



## Scanning electron microscope analysis of untreated and electron beam irradiated wheat straw pre- and post-incubation in the rumen of sheep

Hosein Zadegi-Mirzaei<sup>1</sup>, Parvin Shawrang<sup>\*2</sup>, Farahnaz Motamedi Sedeh<sup>3</sup>, Mohammad Chamani<sup>4</sup>, Mehdi Aminafshar<sup>5</sup>

<sup>1</sup> PhD student, Department of Animal Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Associate professor, Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran

<sup>3</sup> Associate professor, Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran

<sup>4</sup> Full professor, Department of Animal Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>5</sup> Assistant professor, Department of Animal Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

**Place to Research:** Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Article Info

Abstract

### Article History:

Received 03.02.2024

Revised 05.12.2024

Accepted 05.16.2024

Online 12.30.2024

### Keywords:

Radiation

Electron Beam

Fibrolytic Bacteria

Digestibility

### \*Corresponding author:

shawrang@gmail.com;

pshawrang@aeoi.org.ir

**Introduction:** Increasing the rumen's fiber digestibility and the ruminants' total digestive tract is very important to improve the feed conversion ratio. One of the methods used for feed processing is electron beam irradiation. Increased fiber digestibility occurred in irradiated feeds, the cause of which is unknown, therefore it is necessary to evaluate the structural condition of fibrous materials pre- and post-processing and during incubation in the rumen with an electron microscope. The present study aimed to evaluate the effect of electron beam irradiation on the microscopic structure of wheat straw fibers, the relative abundance of fibrolytic bacteria, and the fiber digestibility in the total digestive tract of sheep.

**Materials and Methods:** The wheat straw sample was irradiated with electron beam power of 10 mega electron volts and electron beam current of 6 mA at doses of 250 and 500 kGy. The straw sample was transferred to bags and then inserted in the rumen for 12 hours, and the structure of the cell wall pre- and post-irradiation, as well as pre- and post-incubation in the rumen, was imaged and analyzed with a scanning electron microscope. The relative abundance of fibrolytic bacteria was evaluated by polymerase chain reaction and horizontal electrophoresis.

**Results:** The relative abundance of *Ruminococcus flavofaciens* and *Fibrobacter succinogenes* in the rumen content showed a significant increase ( $P < 0.05$ ) by irradiation. Irradiation had no effect ( $P > 0.05$ ) on the relative abundance of *Ruminococcus albus*. Electron beam irradiation increased ( $P < 0.05$ ) the dry matter digestibility of wheat straw. Dry matter digestibility increased ( $P < 0.05$ ) as the irradiation dose increased, and the dose of 500 kg had the greatest effect on the dry matter digestibility of wheat straw. Scanning electron microscope showed a huge increase in the destruction of the cell wall structures in 500 kGy irradiated wheat straw, which resulted in an increase in the permeability of fibrolytic bacteria to the internal parts of the cell wall structure. Increasing the permeability of fibrolytic bacteria ultimately led to increased access to the substrate an increase in the relative abundance of bacteria and higher digestibility of fibers.

**Conclusion:** Electron beam radiation at a dose of 250 kGy can change the structure of the cell wall and improve the digestibility of fibrous materials. Increasing the dose to 500 kGy causes more disruption of the cell wall structure, increasing the relative abundance of fibrolytic bacteria and increasing the digestibility of fibrous materials.

**Cite this article:** Shirkavand, P., Noorbakhsh, F., Honarmand Jahromi, S. Antimicrobial activity of bacteriocin of lactic acid bacteria against beta-lactamase producing bacteria and evaluation of synergistic effect by some antibiotics. Iranian Journal of Biological Sciences. 2023; 18(4):57-69

**Publisher:** Islamic Azad University of Varamin – Pishva branch

**Print ISSN:** 1735-4226

**Online ISSN:** 1727-This is an open access

**article under the:** <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



## آنالیز میکروسکوپ الکترونی کاه گندم عمل اوری نشده و پرتوتابی شده با پرتو بیم الکترون پیش و پس از انکوباسیون میکروبی در شکمبه گوسفند

حسین زادگی-میرزائی<sup>۱</sup>، پروین شورنگ\*<sup>۲</sup>، فرحناز معتمدی سده<sup>۳</sup>، محمد چمنی<sup>۴</sup>، مهدی امین افشار<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دوره دکتری تخصصی، گروه علوم دامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار، پژوهشکده تحقیقات کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، کرج، ایران

<sup>۳</sup> دانشیار، پژوهشکده تحقیقات کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، کرج، ایران

<sup>۴</sup> استاد، گروه علوم دامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۵</sup> استادیار، گروه علوم دامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

محل انجام تحقیق: واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

### تاریخچه مقاله

ارسال	۱۴۰۲/۱۲/۱۲
بازنگری	۱۴۰۳/۰۲/۲۳
پذیرش	۱۴۰۳/۰۲/۲۷
نمایه	۱۴۰۳/۱۰/۱۰

### کلمات کلیدی

پرتوتابی  
بیم الکترون  
باکتری‌های فیبرولیتیک  
هضم پذیری  
دیواره سلولی

### \* نویسنده مسئول

shawrang@gmail.com;  
pshawrang@aeoi.org.ir

**مقدمه** افزایش هضم‌پذیری الیاف مواد خشبی در شکمبه و در کل دستگاه گوارش دام‌ها برای بهبود بهره‌وری از منابع خوراکی اهمیت زیادی دارد. یکی از روش‌ها برای این منظور پرتوتابی بیم الکترون است. برای یافتن دلیل افزایش هضم‌پذیری در این روش، وضعیت ساختاری مواد خشبی قبل و بعد از عمل‌آوری و همچنین طی انکوباسیون در شکمبه دام‌های نشخوارکننده لازم است با میکروسکوپ الکترونی بررسی شود. پژوهش حاضر با هدف مطالعه اثر پرتو الکترون بر ساختار میکروسکوپی الیاف کاه گندم، فراوانی نسبی باکتری‌های فیبرولیتیک و مقدار هضم‌پذیری در کل دستگاه گوارش گوسفند انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** نمونه‌های کاه گندم مورد پرتوتابی بیم الکترون با قدرت پرتو الکترون ۱۰ مگا الکترون ولت و جریان باریکه الکترون ۶ میلی‌آمپر با دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ کیلوگری قرار گرفتند. نمونه‌ها درون کیسه نایلونی ریخته شد و در شکمبه به مدت ۱۲ ساعت در معرض میکروب‌ها قرار گرفت. ساختار دیواره سلولی قبل و بعد از پرتوتابی و همچنین قبل و بعد از انکوباسیون در شکمبه با میکروسکوپ الکترونی نگاره تصویربرداری و آنالیز شد. فراوانی نسبی باکتری‌های هضم‌کننده الیاف با تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و الکتروفورز افقی مورد ارزیابی قرار گرفت.

