

CƠ CHẾ, PHƯƠNG PHÁP VÀ MÔ HÌNH ĐỂ THAY ĐỔI VIỆC SỬ DỤNG THÀNH TẾ BÀO THỨC ĂN THÔ XANH CHO ĐỘNG VẬT NHAI LẠI

Nguyễn Văn Quang (Sưu tầm)

TÓM TẮT

Một số động vật nhai lại hầu như chỉ dựa vào ma trận polysaccharit phức tạp từ thành tế bào thực vật (CW) làm nguồn năng lượng chính của chúng thông qua các axit béo dễ bay hơi được tạo ra thông qua quá trình lên men dạ cỏ và một số quá trình lên men ở ruột sau. CW chứa các loại và tỷ lệ khác nhau của polysaccharide, protein, hợp chất phenolic và khoáng chất trong cấu trúc cao phân tử của chúng ảnh hưởng đến tốc độ và mức độ tiêu hóa chất xơ cũng như khả năng lưu giữ có chọn lọc các hạt vật chất có đặc tính vật lý của nó (độ nổi và nghiền nhỏ) trong lưới. Sự hình thành sinh tổng hợp của CW quyết định các cơ chế thao tác có thể (chọn lọc thực vật và vi khuẩn mục tiêu) và các phương pháp chế biến (xử lý vật lý, hóa học, vi sinh vật và enzyme và sử dụng vi khuẩn biến đổi gen) để tăng khả năng tiêu hóa của nó, dẫn đến việc sử dụng CW tốt hơn bởi động vật nhai lại và hy vọng làm giảm sự góp phần phát thải khí nhà kính của động vật nhai lại. Các nghiên cứu ban đầu về sinh tổng hợp lignin đã dẫn đến các nghiên cứu tiên tiến hơn tập trung vào việc thay thế các monolignols truyền thống bằng các homopolyme dễ phân hủy hoặc phân hủy hơn. Đồng thời, các phương pháp trong phòng thí nghiệm phải được phát triển, đánh giá và sửa đổi để phản ánh chính xác khả năng tiêu hóa và giá trị dinh dưỡng của CW do cơ chế thao tác hoặc phương pháp chế biến hiện đại mang lại. Tuy nhiên, các phương pháp trong phòng thí nghiệm cũng phải đáng tin cậy, chính xác, khả thi, đơn giản, dễ thực hiện và tiết kiệm chi phí nhưng đồng thời thân thiện với môi trường và có ý thức. Ví dụ, mặc dù chất tẩy axit lignin đã được chứng minh là hoạt động đồng nhất như một thực thể dinh dưỡng, việc xác định hóa học và sự liên kết của nó với carbohydrate vẫn thiếu sự đồng thuận. Kỹ thuật quang phổ (hồng ngoại gần và Raman) và kỹ thuật sản xuất khí trong ống nghiệm đã được áp dụng để đánh giá thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng của thực vật, nhưng vẫn chưa hiểu đầy đủ về tác động gây ra do gián đoạn CW trong quá trình xử lý mẫu. Các biến thể khác nhau của các mô hình toán học đa ngăn và phụ thuộc vào thời gian và độ tuổi đã được đề xuất để xác định tốc độ phân hủy và di chuyển của chất xơ trong dạ cỏ. Tuy nhiên, dữ liệu chất lượng thấp và không đầy đủ do kết quả đánh dấu không nhất quán được sử dụng để xác định tốc độ di chuyển và thời gian vận chuyển của chất xơ trong đường tiêu hóa đã cản trở những tiến bộ và việc áp dụng thể hệ mô hình máy tính tiếp theo để hiểu sự thoái hóa của chất xơ dạ cỏ.

