	22.50^{b}	17.97^{c}	0.346	<.0001
NVI	35.123	34.707	36.814	0.896	0.2638

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

Table 5. Kinetics and parameters of Neutral Detergent Fiber degradability of wheat straw as control and treated with *Schizophyllum Commune* under liquid and solid state culture

Incubation time (h)	Control	Degradation kinetics (g/100g)		SEM	P-value
		Solid-state culture	Liquid-state culture		
2	18.35^{a}	5.63^{b}	3.96^{b}	0.7017	<.0001
4	20.51^{a}	10.70^{b}	6.00^{c}	0.7017	<.0001
6	19.89^{a}	13.73^{b}	8.45^{c}	0.7017	<.0001
8	22.19^{a}	15.64^{b}	9.72^{c}	0.7017	<.0001
12	23.35^{a}	16.84^{b}	13.21^{c}	0.7017	<.0001
24	41.83^{a}	40.62^{a}	17.72^{b}	0.7017	<.0001
48	55.33^{a}	56.94^{a}	44.83^{b}	0.7017	<.0001
72	60.77^{a}	62.17^{a}	53.03^{b}	0.7017	<.0001
96	66.40^{a}	63.58^{b}	57.59^{c}	0.7017	<.0001
		Degradability parameters			
a (%)	13.25^{a}	0.14^{b}	0.88^{b}	0.261	<.0001
b (%)	59.36^{b}	67.43^{b}	79.61^{a}	2.978	0.0031
c (%/h)	0.02^{b}	0.03^{a}	0.02^{b}	0.001	<.0001
a+b	72.62^{ab}	67.60^{b}	80.46^{a}	3.091	0.0465
p(k=0.02)	45.62^{a}	42.90^{b}	33.87^{c}	0.373	<.0001
p(k=0.05)	32.57^{a}	27.77^{b}	18.55^{c}	0.403	<.0001
p(k=0.08)	27.12^{a}	20.60^{b}	12.97^{c}	0.339	<.0001

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)

Table 6. Amount of volatile fatty acids and ammonia nitrogen produced by wheat straw processed with *Schizophyllum commune* under solid and liquid state culture

	Control	Solid state culture	Liquid state culture	SEM	P-value
Acetate (mol/100	75.88	75.46	73.93	2.634	0.8646
Propionate	8.92	9.93	10.10	2.753	0.9475
Butyrate (mol/100	9.42	8.07	8.95	0.761	0.524
Valerate (mol/100	4.72	5.39	5.92	0.66	0.5184
IsoButyrate	0.36	0.40	0.41	0.033	0.631
IsoValerate	0.62	0.70	0.66	0.048	0.6106
Total VFA(Mm/L)	53.20^{c}	60.10^{b}	63.99^{a}	0.387	0.0006
N-NH3(mg/dl)	7.75^{b}	8.61^{a}	8.83^{a}	0.133	0.021

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

منابع مورد استفاده

Abdel-Aziz NA, Salem AZ, El-Adawy MM, Camacho LM, Kholif AE, Elghandour MM and Borhami BE, 2015. Biological treatments as a mean to improve feed utilization in agriculture animals—An overview. Journal of Integrative Agriculture 14(3): 534-543.

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

Arora DS and Sharma RK, 2010. Ligninolytic fungal laccases and their biotechnological applications. Applied Biochemistry and Biotechnology 160(6): 1760-1788.

Asgher M, Wahab A, Bilal M and Iqbal HMN, 2016. Lignocellulose degradation and production of lignin modifying enzymes by Schizophyllum commune IBL-06 in solid-state fermentation. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 6(1): 195-201.

Bełżecki G, Miltko R, Michałowski T, Šimůnek J and Kopečný J, 2008. Chitinolytic activity of the sheep rumen ciliate Diploplastron affine. Folia Microbiologica 53(3): 201-3.

Coblentz WK and Walgenbach RP, 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 Saridorg, 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 FarDu B, Yang Y, Bian Z and

Ediriweera SS, Wijesundera RLC, Nanayakkara CM and Weerasena OV, 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.

Fazaeli H, Mahmodzadeh H, Azizi A, Jelan ZA, Liang JB, 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 Farsi

Hajieghrari B and Farrokhi N, 2020. Investigation on the Conserved MicroRNA Genes in Higher Plants. Plant Molecular Biology Reporter 1-14.

Hermosilla E, Rubilar O, Schalchli H, da Silva ASA, Ferreira-Leitao V and Diez MC, 2018. Sequential white-rot and brown-rot fungal pretreatment of wheat straw as a promising alternative for complementary mild treatments. Waste Management 79(1): 240-250.

Hong Y, Dashtban M, Chen S, Song R and Qin W, 2012. Enzyme production and lignin degradation by four basidiomycetes fungi in submerged fermentation of peat containing medium. International Journal of Biology 4(1): 172-180.