**نتایج** فراوانی نسبی رومینوکوکوس فلاوفاسینس و فیبروباکترسوکسینوزنز در شکمبه با پرتوتابی کاه گندم افزایش معنی‌داری نشان داد ( $P < 0.05$ ). پرتوتابی تأثیری بر فراوانی نسبی باکتری رومینوکوکوس‌آلبوس نداشت ( $P > 0.05$ ). پرتوتابی الکترون سبب افزایش قابلیت هضم ماده خشک کاه گندم شد و با افزایش دوز پرتوتابی این افزایش بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). به نحوی که دوز ۵۰۰ کیلوگری بیشترین تأثیر را در افزایش قابلیت هضم ماده خشک کاه گندم داشت. بنابر نتایج میکروسکوپ الکترونی نگاره، افزایش دوز بیم الکترون سبب تخریب بیشتر ساختارهای دیواره سلولی و افزایش نفوذپذیری باکتری‌های فیبرولیتیک در بخش‌های درونی ساختار مواد خشبی می‌شود. افزایش نفوذپذیری باکتری‌های هضم‌کننده الیاف در نهایت سبب افزایش دسترسی به سوبسترا و افزایش فراوانی نسبی باکتری‌ها و هضم بهتر الیاف شد.

**نتیجه‌گیری:** پرتوتابی بیم الکترون در دوز ۲۵۰ کیلوگری می‌تواند سبب تغییر ساختار دیواره سلولی و بهبود هضم‌پذیری کاه گندم شود. افزایش دوز به ۵۰۰ کیلوگری سبب بیشتر شدن به هم‌ریختگی ساختار دیواره سلولی، افزایش فراوانی نسبی باکتری‌های فیبرولیتیک و افزایش هضم‌پذیری کاه گندم می‌شود.

شیوه آدرس دهی این مقاله: زادگی-میرزائی، ح، شورنگ، پ، معتمدی سده، ف، چمنی، م، امین افشار، م، آنالیز میکروسکوپ الکترونی کاه گندم عمل اوری نشده و پرتوتابی شده با پرتو بیم الکترون پیش و پس از انکوباسیون میکروبی در شکمبه گوسفند. مجله دانش زیستی ایران. ۱۴۰۲؛ ۱۸ (۴): ۵۷-۶۹

نویسندگان: حق مؤلف ©

شاپا الکترونیک: ۲۷۱۷-۴۵۹۹

شاپا چاپی: ۱۷۳۵-۴۲۲۶ ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا

## مقدمه

یون ساز است (۱۰، ۹). در مطالعات قبلی پرتوتابی الکترون به عنوان یکی از روش‌های عمل‌آوری فیزیکی غیرحرارتی برای افزایش تجزیه‌پذیری دیواره سلولی مواد خشبی در پیش معده دام‌های نشخوارکننده مطرح شده است (۱۳-۱۱). در این مطالعات پرتوتابی بیم الکترون سبب افزایش هضم پذیری بخش الیافی مواد خوراکی شده است. در منابع علمی در دسترس، گزارشی درباره تغییراتی که پرتوتابی بیم الکترون در بخش الیافی مواد خوراکی ایجاد می‌کند یافت نشد. با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره می‌توان تغییراتی را که در سطح اجسام و ذرات ایجاد می‌شود، مشاهده کرد (۱۴). فرضیه پژوهش حاضر این است که پرتوتابی با بیم الکترون می‌تواند ساختار الیاف و سطح تماس ذرات کاه را تغییر دهد و این موضوع بر رفتار چسبیدن و فعالیت باکتری‌های فیبرولیتیک شکمبه اثر می‌گذارد. افزایش هضم‌پذیری دیواره سلولی که در مطالعات قبلی (۱۵، ۱۱) مشاهده شده است می‌تواند مربوط به افزایش سطح تماس و افزایش جمعیت باکتری‌های تجزیه‌کننده الیاف بر روی ذرات الیافی باشد. در این پژوهش با میکروسکوپ الکترونی وضعیت ساختاری کاه گندم قبل و بعد از عمل‌آوری و همچنین طی انکوباسیون در شکمبه گوسفند بررسی می‌شود. بنابراین هدف این مطالعه بررسی اثر پرتوتابی بیم الکترون بر ساختار و سطح تماس الیاف کاه گندم، فراوانی نسبی باکتری‌های فیبرولیتیک و مقدار هضم‌پذیری در کل دستگاه گوارش گوسفند بود.

علوفه‌های خشبی و بقایای محصولات زراعی به دلیل داشتن مواد لیگنوسلولزی دارای قابلیت هضم کم در دستگاه گوارش دام‌ها می‌باشد (۱). وجود مواد لیگنوسلولزی عامل مهم محدودکننده استفاده از این منابع ارزان قیمت در جیره غذایی حیوانات است (۲). لیگنین به سلولز و همی سلولز متصل است و سبب تشکیل یک پوشش فیزیکی اطراف این دو ترکیب شده، به نحوی که سد غیر قابل نفوذی در برابر آنزیم‌ها و میکروارگانیزم‌ها ایجاد می‌کند (۳). عمل‌آوری مواد خشبی با هدف لیگنین‌زدایی انجام می‌شود و عمل‌آوری سبب تغییراتی در ساختمان دیواره سلولی گیاهان می‌شود و به این طریق محتویات داخل سلول گیاهی به آسانی در دسترس آنزیم‌ها و میکروارگانیزم‌های دستگاه گوارش قرار می‌گیرد (۴). نقش اصلی عمل‌آوری علوفه‌های خشبی بهبود هضم‌پذیری کربوهیدرات‌های موجود در لیگنوسلولز است که با شکستن پیوند لیگنین-کربوهیدرات، تخریب اکسیداتیو فنل‌ها و یا هیدرولیز پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی به قندها انجام می‌شود (۵). تاکنون روش‌های مختلف عمل‌آوری علوفه‌های خشبی با قابلیت هضم کم مانند کاه گندم در جهت افزایش قابلیت هضم در دستگاه گوارش پیشنهاد شده است که می‌توان به عمل‌آوری‌های فیزیکی (۶)، شیمیایی (۷) و بیولوژیکی (۸) اشاره کرد. هر کدام از روش‌های مذکور دارای معایب و مزایایی می‌باشند. از جمله روش‌های فیزیکی از نوع غیرحرارتی که اخیراً مورد توجه قرار گرفته است، استفاده از پرتوهای

## مواد و روش‌ها

پرتوتابی و کار با حیوانات بنابر قوانین داخلی سازمان انرژی اتمی انجام شد.