Từ khóa: *Đánh giá, thành phần, chất xơ, mô hình, giá trị dinh dưỡng, dự đoán*

GIỚI THIỆU

Các nguyên tắc cơ bản của việc cải thiện việc sử dụng thành tế bào thức ăn thô xanh (CW) của động vật nhai lại bằng cơ chế di truyền và môi trường (Buxton và Casler, 1993; Iiyama và cs., 1993) hoặc xử lý sau thu hoạch (Fahey và cs., 1993) và phát triển các phương pháp để hiểu và đánh giá hiệu quả của chúng đối với khả năng tiêu hóa chất xơ (Chesson, 1993; Kennedy và Doyle, 1993; Mertens, 1993; Van Soest, 1993) đã được thảo luận trong một hội nghị chuyên đề năm 1991 và sau đó được ghi lại (Jung và cs., 1993). Chất xơ đã và đang tiếp tục là một thành phần thiết yếu trong bất kỳ hệ thống sản xuất động vật nhai lại nào và nó thường được đánh giá thông qua chất xơ có tính tẩy rửa trung tính (NDF), rất quan trọng trong việc duy trì các chức năng của dạ cỏ khỏe mạnh. Chất xơ là một thành phần dinh dưỡng đa năng. Ngoài vai trò là chất nền lên men, nó còn có nhiều đặc tính hóa lý đặc trưng: thúc đẩy hoạt động nhai lại và sản xuất nước bọt, tạo thành thảm dạ cỏ, kích thích nhu động dạ cỏ và sự di chuyển của vật chất qua đường tiêu hóa (GIT), bảo vệ thành dạ cỏ bằng cách duy trì lớp đệm khả năng axit béo dễ bay hơi (VFA) được sản xuất và tích lũy trong dạ cỏ, đồng thời làm giảm sự suy giảm chất béo trong sữa ở bò sữa đang cho con bú cũng như làm giảm khả năng tiêu hóa CW và nhiễm toan ở bò thịt được cho ăn chế độ ăn nhiều ngũ cốc (Tedeschi và Fox, 2020). Mặc dù không có khuyến nghị chính thức về chất xơ vì nó không phải là chất dinh dưỡng thiết yếu, nhưng có khuyến nghị thực tế của Viện Hàn lâm Khoa học, Kỹ thuật và Y

học Quốc gia (NASEM) đối với thịt bò và bò sữa vì đặc tính hiệu quả của chất xơ đặc biệt (NASEM, 2016, 2021).

Sự phức tạp của các tương tác chất xơ trong dạ cỏ (và có thể là sau dạ cỏ) khiến việc dự đoán chính xác lượng ăn vào của động vật nhai lại trở nên khó khăn hơn, đặc biệt là những động vật trong điều kiện chăn thả (Tedeschi và cs., 2019). Do đó, việc đánh giá khả năng phân hủy sinh học của CW thức ăn thô xanh là rất cần thiết vì tốc độ và mức độ tiêu hóa chất xơ cũng như khả năng lưu giữ có chọn lọc các hạt trong reticulorum (RR) phụ thuộc vào sự tương tác giữa carbohydrate, protein, hợp chất phenolic và khoáng chất của ma trận CW phức tạp của cây thức ăn thô xanh và các đặc tính vật lý của nó, ví dụ như độ nổi và đặc tính nghiền của vật chất hạt thức ăn thô xanh trong đó (Kennedy, 1985; Ellis và cs., 2005a). Do đó, việc đạt được mức sản xuất tối ưu là rất khó vì việc thực hiện bổ sung chiến lược đầy đủ là một vấn đề khó khăn, nếu không muốn nói là không thể thực hiện được. CW thực vật có liên quan về mặt chức năng với các mô và cơ quan thực vật, đồng thời là nguồn cung cấp carbohydrate và chất xơ quan trọng cho động vật nhai lại với tư cách là vật chủ của hệ sinh thái vi sinh vật dạ cỏ (Van Soest, 1994; Mertens, 2002; Mertens và Grant, 2020). Thành tế bào cũng là nguồn cung cấp chất xơ cho sức khỏe đường ruột của con người (Van Soest và cs., 1991; Peek và cs., 2018) và thậm chí cung cấp dinh dưỡng và thức ăn cho động vật ăn tạp và động vật ăn cỏ không nhai lại (Van Soest, 1994, 1996; Hall, 2003; Hall và Mertens, 2017). Nâng cao hiểu biết của chúng ta về những gì tạo nên chất xơ, các cơ chế thay đổi việc sử dụng chất xơ của động vật nhai lại và các phương pháp xác định giá trị dinh dưỡng của chất xơ là bắt buộc để đạt được tính bền vững trong sản xuất động vật nhai lại. Đó là một hành trình dài và cộng đồng khoa học đã thu thập được một lượng thông tin và kiến thức khổng lồ. Bài viết này tóm tắt thông tin về các khía cạnh đã được công bố bởi Jung và cs. (1993) và mang lại một số hiểu biết bổ sung về việc sử dụng CW ở động vật nhai lại, một con đường quan trọng để ứng dụng kiến thức vào dinh dưỡng và cho ăn của động vật nhai lại. Bên cạnh đó, cũng xem xét định nghĩa, cấu trúc, thành phần, mô hình phân tử của quá trình tổng hợp CW, khía cạnh ba chiều của các thành phần CW và sự phân hủy sinh học của CW, cụ thể hơn là cách vi khuẩn đường ruột vượt qua các rào cản phân hủy sinh học và các giới hạn đối với việc sử dụng CW thực vật bằng cách động vật nhai lại. Sau đó đã thảo luận về các cơ chế và phương pháp tiềm năng để thay đổi việc sử dụng thành tế bào của động vật nhai lại, vì cấu trúc đa dạng về mặt hóa học của CW khó tiêu hóa. Cuối cùng, đề cập đến các phương pháp xác định hàm lượng CW và khả năng tiêu hóa của chúng. Bài viết cũng thảo luận ngắn gọn về một số phương pháp mô tả đặc điểm của chất xơ và tăng cường khả năng phân hủy sinh học của chúng cũng như các mô hình để dự đoán quá trình tiêu hóa và luân chuyển chất xơ ở GIT của động vật nhai lại.