Karunanandaa K and Varga G, 1996. Colonization of rice straw by white-rot fungi (*Cyathus stercoreus):* Effect on ruminal fermentation pattern, nitrogen metabolism, and fiber utilization during continuous culture. Animal Feed Science and Technology 61(1): 1-16.

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

Kumar VP, Naik C and Sridhar M, 2015. Production, purification and characterization of novel laccase produced by Schizophyllum commune NI-07 with potential for delignification of crop residues. Applied Biochemistry and Microbiology 51(4): 432-441.

Leonowicz, A, Matuszewska A, Luterek J, Ziegenhagen D, Wojtaś-Wasilewska M, Cho NS and Rogalski, J, 1999. Biodegradation of lignin by white rot fungi. Fungal genetics and biology 27(2-3): 175-185.

Mahmoodmolai M, Farsi M, Naserian AA 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 Farsi

Mehrabi A, Ghorchi T and Razavi S, 2015. Comparison of chemical composition and rumen degradability among four types of straws treated by Trametes versicolor fungus. Animal Sciences Journal 28(107): 49-60. In Farsi

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

Menke KH, 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.

Metri Y, Warly L and Suyitman A, 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.

Nakhaei Sh, Dehghani MR and Jalilvand Gh, 1395. 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 Farsi

Nasehi M, Torbatinejad NM, Zerehdaran S and Safaei AR, 2014. Effect of (Pleurotus florida) fungi on chemical composition and rumen degradability of wheat and barley straw. Iranian Journal of Applied Animal Science 4(2): 257-261.

Nasehi M, Torbatinejad NM, Zerehdaran S and Safaie AR, 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.

Nasehi M, Torbatinezhad NM, Zerehdaran S and Safayi AR, 2012. Effect of biological treatment with oyster mushroom Pleurotus on the degradability of wheat and rice straw in Dalagh sheep. In: Proceedings of Fifth Iranian Congress of Animal Sciences, 29-30 august, Isfahan university, Isfahan, Iran, pp. 643- 652.

Nayan N, Sonnenberg AS, Hendriks WH and Cone JW, 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.

Orskov ER 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.

Sahebi M, Pirmohammadi R, Khalilvandi-Behroozyar H and Anassori E, 2020. Potential of walnut (*Juglans regia*) leave ethanolic extract to modify ruminal fermentation, microbial populations and mitigate methane emission. Animal Production Science 60: 1189-1200.

Sallam SM, Bueno IC, Godoy PB, Nozella EF, Vitti DM and Abdalla AL, 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.

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. In Farsi

Sornlake W, Rattanaphanjak P, Champreda V, Eurwilaichitr L, Kittisenachai S, Roytrakul S, Fujii T and Inoue H, 2017. Characterization of cellulolytic enzyme system of Schizophyllum commune mutant and evaluation of its efficiency on biomass hydrolysis. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 81(7): 1289-1299.

Soufizadeh M, Pirmohammadi R, Alijoo Y and Khalilvandi-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. Veterinary Research Forum 9(1): 49.

Sujani S and Seresinhe RT, 2015. Exogenous enzymes in ruminant nutrition: A review. Asian-Australian Journal of Animal Sciences 9(3): 85-99.

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.

Thammiah V, Samanta A.K, Senani S and Sridhar M, 2017. Scope of exogenous enzymes in enhancing ruminant productivity. Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research 5(2): 67-72.

Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB 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.

Tovar-Herrera OE, Martha-Paz AM, Pérez-LLano Y, Aranda E, Tacoronte-Morales JE, Pedroso-Cabrera MT and Batista-García RA, 2018. Schizophyllum commune: An unexploited source for lignocellulose degrading enzymes. Microbiology Open 7(3): e00637.

Tuyen DV, Phuong HN, Cone JW, Baars JJP, Sonnenberg ASM and Hendriks WH, 2013. Effect of fungal treatments of fibrous agricultural by-products on chemical composition and in vitro rumen fermentation and methane production. Bio Resource Technology 129(2): 256-263.

Van Soest PV, Robertson JB and Lewis BA, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74(10): 3583-3597.

Yalchi T and Hajieghrari B, 2011. Effect of fungal treatment on chemical composition and in vitro ruminal digestibility of some agricultural residues. African Journal of Biotechnology 10(85): 19707-19713.

Yilkal T, 2015. Role of White Rot Fungi as a Biological Treatment of Low Quality Animal Feeds: Review. Scholarly Journal of Agricultural Science 5(7): 247-255.

Zahida N, Khan SJ, Ammara Y, Muafia S, Shumaila U and Sakhawat A, 2015. Optimization of submerged culture conditions for biomass production in Schizophyllum commune, a medicinal mushroom. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 4(2): 258-266.

Zinn RA, Owens FN and Ware RA, 2002. Flaking corn: processing mechanics, quality standards, and impacts on energy availability and performance of feedlot cattle. J. Anim. Sci 80: 1145-1156.