## تهیه و آنالیز ماده مورد آزمایش

نمونه کاه از مزرعه پژوهشکده کشاورزی کرج تهیه شد و

این مطالعه در آزمایشگاه تغذیه دام پژوهشکده کشاورزی کرج (پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای) در اردیبهشت ماه ۱۴۰۲ انجام شد. پرتوتابی بیم الکترون نمونه‌های کاه گندم زیر نظر پژوهشکده پرتوهای کاربردی و در مرکز پرتو فرآیند انجام شد. کلیه پروتکل‌های لازم برای

های پلی استری مشبک به ابعاد  $6 \times 12$  سانتیمتر با اندازه منافذ زیر ۵۰ میکرون ریخته شد و کیسه ها به مدت صفر، ۶ و ۱۲ ساعت در شکمبه گوسفند انکوباسیون شد. حیوانات از یک جیره کاملاً مخلوط بر اساس جداول جدول انجمن تحقیقات ملی (۲۰۱۷) شامل ۶۰ درصد علوفه و ۴۰ درصد کنسانتره، دوبرار در روز (۸ صبح و ۳ بعد از ظهر) در سطح نگهداری در قبل و طی آزمایش، تغذیه شدند. قبل از شروع آزمایش، گوسفندان از این جیره به مدت ۱۰ روز برای عادت‌پذیری مصرف کردند. آب و سنگ نمک به طور آزاد در اختیار گوسفندان قرار داشت. شکمبه گذاری کیسه ها ۲ ساعت پس از خوراک دهی صبح انجام شد. تمام کیسه ها پس از خروج از شکمبه با آب سرد سه زمان ۵ دقیقه ای با ماشین لباسشویی شستشو شدند تا آب زلال از آنها خارج شد. کلیه مراحل انکوباسیون در شکمبه بنابر روش Nocek و همکاران انجام شد (۱۹).

#### تعیین فراوانی نسبی باکتری های فیبرولیتیک

از واکنش زنجیره پلیمرز (PCR) و الکتروفورز افقی برای تعیین فراوانی نسبی باکتری های فیبرولیتیک شامل فیروباکتر سوکسینوژنز، رومینوکوکوس آلبوس و رومینوکوکوس فلاوفسینس با روش Koike و Kobayashi استفاده شد (۲۰). برای این منظور ۳ گوسفند فیستوله دار به صورت چرخشی با کاه گندم پرتوتابی نشده و پرتوتابی شده در دوزهای مختلف به مدت ده روز تغذیه شدند. نمونه از محتویات شکمبه گرفته و محتویات جامد از بخش مایع جداسازی و باکتری‌ها از ذرات الیافی شسته شد. پس از استخراج DNA با استفاده از کیت تجاری، واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی 16S rDNA مربوط به هر یک از باکتری‌های مذکور انجام شد. پس از اتمام مراحل تکثیر قطعه DNA مورد نظر با واکنش PCR، حضور باکتری‌های مذکور در ذرات الیاف با الکتروفورز افقی مشخص شد. تعیین فراوانی نسبی باکتری‌های تجزیه کننده الیاف با استفاده از روش دنسیتومتری و نرم افزار Gel Proc Analyzer انجام شد.

ترکیبات شیمیایی آن به روش AOAC اندازه گیری شد (۱۶). ابتدا کاه همگن سازی شد و سه نمونه از بخش های مختلف آن تهیه شد. ماده خشک با قرار دادن نمونه در آون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس و خاکستر با قرار دادن نمونه در کوره الکتریکی با دمای ۵۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت، اندازه گیری شد. ترکیبات دیواره سلولی (NDF) و دیواره سلولی بدون همی سلولز (ADF) با استفاده از محلول دترژنت خنثی و اسیدی به روش ون سوست (۱۷) و با استفاده از دستگاه فایبر تک اندازه گیری شد. سه بار آزمایش ها برای هر نمونه تکرار شد تا دقت روش های آنالیز بررسی شود. مقادیر ترکیبات بین سه بار تکرار حداقل خطا را داشتند. تفاوت زیادی بین نمونه های اخذ شده از قسمت های مختلف کاه وجود نداشت و همگنی نمونه کاه گندم برای انجام پرتوتابی و سایر اندازه گیری ها مشخص شد.

#### پرتوتابی الکترون

کاه گندم با رطوبت ۷ درصد در کیسه های نابلونی به وزن ۱۰ کیلوگرم بسته بندی شد. در مرکز پرتو فرآیند یزد وابسته به سازمان انرژی اتمی ایران با استفاده از شتاب دهنده الکترون رودترون مدل TT220 پرتوتابی شد. قدرت پرتو الکترون ۱۰ مگا الکترون ولت و جریان باریکه الکترون ۶ میلی آمپر با دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ کیلوگری نمونه های کاه گندم پرتوتابی بیم الکترون شد. روش پرتوتابی به صورت یک طرفه بود. برای تأمین دوزهای مورد نیاز، نمونه‌ها چند بار در معرض پرتوهای الکترون قرار گرفت. به منظور دقت در دوز داده شده به نمونه‌ها، اندازه‌گیری دوز با استفاده از کالری‌متر پلی-استایرن که یک دوزیمتر مرجع است، صورت گرفت (۱۸).

#### انکوباسیون کاه گندم پرتوتابی نشده و شده در شکمبه

برای این پژوهش، از چهار رأس گوسفند نر بالغ مجهز به فیستولای شکمبه، که در اتاق متابولیکی پژوهشکده کشاورزی کرج نگهداری می‌شدند، استفاده شد. مقدار ۵ گرم نمونه کاه گندم پرتوتابی شده و نشده درون کیسه

### آزمایشات قابلیت هضم

در طرح کاملا تصادفی تعداد ۱۲ رأس گوسفند نر بالغ با میانگین وزن ۵۹ کیلوگرم در قفس‌های متابولیکی به منظور تعیین قابلیت هضم ماده خشک و دیواره سلولی بنابر روش Torrent و همکاران قرار داده شد (۲۱). دام‌ها به‌منظور تخلیه کامل دستگاه گوارش از خوراک قبلی و عادت به شرایط آزمایش، خوراک مورد آزمایش و محیط جدید به مدت یک هفته در داخل قفس‌ها نگهداری شدند. دوره پیش آزمایش به مدت ۱۰ روز به‌منظور تنظیم مقدار جیره غذایی مصرفی (به‌مقدار ۱ کیلوگرم ماده خشک در روز) و عادت پذیری به جیره جدید انجام شد. در این مرحله گوسفندها فقط با کاه گندم مورد آزمایش (مخلوطی از کاه گندم پرتوتابی شده و نشده) تغذیه شد. حیوانات آزادانه به آب و بلوک‌های نمک و مواد معدنی دسترسی داشتند. مرحله اصلی آزمایش که یک هفته برای هر نوع کاه (پرتوتابی شده و نشده) به طول انجامید شامل اندازه‌گیری خوراک مصرفی و جمع‌آوری کل مدفوع هر گوسفند بود. در این مرحله مقدار خوراک مصرفی حیوان با توجه به مقادیر ارائه شده و باقیمانده تعیین شد. در ابتدا و انتهای دوره آزمایش از خوراک مصرفی روزانه و باقیمانده خوراک هر دام جهت انجام آنالیز شیمیایی نمونه برداری شد. مدفوع هر دام به‌طور روزانه جمع‌آوری، توزین و برای انجام آنالیز شیمیایی نمونه برداری شد. اندازه‌گیری ماده خشک و الیاف

نامحلول در شوینده خنثی نمونه‌های مدفوع و مواد خشبی مورد مطالعه شامل کاه گندم پرتوتابی نشده و پرتوتابی شده انجام شد.