ĐỊNH NGHĨA, CẤU TRÚC VÀ TỔNG HỢP THÀNH TẾ BÀO THỰC VẬT

Định nghĩa thành tế bào

Có nhiều định nghĩa về CW thực vật, được sử dụng đồng nghĩa với chất xơ. Từ điển Merriam-Webster định nghĩa CW là “thường là một bức tường cứng, thấm, không sống, bao quanh màng sinh chất, bao bọc và hỗ trợ các tế bào của hầu hết thực vật, vi khuẩn, nấm và tảo”. Từ góc độ hóa học, nó bao gồm các vi sợi cellulose đan xen với các polysaccharide pectic (như homogalacturonans và rhamnogalacturonans), glycans liên kết ngang (như xyloglucan, glucuronoarabinoxylan và mannans), lignin (p-coumaryl liên kết ngang, coniferyl, và rượu sinapyl hoặc các dạng axit của chúng: axit coumaric, ferulic và sinapic), cũng như các protein

và glycoprotein đa dạng (như: enzyme và protein giàu hydroxyproline) (Wilson, 1993; Alberts và cs., 2022). Từ góc độ dinh dưỡng, CW thực vật là một cấu trúc phức tạp bao gồm các chất không hòa tan và dễ hòa tan hơn (pectin và protein) kháng enzyme GIT của động vật có xương sống; ở động vật nhai lại, những hợp chất này có tốc độ phân hủy (tức là lên men) khác nhau ở vùng RR (Van Soest, 1994). Tuy nhiên, định nghĩa về chất xơ không chỉ là quan điểm giản lược về các định nghĩa sinh học hoặc hóa học của CW thực vật; nó liên quan đến sự tương tác giữa các yếu tố vật lý và hóa học của các chất CW thực vật gắn liền với thời gian, tức là nó đòi hỏi sự tương tác liên tục, phụ thuộc vào thời gian của các khía cạnh hóa lý. Có lẽ cần phải có một định nghĩa tổng quát kết hợp các định nghĩa khác nhau này nhưng không nhất thiết phải liên kết với một chuyên ngành cụ thể ngoài chức năng của sợi quang. Theo nghĩa đó, chất xơ là bất kỳ ma trận hữu cơ polyme nào có thể tạo thành một tấm thảm trong dạ cỏ và có các bề mặt đa chiều với các mô hình phân hủy đa pha, do khả năng hòa tan của các thành phần của nó và khả năng của chúng đối với sự tham gia của vi sinh vật.