The effect of wheat straw processing using liquid- and solid-state culture of *Schizophyllum Commune* on chemical composition, *in vitro* digestibility and fermentation parameters and rumen degradability

M Saghebi[1], H Khalilvandi-Behroozyar*[2], R Pirmohammadi[2] and M Donyadoust-Chelan[3]

Received: December 15, 2021 Accepted: March 7, 2022
[1]MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran
[2]Assistant Professor and Professor, respectively, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran
[3]Research and Development Department, Kimia-Danesh Alvand Enterprise Company
*Corresponding author: E mail: h.khalilvandi@urmia.ac.ir

پژوهش‌های علوم دامی
Animal Science Research

Journal of Animal Science/vol.33 No.2/ 2023/pp 47-62
https://animalscience.tabrizu.ac.ir

OPEN ACCESS

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)
DOI: 10.22034/AS.2022.49423.1642

Introduction: Today, one of the most important problems in the livestock industry is related to the high cost of feed and their low quality. Annually, a large amount of agricultural residues are produced in countries around the world, including Iran. These agricultural residues are important foods in the diet of ruminants. However, the use of these products as a food source in the diet of ruminants is limited due to limitations in their complex biological structure and low protein. Today, there is a great interest in using straws as agricultural by-products to feed ruminants in many Asian countries, because on the one hand, the cost of quality fodder is high and on the other hand, access to this fodder is limited. These by-products are often referred to as lignocellulose because they contain a lot of cellulose that is bonded with the lignin biopolymer. It is believed that this large amount of fiber has a negative correlation with the optional consumption of feed, the fermentation rate of organic matter, the amount of microbial cells per unit of fermented organic matter and the ratio of acetate to propionate. Therefore, processing these by-products before consumption is very necessary. Different physical, chemical and biological methods have been used to process wheat straw, all of which aim to break down lignin and make more cellulose and hemicellulose available for fermentation in the rumen. The use of biological processing methods by fungi has received more attention due to the lack of environmental pollution. White rot fungi are the only organisms capable of aerobically degrading lignin to CO2 and water. Degradation of lignin by white rot fungi relies on three enzymes: lignin peroxidase, manganese peroxidase and lacase. *Schizophyllum commune* is an edible fungus of the basidiomycete's family. The level of enzyme produced in this fungus is significantly affected by the incubation time of the substrate with the fungus. Spraying of lacase enzyme from *Schizophyllum* (liquid culture lacase, solid culture lacase and purified lacase) on wheat straw, corn straw and sorghum straw gradually reduces the amount of Neutral Detergent Fiber of straws and As a result, it increases the digestibility of straws. The purpose of this experiment was to determine the chemical composition, volume of gas produced, dry matter degradability, degradability of Neutral Detergent Fiber and volatile fatty acids produced by wheat straw processed with *Schizophyllum commune* under liquid culture and solid culture using nylon bags And gas production method.

Material and methods: To process wheat straw, the straw was first soaked in water for 12 hours and then sterilized in an autoclave at 121 ° C for 20 minutes. For solid culture, a 7-day-old

mushroom was transferred to each jar containing sterilized wheat straw and stored at 26 ° C for 25 days. Liquid culture medium containing the secreted enzymes was inoculated after filtration of the fungi on the liquid and into a glass chamber containing sterile and soaked wheat straw and kept at 26 ° C for 25 days. Wheat straw was removed from the jars after 25 days and dried for 4 days at 60 ° C. The gas production of the treatments in glass vials at 2,4,6,8,12,24,48,72,96,120,144 hours and their degradability were measured using nylon bags and three Holstein cows fistulated at 2,4,6,8,12,24,48,72,96 hours of ruminal incubation.

Results and discussion: Processing of wheat straw by *Schizophyllum commune* reduced dry matter and Neutral Detergent Fiber. Solid culture and liquid culture increased the amount of protein from 2.94 to 6.12 and 5.7%, respectively. Cumulative gas production increased during 144 hours of incubation in wheat straw processed by solid culture. Organic matter digestibility percentage, dry matter digestibility percentage and Metabolisable energy in wheat straw processed by liquid culture method showed a significant increase. The amount of crude microbial protein in wheat straw processed by liquid culture method showed a significant increase. Dry matter degradability increased during 96 hours of ruminal incubation and the potentially fermentable portion of processed wheat straw by solid culture. There was no significant difference between different treatments in terms of nutritional value index. The degradability of Neutral Detergent Fiber was reduced during 96 hours of incubation and the effective degradability in the treated groups was reduced. Liquid and solid culture processing increased the total amount of volatile fatty acids and ammonia nitrogen in wheat straw.

Conclusion: In general, processing of wheat straw with *Schizophyllum* by solid culture method improved some nutritional components, but the addition of fungal liquid culture medium did not have a significant positive effect on increasing the nutritional value of wheat straw.

Key words: Degradability, Nutritional value, processing, *Schizophyllum commune*, Wheat straw