### مشاهدات میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)

مشاهدات میکروسکوپ الکترونی در آزمایشگاه فیزیک واحد علوم و تحقیقات تهران انجام شد. با میکروسکوپ الکترونی نگاره می‌توان سطح ذرات ریز را به وسیله اسکن برداری با باریکه الکترونی و اندازه‌گیری انعکاس مشاهده کرد. در واقع با میکروسکوپ الکترونی نگاره سطح اجسام مورد مطالعه قرار می‌گیرد و با آن می‌توان تصویری سه بعدی از سطح نمونه فراهم کرد. سه نمونه از کاه گندم قبل و بعد از پرتوتابی بیم الکترون در دوزهای مختلف و همچنین سه نمونه قبل و بعد از آنکوباسیون در کیسه‌های پلی استری که درون شکمبه گوسفند قرار داده شده بود مورد آنالیز میکروسکوپ الکترونی نگاره به روش Alwani و همکاران قرار گرفت (۲۲).

### آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC) در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. برای ارزیابی نرمال بودن داده‌ها قبل از آنالیز واریانس از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها بین همه گروه‌های آزمایشی با استفاده از آزمون توکی با سطح احتمال ۵ درصد انجام شد (۲۳).

### نتایج

پرتوتابی بیم الکترون، مقدار دیواره سلولی کاهش یافت. در نمونه‌های DNA یک باند اختصاصی ۲۰۰bp مربوط به باکتری رومینوکوکوس آلبوس، یک باند اختصاصی ۴۵۰bp مربوط به باکتری فیروباکترسوکسینونز و یک باند اختصاصی ۸۰۰bp مربوط به باکتری رومینوکوکوس فلاوفسینس به‌دست آمد.

نتایج مربوط به تعیین ترکیبات شیمیایی کاه گندم قبل و بعد از پرتوتابی در جدول ۱ گزارش شده است. پرتوتابی اثر معنی داری ( $P < 0.05$ ) بر مقدار ماده خشک، پروتئین خام، عصاره اتری و خاکستر نداشت. مقدار دیواره سلولی کاه گندم پرتوتابی شده با دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ کیلوگری کاهش معنی داری ( $P < 0.05$ ) نشان داد. با افزایش دز

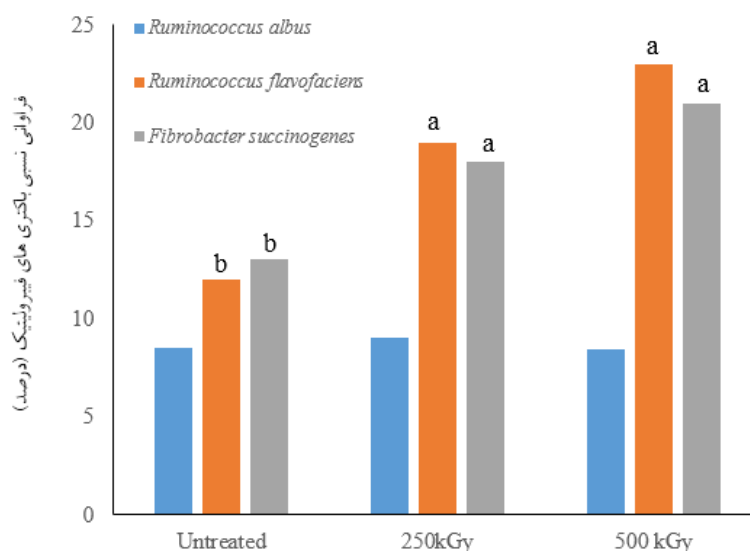
جدول ۱: ترکیبات شیمیایی کاه گندم خام و پرتوتابی شده (درصد ماده خشک)

دیواره سلولی	ماده خشک	خاکستر خام	پروتئین خام	عصاره اتری	دیواره سلولی
پرتوتابی نشده	۰/۹۳	۷/۸	۶/۳	۶/۲	۳/۴۷ <sup>a</sup>
۲۵۰ کیلوگری	۲/۹۳	۵/۸	۴/۳	۸/۲	۹/۴۴ <sup>b</sup>
۵۰۰ کیلوگری	۱/۹۳	۴/۸	۲/۳	۶/۲	۳/۴۱ <sup>c</sup>

درج حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی دار ( $P < 0.05$ ) است.

باکتری رومینوکوکوس آلبوس بی تأثیر بود. فراوانی نسبی باکتری‌های فیبرولیتیک در زمان انکوباسیون ۶ ساعت به بعد تفاوتی نداشت ( $P > 0.05$ ). بنابراین زمان انکوباسیون ۳ ساعت جهت مقایسه اثرات پرتوتابی در نظر گرفته شد. اثر پرتوتابی بر فراوانی نسبی باکتری‌های فیبرولیتیک در شکل ۱ نشان داده شده است. پرتوتابی تأثیری بر فراوانی نسبی باکتری رومینوکوکوس آلبوس در زمان انکوباسیون ۳ ساعت نداشت، ولی فراوانی رومینوکوکوس فلاوفاسینس و فیبروباکتر سوکسینوژنز افزایش معنی داری با پرتوتابی نشان داد ( $P < 0.05$ )

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز اختصاصی بهینه شده. این باکتری‌ها را در زمان ۱ و ۲ ساعت تشخیص نداد ولی از زمان ۳ ساعت به وضوح قابل مشاهده بود. استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز با استفاده از پرایمر اختصاصی تأثیر پرتوتابی بر اتصال باکتری‌های فیبروباکتر سوکسینوژنز و رومینوکوکوس فلاوسینس در زمان انکوباسیون ۳ ساعت را نشان داد. اتصال باکتری رومینوکوکوس فلاوفاسینس به ذرات پرتوتابی نشده، مشاهده نشد ولی با افزایش دوز پرتوتابی از ۲۵۰ به ۵۰۰ کیلوگری اتصال باکتری افزایش یافت. پرتوتابی بر اتصال



شکل ۱: فراوانی نسبی باکتری‌های فیبرولیتیک در محتویات شکمبه گوسفند تغذیه شده با کاه گندم پرتوتابی نشده و پرتوتابی شده

### قابلیت هضم درون تنی کاه گندم

هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاه گندم شد ( $P < 0.05$ ) و با افزایش دوز پرتوتابی این افزایش بیشتر بود به نحوی که دوز ۵۰۰ کیلوگری

نتایج قابلیت هضم ماده خشک کاه گندم قبل و بعد از پرتوتابی در کل دستگاه گوارش گوسفند در جدول ۲ گزارش شده است. پرتوتابی الکترون سبب افزایش قابلیت

جدول ۲: قابلیت هضم ماده خشک کاه گندم پرتوتایی نشده و پرتوتایی شده (درصد)

دوزهای پرتوتایی	ماده خشک	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
کاه گندم عمل آوری نشده	۹/۲۸ <sup>c</sup>	۷/۲۴ <sup>c</sup>
۲۵۰ کیلوگری	۷/۳۶ <sup>b</sup>	۰/۳۲ <sup>b</sup>
۵۰۰ کیلوگری	۲/۴۲ <sup>a</sup>	۳/۳۶ <sup>a</sup>