Cấu trúc và thành phần của thành tế bào

Tế bào thực vật được bảo vệ bởi một vật thể không chỉ là một rào cản vật lý hoặc một bức tường tĩnh giúp tạo ra độ cứng và bảo vệ tính toàn vẹn của tế bào thực vật trước các tác nhân gây áp lực từ môi trường (Lin và cs., 2016; Jamet và Dunand, 2020). Nhờ có các protein chức năng, CW thực vật là thành phần năng động và có hoạt tính sinh hóa của tế bào thực vật, với động lực học theo thời gian và các cơ chế liên quan để điều hòa sinh tổng hợp (Jamet và cs., 2006; Jamet và Dunand, 2020). Lớp giữa (ML) dán các CW liền kề bằng cách ngăn các tế bào thực vật trượt vào nhau và ML được lắng đọng giữa CW chính (PCW) của các tế bào lân cận. ML trong các mô thực vật non và đang phát triển được hình thành bởi các polysaccharide pectic và một lượng nhỏ protein, nhưng ML không chứa cellulose và hemicellulose (Zamil và Geitmann, 2017). Cellulose, hemicellulose và lignin sẽ được lắng đọng trong CW của các tế bào đang phát triển, cũng là một phần của PCW, phải đủ linh hoạt để cho phép mở rộng nguyên sinh chất trong khi vẫn duy trì tính toàn vẹn của tế bào thực vật trong quá trình phân chia và mở rộng tế bào, với sự mở rộng không thể đảo ngược của CW tồn tại từ trước (Höfte và Voxeur, 2017; Cosgrove, 2018). Tế bào thực vật hình thành PCW bằng cách thúc đẩy các polysaccharide mới được tổng hợp (pectin, cellulose và hemicellulose), các hợp chất phenolic (monolignols), protein cấu trúc (protein giàu proline), protein chuyển hóa (expansin), các protein có ít hoặc không có tương tác với các thành phần CW (protease) và khoáng chất (Ca^{+2} , Mg^{+2} và $BO-33$) và bằng cách thúc đẩy sự lắng đọng và tích hợp của chúng vào mạng PCW (bằng cách trao đổi chéo -liên kết và tương tác phân tử) để đảm bảo độ bền và chức năng cần thiết của thành (Cosgrove, 2005; Hatfield và cs., 2017). Cuối cùng, khi quá trình kéo dài tế bào chấm dứt, CW thứ cấp (SCW) được hình thành trong các tế bào chuyên biệt của mô chịu tác động cơ học mạnh, chẳng hạn như mô xơ cứng, nơi cellulose, hemicellulose và lignin được lắng đọng để thúc đẩy sự dày lên của CW cần thiết (Zhang và cs., 2019). CW thực vật chứa carbohydrate, protein, hợp chất phenolic và khoáng chất trong cấu trúc phân tử cao của chúng. Tuy nhiên, sự sắp xếp và cơ sở hạ tầng cuối cùng của chúng trong CW của cây thức ăn gia súc thuộc họ Fabaceae và Poaceae rất khác nhau và phụ thuộc vào một số dạng mà một số pentose ($C_5H_{10}O_5$) và các dẫn xuất hexose ($C_6H_{12}O_5$) xảy ra và liên kết chéo với các carbohydrate, protein, phenolics và khoáng chất (Van Soest, 1994; Li, 2021). Ngoài ra, còn có nguồn thức ăn thô xanh từ các họ thực vật khác, chẳng hạn như *Bohemeria nivea* (L.)

Gaudich. (Ramie hoặc cỏ Trung Quốc) từ Urticaceae (Tang và cs., 2019), hoặc *Opuntia* sp. (xương rồng không xương sống) từ Cactaceae (Araujo và cs., 2020; Cruz và cs., 2020).

Có vô số dạng mà polyme carbohydrate có thể tạo ra thông qua quá trình chuyển hóa sinh tổng hợp ở thực vật bằng cách sử dụng glucose và các đồng phân của nó dưới dạng pyrans (α -L-rhamnose, α -D-xylose và β -D-mannose), furan (α -D-fructose và α -L-arabinose), và epime (α -D-fructose, β -D-mannose và α -D-galactose). Sự thay thế nhóm H bằng nhóm OH ở C-6 của mannose hoặc galactose lần lượt tạo ra rhamnose hoặc fucose. Ngược lại, quá trình oxy hóa C-6 của galactose và glucose aldehyde tạo thành axit galacturonic và glucuronic tương ứng. Các carbohydrate hiện diện dưới dạng cấu trúc (thuộc CW thực vật) hoặc carbohydrate phi cấu trúc trong tế bào thực vật có trong nguyên sinh chất hoặc nội dung tế bào của lá, thân, hạt và các cấu trúc thực vật khác. Tuy nhiên, về mặt dinh dưỡng, chúng cần được nhóm lại theo độ hòa tan của chất tẩy trung tính (ND) thành các nhóm carbohydrate dạng sợi (ND không hòa tan) và carbohydrate không dạng sợi (ND hòa tan); nhóm thứ hai có mặt trong thức ăn thô xanh (cỏ và cây họ đậu) và các nguồn chất xơ không phải thức ăn thô xanh (vỏ đậu nành), và bao gồm các axit hữu cơ từ thức ăn lên men như thức ăn ủ chua và cỏ khô (Mertens, 1996; Hall, 2003; Hall và Mertens, 2017).