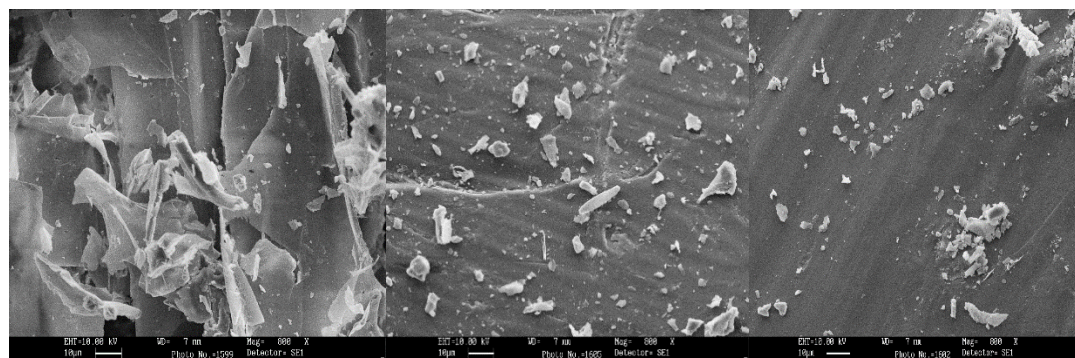
درج حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی دار ( $P < 0.05$ ) است.

گندم که ناشی از پرتوتایی در دوز ۲۵۰ کیلوگری دیده شد. در این تصویر ذرات خرد شده با اشکال هندسی نامنظم که در اثر افزایش دوز پرتوتایی حاصل شده دیده شد به طوری که هنوز دیواره سلولی دارای انسجام و یکنواختی است. تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره کاه گندم پرتوتایی شده با دوز ۵۰۰ کیلوگری چین خوردگی و شکاف‌های عمیق با شکستگی‌های بی‌نظم دیواره سلولی که به صورت لایه لایه با لبه‌های تیز را نشان داد و انسجام بافتی تقریباً از بین رفته است. در این سه تصویر به دلیل اینکه کاه در شکمبه انکوباسیون نشد هیچ میکروارگانیسمی دیده نشد. شکل ۳ تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره کاه گندم عمل آوری نشده در زمان‌های ۶ و ۱۲ انکو باسیون در شکمبه را نشان می‌دهد. تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره کاه گندم عمل آوری نشده ۶ ساعت پس از انکوباسیون در شکمبه سطح ناهموار با چین و چروکیدگی، شکستگی‌ها با شکاف نامنظم که در برخی نواحی به صورت حفره دیده می‌شود را نشان داد.

بیشترین تأثیر را در افزایش قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاه گندم داشت.

### کاه گندم

در شکل ۲ تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره کاه گندم پرتوتایی شده با دوزهای مختلف قبل از انکوباسیون با بزرگنمایی ۸۰۰ برابری نشان داده شده است. تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره کاه گندم پرتوتایی نشده نشان داد که ذرات کاه دارای سطح صاف، بدون چین-خوردگی، حفره و شکاف است و با لایه مومی و کوتیکولی که دارای خاصیت آبرگریزی است پوشش داده شده است. کریستال‌های مومی شکل به صورت صفحه‌ای و میله‌ای دیده شد. تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره کاه گندم پرتوتایی شده با دوز ۲۵۰ کیلوگری نشان داد که بر روی قسمت‌های سطحی دیواره سلولی ذرات کاه، چین خوردگی و شکاف ایجاد شده است و افزایش ذرات شکسته، خرد شده و چسبیده به لایه مومی شکل اپیدرم (کوتیکول) کاه

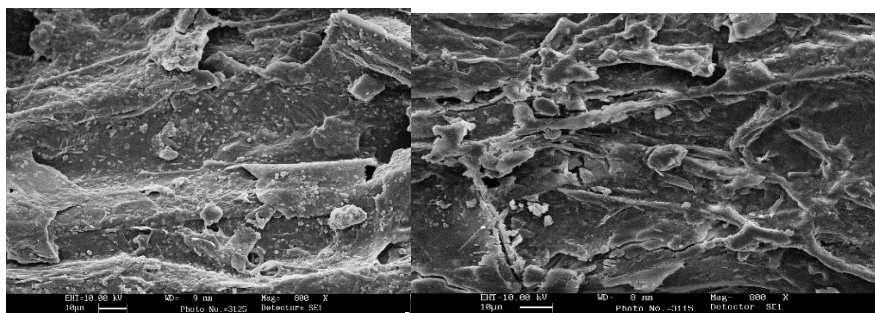


گندم پرتوتایی نشده      گندم پرتوتایی با دز ۲۵۰      گندم پرتوتایی با دز ۵۰۰

شکل ۲: تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره کاه گندم قبل (شاهد) و بعد از پرتوتایی به ترتیب با دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ کیلوگری

انکوباسیون انسجام دیواره سلولی به هم ریخته و چین خوردگی خشن با حفرات فراوان ایجاد شده است. حفرات تا عمق دیواره ثانویه پیش رفته که ناشی از هجوم گروهی باکتری‌های فیبرولیتیک است. حفرات ایجاد شده ناشی از حذف یا کاهش مقدار همی سلولز و سلولز و فاصله گرفتن آن‌ها از لیگنین است.

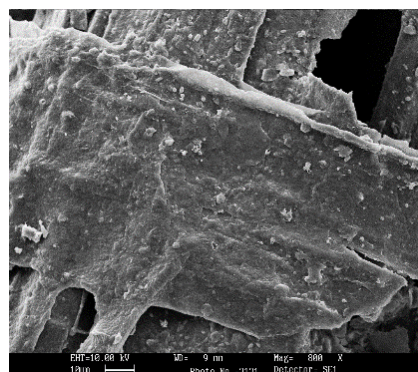
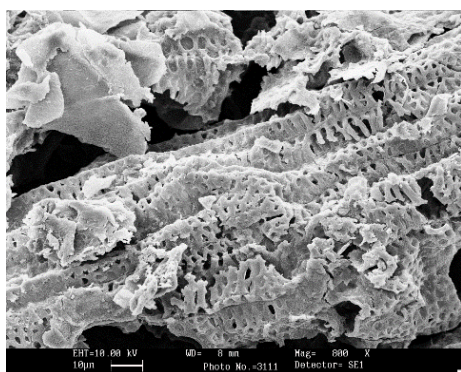
این حفرات در اثر حذف ترکیبات آلی و غیر سلولزی ناشی از ۶ ساعت انکوباسیون حاصل شده است. تخریب قسمت سطحی دیواره سلولی در اثر هجوم باکتری‌های فیبرولیتیک ناشی از انکوباسیون حاصل شده که اکثراً از نوع کوکسی‌ها بوده است. تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره کاه گندم عمل آوری نشده ۱۲ ساعت پس از انکوباسیون در شکمبه نشان می‌دهد که با افزایش زمان



شکل ۳: تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره کاه گندم پرتوتایی نشده با ۶ (راست) و ۱۲ (چپ) ساعت انکوباسیون شده در شکمبه

(تصویر سمت چپ) سبب متخلخل و نفوذپذیر شدن دیواره سلولی، تخلیه سلولز، همی سلولز و تا حدودی لیگنین شده و دیواره نازک شده و عمق آن قابل رویت است. لایه‌های سلولی اپیدرم بسیار نازک و شکننده و در مجموع دیواره باقیمانده به صورت کریستالی و شش وجهی (شبه شان زنبور عسل) شده است. تعداد محدودی میکروب در سطح دیده شد و بیشتر میکروب‌ها به عمق دیواره نفوذ کرده‌اند.

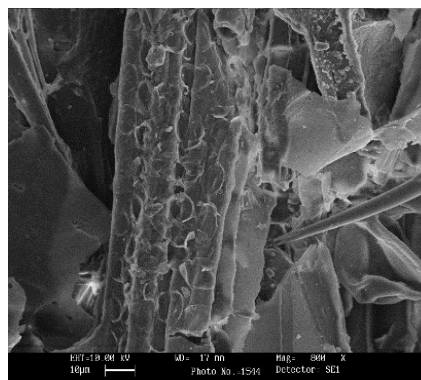
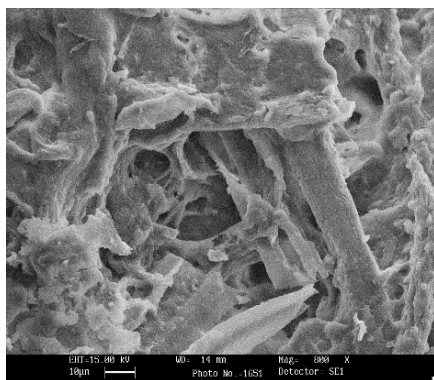
شکل ۴ تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره کاه گندم پرتوتایی شده با دوز ۲۵۰ کیلوگری در زمان‌های مختلف انکوباسیون را نشان می‌دهد. تصویر سمت راست نشان دهنده این است که پرتوتایی و انکوباسیون به مدت ۶ ساعت سبب افزایش شکستگی و نازک شدن لایه مومی و کوتیکول دیواره سلولی شده است. ضمناً غیر یکنواختی گسترده لایه‌های سطحی دیواره سلولی کاه و پراکندگی-های باکتری‌های فیبرولیتیک و نفوذ آنها به عمق دیواره مشاهده شد. افزایش زمان انکوباسیون به ۱۲ ساعت



شکل ۴: تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره کاه گندم پرتوتایی شده با دوز ۲۵۰ کیلوگری با ۶ (راست) و ۱۲ (چپ) ساعت انکوباسیون شده در شکمبه



ساختار دیواره سلولی باقیمانده و لایه درونی کاملاً نمایان است. تصویر سمت راست نشان داد که بعد از ۱۲ ساعت انکوباسیون کل دیواره سلولی ناپدید و هضم شده است. با افزایش دوز پرتوتابی بیم الکترون ناپدید شدن دیواره سلولی کاه گندم افزایش یافت.



شکل ۵ تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره کاه گندم پرتوتابی شده با دوز ۵۰۰ کیلوگری و انکوباسیون شده ۶ و ۱۲ ساعت در شکمبه را نشان می‌دهد. تصویر سمت راست کاه گندم پرتوتابی شده با دوز ۵۰۰ کیلوگری و ساعت انکوباسیون در شکمبه نشان داد که بخش کمی از

شکل ۵: تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره کاه گندم پرتوتابی شده با دوز ۵۰۰ کیلوگری با ۶ (راست) و ۱۲ (چپ) ساعت انکوباسیون در شکمبه

## بحث

شدن این ترکیبات و تبدیل آن‌ها به مولکول‌هایی با وزن مولکولی کمتر می‌شوند (۲۵). نتایج قابلیت هضم ماده خشک مواد خشبی مورد مطالعه قبل و بعد از پرتوتابی نشان داد که عمل‌آوری با دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ کیلوگری پرتو الکترون قابلیت هضم کاه گندم را به ترتیب ۲۶ و ۴۶ درصد افزایش داده است. مقایسه دوزهای مختلف پرتوتابی الکترون نشان داد که با افزایش دوز پرتوتابی قابلیت هضم ماده خشک افزایش می‌یابد و دوز ۵۰۰ کیلوگری بیشترین تأثیر را در این افزایش دارد. پرتو الکترون با شکستن پیوند بین همی سلولز و سلولز، همچنین پیوندهای بین این دو پلیمر با لیگنین در دیواره سلولی سبب افزایش تجزیه پذیری در شکمبه و بنابراین افزایش قابلیت هضم ماده خشک و دیواره سلولی در کل دستگاه گوارش شده است (۲۶). بنابر گزارش Al-Masri بر اثر

عمل‌آوری با پرتو الکترون به جز دیواره سلولی اثر معنی‌داری بر سایر ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی نداشت. پرتوتابی سبب کاهش مقدار دیواره سلولی مواد خشبی مورد مطالعه شد. نتایج پژوهش‌های دیگر نشان داد که پرتوتابی بیم الکترون سبب کاهش مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی می‌شود (۲۴، ۱۵). اثر پرتو الکترون بر مواد لیگنوسولزی شامل شکستن پیوندهای غیرکوالانسی و همچنین پیوندهای کوالانسی بین سلولز و لیگنین است که در نهایت این مواد نامحلول را تبدیل به ترکیباتی محلول با وزن مولکولی کمتر می‌کند (۹). بر اثر برخورد پرتو الکترون با مواد پلیمری، پیوندهای غیرکوالانسی به دلیل گرفتن انرژی لازم سست شده و شکسته می‌شوند. در دوزهای بالاتر، این پرتو با دادن انرژی بیشتر به پیوندهای کوالانسی، سبب دپلمریزه

واحد‌های گلوکز تشکیل شده و فقط دارای پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی و داخل مولکولی است. بنابراین، اثر پرتوتابی یون‌ساز بر سلولز بیشتر از همی‌سلولز است (۴). بررسی میکروسکوپ الکترونی کاه گندم نشان داد که دیواره سلولی کاه گندم دارای یک کمپلکس ساختاری از چندین بافت و اندام‌های مختلف درون سلولی است که این ساختار شامل سلول‌های پارانشیم، اسکلرانسیم، مزوفیل، دسته‌های آوندی مجتمع شده در سلول‌های پارانشیمی و عناصر آوندی در بخش داخلی است. لایه میانی کاه گندم به وسیله حفره‌ای پوشانده شده است. قسمت خارجی آن شامل اپیدرم، فلوم و سلول‌های الیافی است. قسمت خارجی کاه (اپیدرم) حاوی موم و مواد غیر آلی در سطح است. ساقه ماشوره‌ای کاه گندم قبل از عمل‌آوری بوسیله غلاف برگ‌ها پوشیده شده که در اثر پرتوتابی از هم مجزا می‌شود (۳۱). تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان داد که دیواره سلولی اولیه دارای پوشش حفره‌ای است. این حفرات در دیواره اولیه سلولی دارای میکروفیبریل‌های در هم آمیخته سلولزی با اتصالات عرضی است که تا حدودی توسط پلیمرهای غیر سلولزی پوشیده شده است. تجزیه و تحلیل لایه سطحی کاه گندم با میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان می‌دهد که فراساختار پیچیده و الگوهای سطحی این فراساختار مربوط به لایه‌های مومی‌پیدرم، املاح معدنی و لایه‌های سطحی الیاف کاه است که این الگو مربوط به آبگریزی و مومی بودن کاه می‌باشد (۳۱). کاهش اندازه فیزیکی کاه (خرد شدن) می‌تواند منجر به تجزیه‌پذیری سطح الیاف کاه توسط باکتری‌های فیبرولیتیک شود (۳۲). در برش عرضی بخش داخلی ساقه کاه گندم دارای یک ساختار لانه زنبوری است که این ساختار تحت تأثیر فرایندهای پرتوتابی قرار گرفته و منجر به نازک شدن جداره داخلی و لایه نرم میانی شده و در برخی مواقع ذرات ریز ناشی از شکستگی‌ها بر روی دیواره سلولی دیده می‌شود. ساقه گندم به طور میانگین دارای ۶ گره (بند) و فاصله بین دو گره را میان گره گویند که بوسیله غلاف برگ‌ها پوشیده