Sự phân chia tế bào thực vật được đặc trưng bởi sự lắng đọng ban đầu của vật liệu giàu polysaccharide pectic tạo thành ML; nghĩa là, trong quá trình phân chia tế bào, tế bào chất của tế bào mẹ được chia thành hai tế bào con bởi một tấm tế bào mới hình thành, là kết quả của sự lắng đọng của các túi giàu homogalacturonan hợp nhất ở đường xích đạo của tế bào mẹ. ML của các mô thực vật non và đang phát triển chủ yếu bao gồm các polysaccharide pectic và một lượng nhỏ protein; cellulose và hemicellulose không có trong cấu trúc này, như đã đề cập trước đó. Các polysaccharit pectic là các di thể phức tạp được hình thành bởi liên kết cộng hóa trị và cầu nối Ca + 2 (Zamil và Geitmann, 2017). Chúng được tổng hợp trong bộ máy Golgi và lắng đọng trong ML bằng quá trình ngoại bào, và mặc dù axit galacturonic có thể chứa khoảng 700 g/kg monome pectic, còn có các đơn vị monome khác, bao gồm rhamnose, arabinose và galactose; Pectin có thể chứa homogalacturonan, rhamnogalacturonan-I và rhamnogalacturonan-II. Carbohydrate pectic có liên kết (1→4)- α và chuỗi không tuyến tính do góc xoắn giữa các đơn vị đơn phân. Homogalacturonan là một polyme của các gốc axit galacturonic liên kết với (1→4)- α , có thể được xylosylat hóa, acetyl hóa hoặc methyl-ester hóa. Rhamnogalacturonan-II có xương sống homogalacturonan với bốn chuỗi bên được bảo tồn cao, trong thực vật được nuôi dưỡng đầy đủ Boron sẽ tạo ra các liên kết ngang borat diester, và rhamnogalacturonan-I được hình thành bởi xương sống của axit α -galacturonic-(1→2) - α -L-rhamnose-(1→4)- α lặp lại disacarit (Höfte và Voxeur, 2017). Một số đơn vị rhamnose phân nhánh với chuỗi bên arabinose (arabinans), galactose (galactans) hoặc cả hai (arabinogalactans). Nhìn chung, cây họ đậu giàu pectin hơn cỏ (Van Soest, 1994; Li, 2021). Pectin hòa tan trong ND, mang lại khả năng đệm và trao đổi cation cao cho CW, đồng thời được tiêu hóa và lên men đồng đều ở mức độ lớn hơn trong GIT mà không tạo ra lactate như một sản phẩm cuối cùng của quá trình lên men trong RR (Van Soest và cs., 1991; Van Soest, 1994; Mertens, 1996).

Cellulose

Sau khi ML được hình thành, tế bào thực vật đang phát triển hoặc phân chia sẽ bắt đầu lắng đọng PCW chứa pectin và xyloglucans trong hầu hết các loại thực vật trên đất liền (ngoại trừ

ở các loại cỏ nơi arabinoxylans chiếm ưu thế), glycoprotein và các tương tác polyme pectic còn sót lại với ML và có thể với PCW của ô lân cận, ô liền kề (Cosgrove, 2018). Tuy nhiên, đặc điểm đáng chú ý nhất của quá trình tổng hợp các thành phần CW là sinh tổng hợp cellulose, một nhiệm vụ được thực hiện bởi cellulose synthase, một loại enzyme cổ xưa có gen mã hóa trong tảo xanh tương đồng với gen của thực vật hạt kín (Carpita, 2011). Cellulose synthase là một enzyme dimeric kết hợp với năm đơn vị dimeric khác để tạo ra tiểu đơn vị hoa thị; tiểu đơn vị hoa hồng này kết hợp lại với năm tiểu đơn vị khác để tạo thành một hoa hồng dưới dạng phức hợp hexameric synthase. Hexamer này được tập hợp trong bộ máy Golgi và được vận chuyển đến plasmalemma (Doblin và cs., 2002; Cosgrove, 2005; Pallardy, 2008). Kết quả của quá trình sinh hóa này là sự hình thành polysaccharide microfibril paratinh thể, cellulose, một chất đồng trùng hợp tuyến tính gồm khoảng hai đến ba chục chuỗi $(1\rightarrow4)\text{-}\beta\text{-D-glucan}$ với đường kính lý thuyết có thể dao động từ 2,4 đến 3,8 nm. Các vi sợi cellulose này được ổn định bằng các liên kết hydro trong và giữa các chuỗi cũng như các tương tác kỵ nước (Nelson và Cox, 2005; Burton và cs., 2010).