پرتوتابی لیگنین زدایی، وابسپارش و شکستن پیوندهای کوالانسی و تغییر در ساختار سلولز کریستالی روی می‌دهد که نتیجه نهایی آن قابلیت حل شدن ترکیبات دیواره سلولی است (۲۷). بنابراین سلولز نامحلول بر اثر پرتوتابی محلول شده و از بخش غیرقابل تجزیه و کند وارد بخش سریع تجزیه شده است. Alberti و همکاران گزارش کردند پرتو الکترون، پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی را به واحدهای آرابینوز، زایلوز، گلوکز، گالاکتوز و مانوز، ۶-داکسی هگزوز و رامنوز و فوکوز، گلوکو و گالاکتوبورونیک اسید تبدیل می‌کند که این ترکیبات پس از آزاد شدن در شکمبه تخمیر می‌شوند (۲۸). پرتوتابی موجب آسیب فیزیکی و تجزیه لیگنین دیواره سلولی می‌شود، زیرا لیگنین به‌عنوان ماده اتصال دهنده میکروفیبریل‌های سلولز است. پرتوتابی موجب شکاف این ترکیب شده و به دنبال آن سلولز نیز در معرض تجزیه قرار می‌گیرد (۲۶). همچنین Zarkawi و Al-Masri گزارش کردند که یکی دیگر از دلایل افزایش تجزیه‌پذیری دیواره سلولی نمونه‌های پرتوتابی شده، شکستن اتصالات استری همی‌سلولزی با اجزای فنولی می‌باشد (۲۹). زیرا در گیاهان تیره گندمیان، لیگنین از طریق عوامل پ-کوماریک اسید و فرولیک اسید دارای پیوند استری با آرابینوزایلان‌ها می‌باشد. پرتوتابی الکترون موجب شکسته شدن اتصالات استری همی-سلولزی (آرابینوزایلان‌ها) با اجزای فنولی شده، به‌طوری که تولید مقادیر فرولیک و کوماریک اسید و در نتیجه تجزیه‌پذیری دیواره سلولی افزایش پیدا می‌کند (۳۰، ۹). Zarkawi و Al-Masri گزارش کردند که تأثیر پرتوتابی بر اتصالات استری همی‌سلولزی کمتر از پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی و بین مولکولی سلولز می‌باشد (۲۹). پرتوهای یون‌ساز بر پیوندهای هیدروژنی بین زنجیره‌ای و پیوندهای گلیکوزیدی داخل مولکولی سلولز مؤثر می‌باشند و اثر آن‌ها بر اتصالات دیگر اندک است (۳۰). همی‌سلولز یک هتروگلیکان است که دارای ترکیبات متعددی به‌جز گلوکز و همچنین دارای پیوندهای متعددی است. سلولز یک هوموگلیکان است که از

برای رسیدن به چنین اهدافی نیاز به آگاهی از وضعیت دیواره سلولی به ویژه کاهش میزان همی سلولز و سلولز کریستاله و همچنین تغییرات در خصوصیات فیزیکوشیمیای و لایه‌های سطحی کاه گندم می‌باشد. گزارش دادند دوزهای بالاتر از ۲۰۰ کیلوگری پرتو گاما، سبب کاهش تجزیه پذیری ماده خشک و بخش الیافی مواد خشبی می‌شود (۳۳). بنابر نتایج میکروسکوپ الکترونی نگاره، افزایش دوز بیم الکترون سبب تخریب بیشتر ساختارهای دیواره سلولی و افزایش نفوذپذیری باکتری‌های فیبرولیتیک در بخش‌های درونی ساختار مواد خشبی می‌شود. افزایش نفوذپذیری باکتری‌های هضم کننده الیاف در نهایت سبب افزایش دسترسی به سوبسترا و افزایش فراوانی نسبی باکتری‌ها و هضم بهتر الیاف می‌شود.

شده است (۳۱). این گره‌ها دارای قابلیت هضم کمی هستند. هدف اصلی پرتوتابی، ایجاد شکستگی در ساقه‌ها، گره‌ها و کاهش محتوی لیگنین مواد خشبی است تا سبب تجزیه پذیری بیشتر سلولز و همی سلولز ساقه گندم شود. لیگنین موجود در کاه گندم دارای ساختار پیچیده سه بعدی متشکل از ترکیبات پلی فنولیک بوده که این ساختار پیچیده و مستحکم پلیمرهای سلولز و همی سلولز را از تجزیه شدن به وسیله آنزیم‌های میکروبی حفظ می‌کند. علاوه بر این، به خاطر ویژگی‌های هتروپلیمر آمورف لیگنین در آب نامحلول و از نظر نوری غیر فعال و تخریب آن دشوار است (۴). در پژوهش کنونی، افزایش دوز بیم الکترون از ۲۵۰ به ۵۰۰ کیلوگری سبب کاهش مقدار دیواره سلولی قابل اندازه گیری شد و در کل دستگاه گوارش هضم پذیری ماده خشک را افزایش داد. این یافته برخلاف گزارش Shahbazi و همکاران می‌باشد که

### نتیجه گیری

بنابر نتایج این پژوهش پرتوتابی بیم الکترون در دوز ۲۵۰ کیلوگری می‌تواند سبب تغییر ساختار دیواره سلولی و بهبود هضم پذیری کاه گندم شود. افزایش دوز به ۵۰۰ کیلوگری سبب بیشتر شدن به هم ریختگی ساختار دیواره سلولی، افزایش فراوانی نسبی باکتری‌های فیبرولیتیک و افزایش هضم پذیری کاه گندم می‌شود.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله عنوان می‌کنند که هیچ تعارضی وجود ندارد.