Hemicellulose

Hemicellulose là các polysaccharide của nền CW liên kết H với các vi sợi cellulose. Hemicellulose là một chất dị hợp tử đầy thách thức vì tính phức tạp của nó; nó bao gồm xylan, β -glucans (tức là gôm), xyloglucans, araban, galactan và mannan, và không giống như sự sắp xếp tuyến tính của cellulose, các polyme hemicellulose có sự phân nhánh chuỗi biến đổi (Pallardy, 2008; Li, 2021). Các polysaccharit không xenluloza liên kết hỗn hợp được tạo ra bởi các enzym giống cellulose synthase, chịu trách nhiệm sinh tổng hợp các mạch chính $(1\rightarrow4)\text{-}\beta\text{-D-glucan}$, chủ yếu là (gluco)mannans và galacto(gluco)mannans, xyloglucans, glucuronarabinoxylans, và các loại cỏ đặc trưng $(1\rightarrow3),(1\rightarrow4)\text{-}\beta\text{-D-glucans}$ (Carpita, 2011). Xylan được hình thành bởi các liên kết tuyến tính $(1\rightarrow4)\text{-}\beta$ giữa các đơn vị D-xylopyranose, với các chuỗi bên ngắn thay thế được chia thành ba nhóm chính: 1) arabinose, tạo ra arabinoxylan; 2) axit glucuronic và axit glucuronic 4-O-metyl tạo thành glucuronoxylan; và 3) sự kết hợp giữa arabinose và axit glucuronic tạo ra glucuronarabinoxylans (Li, 2021). Thành phần hemicellulose khác nhau giữa các loài thực vật (Pallardy, 2008); nghĩa là, tính không đồng nhất của xyloglucans là đặc trưng cho từng loài và hầu hết đều được galactosyl hóa với đặc tính $\alpha\text{-L-fucose-(1}\rightarrow2)\text{-}\beta\text{-D-galactose-(1}\rightarrow2)\text{-}\alpha\text{-D-xylose trisaccharide}$ (Carpita, 2011), trong đó nêu bật tính không đồng nhất về mặt hóa học của hemicellulose do sự hiện diện của fucose, galactose và xyloza trong cấu trúc phân tử cao của nó. Xyloglucans và glycoprotein giàu hydroxyproline (tức là extensin) với chuỗi bên L-arabinose và galactose tạo thành cấu trúc phân nhánh cao có khả năng chống tiêu hóa (Li, 2021). Một đặc tính quan trọng mà $(1\rightarrow3),(1\rightarrow4)\text{-}\beta\text{-D-glucans}$ sở hữu là sự kết hợp giữa cellotriosyl/cellotetraosyl, cũng như các gốc cellopentosyl/cellohexaosyl bằng cách đưa vào các khoảng cách không đều $(1\rightarrow3)\text{-}\beta$ mỗi liên kết (Van Soest, 1994; Burton và cs., 2010; Carpita, 2011). Sự phổ biến của một oligome này hoặc một oligome khác tạo ra cấu trúc song song “xenlulo đều” trên các chuỗi thu được. Tuy nhiên, hỗn hợp tri- và tetrasaccharit (và có thể cả penta- hoặc hexasaccharit) có thể tạo ra mỗi liên kết thất thường hơn bằng cách tạo ra các “điểm gấp khúc” phân tử trong khung “xenlulo”. Kết quả là, tính đều đặn về hình dạng và sự liên kết của các tương tác phân tử thay đổi và các chuỗi không tổng hợp trên các vùng mở rộng và vẫn hòa tan trong dung dịch nước (Burton và cs., 2010). Độ hòa tan trong dung dịch nước mà các $(1\rightarrow3),(1\rightarrow4)\text{-}\beta\text{-D-glucans}$ không đều sở hữu có lẽ liên quan đến cấu trúc ngoằn ngoèo của nó, và mặc dù độ hòa tan của nó,

(1→3),(1→4 Các liên kết)-β có khả năng kháng các enzym của động vật có vú nhưng lại có khả năng lên men cao (Van Soest, 1994). Quá trình tổng hợp CW tạo thành hai vùng quan trọng: các phân cellulose tinh thể, có trật tự cao và các vùng cellulose vô định hình, ít trật tự hơn trong các vi sợi. Ví dụ, các vùng vô định hình trong các vi sợi của SCW tạo điều kiện thuận lợi cho tương tác xylan-cellulose trong lúa miến; do đó, việc điều chỉnh các liên kết chéo xylan-lignin trong các loại tế bào cụ thể có thể mở ra một chiến lược mới để giảm tính bền vững (Gao và cs., 2020).

Mannan

Mannans là carbohydrate không chứa xenlulo tạo thành các chất đồng nhất với mannose hoặc các chất dị hợp có chứa glucomannans, galactomannans hoặc glucomannans với các đơn vị galactose trong chuỗi bên dưới dạng galactoglucomannans (Van Soest, 1994; Li, 2021). Những polyme mannan này là đặc trưng của cây họ đậu, và mannan giống như kẹo cao su, xyloglucans và β-D-glucans không bị hóa chất (Van Soest, 1994). Các enzym giống cellulose synthase tổng hợp các polyme không chứa xenlulo này trong màng Golgi, đặc biệt là (1→3),(1→4)-β-D-glucan synthase ở Poaceae. Tuy nhiên, vẫn chưa có kiến thức đầy đủ về hầu hết các gen enzyme giống cellulose synthase, các sản phẩm gen và sự tương tác của chúng để tạo ra β-D-glucans cụ thể (Carpita, 2011).

Các hợp chất phenolic

Một loạt các chất có vòng thơm mang nhóm thế hydroxyl, bao gồm cả các dẫn xuất chức năng của chúng, thuộc về cái gọi là hợp chất phenolic. Có khoảng 8.000 hợp chất phenolic, từ axit phenolic đến tannin phức tạp (Dai và Mumper, 2010). Trong số đó, phong phú nhất là tannin và lignin, và các hợp chất phenolic có thể được tìm thấy trong lá, thân, rễ, quả, hạt và thức ăn chăn nuôi có nguồn gốc thực vật (Li, 2021). Polyphenolics (tannin) bao gồm một phân lớp đáng kể của flavonoid (Tedeschi và cs., 2021). Tannin khác với lignin về độ hòa tan và khả năng liên kết với protein và làm cho chúng kháng lại các protease của vi sinh vật, trong khi lignin là một hợp chất phenolic cấu trúc cần thiết để tạo độ cứng cho CW (Van Soest, 1994). Lignin được lắng đọng trong CW của các mô chuyên biệt (Jamet và cs., 2006), và đặc tính của nó là một thách thức vì lignin thay đổi tùy theo loài thực vật và quá trình khử polyme lignin rất phức tạp bởi cấu trúc có trật tự của nó với các liên kết và liên kết giữa carbon-carbon hoặc ether mạnh (Lý, 2021). Một trong những chất môi để tổng hợp lignin là axit 4-hydroxycinnamic (axit p-coumaric), tiền chất của rượu p-coumaryl, là một phân tử ăn mòn, độc hại cấp tính và gây kích ứng được tổng hợp thông qua con đường axit shikimic hoặc shikimate-chorismate ở vi khuẩn và thực vật (Nelson và Cox, 2005). Tuy nhiên, nó là một trong những môi để tổng hợp lignin. Lignin mang lại độ cứng cho nền CW và cần thiết để đảm bảo sức khỏe dạ cỏ và sinh lý bình thường (Van Soest và cs., 1991; Iiyama và cs., 1994). Các phân tử môi khác cũng bắt nguồn từ con đường shikimate-chorismate (dạng anion) này (tạo ra các axit amin thơm Phe, Tyr và Trp). Con đường này phụ thuộc vào phosphoenolpyruvate và erythrose-4-phosphate, và trong số các chất môi khác để tổng hợp lignin là axit ferulic (4-hydroxy-3-methoxycinnamic, chất gây kích ứng) và axit syringic (4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoic, chất gây kích ứng). Lignization là giai đoạn cuối cùng của quá trình biệt hóa tế bào; sự lắng đọng của nó bắt đầu bằng sự phân chia tế bào khi PCW được hình thành và tăng dần theo sự trưởng thành của thực vật và tiếp tục với sự dày lên của CW khi SCW được hình thành; quá trình hóa gỗ khác nhau giữa các loại tế bào từ các mô thực vật

khác nhau, vì lignin được lắng đọng bằng cách hình thành liên kết cộng hóa trị với carbohydrate không chứa xenlulo (Van Soest, 1994; Zeng và cs., 2017). Có thể hiểu được mức độ hấp dẫn của các ma trận CW phức tạp với các chất đồng hợp tử và chất dị hợp tử phát sinh ở vô số dạng từ các chất đơn giản, và trước sự biến đổi tuyệt đối này, chúng tôi nhận thấy rằng việc hấp thụ, tiêu hóa và sử dụng vật chất CW của động vật nhai lại thông qua quá trình phân hủy sinh học trong điều kiện yếm khí của hệ sinh thái vi sinh vật dạ cỏ không phải là một sự kiện đồng nhất về mặt dinh dưỡng từ quan điểm định lượng, vì chúng ta sẽ thảo luận về hệ quả tất yếu này sau.