### تعارض منافع

از معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات به جهت تصویب و در اختیار قراردادن امکانات آزمایشگاه رازی برای انجام این تحقیق کمال تشکر را داریم. از مسئولین محترم پژوهشکده کشاورزی کرج به جهت راهنمایی‌های ارزنده و مساعدت در تامین مواد و امکانات فارمی و آنالیز نمونه‌ها قدردانی می‌شود. این مقاله مستخرج از رساله دانشجوی دوره دکتری تخصصی واحد علوم و تحقیقات (آقای حسین زادگی-میرزائی) می‌باشد.

## Reference

- Hendriks AT, Zeeman G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology*. 2009; 100(1):10-8.
- Guo W, Guo XJ, Xu LN, Shao LW, Zhu BC, Liu H, Wang YJ, Gao KY. Effect of whole-plant corn silage treated with lignocellulose-degrading bacteria on growth performance, rumen fermentation, and rumen microflora in sheep. *Animal*. 2022; 16(7):100576.
- Houfani AA, Anders N, Spiess AC, Baldrian P, Benallaoua S. Insights from enzymatic degradation of cellulose and hemicellulose to fermentable sugars—a review. *Biomass and Bioenergy*. 2020; 134:105481.
- Weng C, Peng X, Han Y. Depolymerization and conversion of lignin to value-added bioproducts by microbial and enzymatic catalysis. *Biotechnology for Biofuels*. 2021; 14(1):1-22.
- Ginting SP. Processing technologies of lignocellulosic biomass: potentials and constraints for ruminant feed production. *WARTAZOA. Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences*. 2021; 31(2):55-66.
- Gallego-García M, Moreno AD, Manzanares P, Negro MJ, Duque A. Recent advances on physical technologies for the pretreatment of food waste and lignocellulosic residues. *Bioresource Technology*. 2023; 369:128397.
- Østby H, Hansen LD, Horn SJ, Eijsink VG, Várnai A. Enzymatic processing of lignocellulosic biomass: principles, recent advances and perspectives. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology: Official Journal of the Society for Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2020; 47(9-10):623-57.
- Van Kuijk SJ, Sonnenberg AS, Baars JJ, Hendriks WH, Cone JW. Fungal treated lignocellulosic biomass as ruminant feed ingredient: a review. *Biotechnology advances*. 2015; 33(1):191-202.
- Bak JS. Electron beam irradiation enhances the digestibility and fermentation yield of water-soaked lignocellulosic biomass. *Biotechnology Reports*. 2014; 4:30-3.
- Gryczka U, Migdal W, Chmielewska D, Antoniak M, Kaszuwara W, Jastrzebska A, Olszyna A. Examination of changes in the morphology of lignocellulosic fibers treated with e-beam irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*. 2014; 94:226-30.
- Shawrang P, Majdabadi A, Sadeghi AA. Changes in cell wall compositions and degradation kinetics of electron beam-irradiated sugarcane bagasse. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 2012; 36(5):527-32.
- Kim DY, Lee BM, Lee JY, Kang PH, Jeun JP. Electron beam irradiation and dilute alkali pretreatment for improving saccharification of rice straw. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 2014; 57:591-5.
- Fei X, Jia W, Wang J, Chen T, Ling Y. Study on enzymatic hydrolysis efficiency and physicochemical properties of cellulose and lignocellulose after pretreatment with electron beam irradiation. *International journal of biological macromolecules*. 2020; 145:733-9.
- Inkson BJ. Scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) for materials characterization. *In Materials characterization using nondestructive evaluation (NDE) methods 2016*; (pp. 17-43). Woodhead publishing.
- Shawrang P, Sadeghi AA, Ahmadpanah J. Ruminant degradation kinetics of wheat straw irradiated by high doses of electron beam. *Iranian Journal of Applied Animal Science*. 2013; 3(1): 25-29.
- AOAC. Official Methods of Analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. USA. 2005.
- Van Soest PV, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of dairy science*. 1991; 74(10):3583-97.
- Kase KR, Adler GJ, Bjärngard BE. Comparisons of electron beam dose measurements in water and polystyrene using various dosimeters. *Medical Physics*. 1982; 9(1):13-9.
- Nocek JE, English JE. In situ degradation kinetics: Evaluation of rate determination procedure. *Journal of Dairy Science*. 1986; 69(1):77-87.
- Koike S, Kobayashi Y. Development and use of competitive PCR assays for the rumen cellulolytic bacteria: *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* and

- Ruminococcus flavefaciens. FEMS microbiology letters. 2001; 204(2):361-6.
21. Torrent J, Johnson DE, Kujawa MA. Co-product fiber digestibility: kinetic and in vivo assessment. Journal of Animal Science. 1994; 72(3):790-5.
  22. Alwani MS, Khalil HA, Islam N, Sulaiman O, Zaidon A, Dungani R. Microstructural study, tensile properties, and scanning electron microscopy fractography failure analysis of various agricultural residue fibers. Journal of Natural Fibers. 2015; 12(2):154-68.
  23. Steel RG, Torrie JH. Principles and procedures of statistics: a biometrical approach. New York, NY, USA: McGraw-Hill; 1986.
  24. Tabatabaie N, Fathi Nasri MH, Farhangfar H, Riasi A. Effect of electron-beam irradiation on nutritional value of Atriplex stem. Journal of Livestock Research. 2014; 2(2):19-28.
  25. Leskinen T, Kelley SS, Argyropoulos DS. E-beam irradiation & steam explosion as biomass pretreatment, and the complex role of lignin in substrate recalcitrance. Biomass and Bioenergy. 2017; 103:21-8.
  26. Takacs E, Wojnarovits L, Földvály C, Hargittai P, Borsa J, Sajo I. Effect of combined gamma-irradiation and alkali treatment on cotton-cellulose. Radiation Physics and Chemistry. 2000; 57(3-6):399-403.
  27. Al-Masri MR. In vitro digestible energy of some agricultural residues, as influenced by gamma irradiation and sodium hydroxide. Applied Radiation and Isotopes. 1999; 50(2):295-301.
  28. Alberti A, Bertini S, Gastaldi G, Iannaccone N, Macciantelli D, Torri G, Vismara E. Electron beam irradiated textile cellulose fibres.: ESR studies and derivatisation with glycidyl methacrylate (GMA). European Polymer Journal. 2005; 41(8):1787-97.
  29. Al-Masri MR, Zarkawi M. Effects of gamma irradiation on chemical compositions of some agricultural residues. Radiation Physics and Chemistry. 1994; 43(3):257-60.
  30. Dubey KA, Pujari PK, Ramnani SP, Kadam RM, Sabharwal S. Microstructural studies of electron beam-irradiated cellulose pulp. Radiation Physics and Chemistry. 2004; 69(5):395-400.
  31. Zhang L, Larsson A, Moldin A, Edlund U. Comparison of lignin distribution, structure, and morphology in wheat straw and wood. Industrial Crops and Products. 2022; 187:115432.
  32. Angers DA, Recous S. Decomposition of wheat straw and rye residues as affected by particle size. Plant and soil. 1997; 189:197-203.
  33. Shahbazi HR, Sadeghi AA, Fazaeli H, Raisali G, Chamani M, Shawrang P. Effects of electron beam irradiation on dry matter degradation of wheat straw in the rumen. Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS. 2008; 11(4):676-9.