Ba đơn vị monolignol, cụ thể là p-coumaryl, coniferyl và rượu syringyl, có nguồn gốc từ các môi đã đề cập trước đó và tạo thành các môi dimeric liên kết cộng hóa trị dưới dạng liên kết ether và este, cũng như cầu nối diester và diester-ether với carbohydrate (Li, 2021). Các liên kết cộng hóa trị này được tìm thấy trong vỏ một lá mầm (một lá mầm hoặc một lá mầm) (Hartley và cs., 1990; Hatfield và Kalscheur, 2020) và cây thức ăn gia súc hai lá mầm (hai lá mầm hoặc hai lá mầm) (Van Soest, 1994; Grabber và cs., 2004). Các monolignols trải qua quá trình trùng hợp khử hydro thông qua các enzyme oxy hóa tạo ra lignin bao gồm guaiacyl (thường được gọi là G lignin) và rượu syringyl (thường được gọi là S lignin), chiếm ưu thế về lượng phenolic trong lignan và các đơn vị p-hydroxyphenyl (thường được gọi là H lignin) có nguồn gốc từ rượu p-coumaryl là thành phần nhỏ của lignin (Grabber và cs., 2004). Guaiacyl là thuật ngữ chung cho nhóm chức năng chung của rượu coniferyl, axit ferulic và vanillin (Van Soest, 1994). Peroxidase chịu trách nhiệm ghép các monome phenolic thành polyme lignin phức tạp (Ralph và cs., 2004), và các chất nhũ trùng lên men rất cần thiết trong liên kết ngang của phenolics và carbohydrate trong CW (Ralph và cs., 2004; Lý, 2021).

Proteins

Protein thành tế bào (CWP) là một phần không thể thiếu của ma trận CW. Chúng hiện diện trong ML, nơi chúng hình thành các tương tác protein-pectin, protein-protein và protein-protein/pectin và lan rộng trong thành sơ cấp mới mở rộng. Chúng góp phần vào việc lắp ráp ma trận CW thông qua các tương tác protein/protein và protein/polysacarit, và có CWP với các hoạt động cắt/gắn hoặc xử lý/phân hủy enzyme và đóng vai trò của chúng trong việc tạo ra chức năng động của CW (Jamet và Dunand, 2020). Kiến thức về CWP ngày nay cung cấp cho chúng ta ý tưởng rằng CW không phải là một khối đùn trơn, cứng và tĩnh của nguyên sinh chất tế bào thực vật; CWP mang lại sự sống phân tử cho PCW bằng cách xây dựng, cấu trúc, tăng cường, phân hủy và định hình lại ma trận CW trong quá trình phát triển và biệt hóa tế bào. CWP là hầu hết các glycoprotein được tiết ra trong không gian ngoại bào tại giao diện giữa ma trận CW và plasmalemma (Jamet và cs., 2006). Về vấn đề đó, ba nhóm CWP khác nhau có thể được xác định. Nhóm đầu tiên được hình thành bởi CWP không bền, di chuyển tự do trong không gian ngoại bào vì chúng không có tương tác với các thành phần CW, có phạm vi điểm đẳng điện axit và có thể được chiết xuất bằng chất đệm cường độ ion thấp. Nhóm thứ hai được hình thành bởi CWP liên kết yếu với ma trận bởi lực Van der Waals, liên kết H và tương tác kỵ nước hoặc ion; chúng có khoảng điểm đẳng điện bazơ và tích điện dương ở pH axit của CW. Các protein tích điện dương tương tác với nhóm pectin COO tích điện âm. Nhóm thứ ba được hình thành bởi CWP liên kết chặt chẽ với các thành phần CW. Extensin hoặc protein giàu proline được liên kết chéo bằng liên kết cộng hóa trị và peroxidase (xem phần tiếp theo) có ái lực cao với Ca + 2-pectate. Glycoprotein giàu hydroxyproline cũng là protein cấu trúc kháng protease (Jamet và cs., 2006). Expansin thuộc nhóm thứ hai vì chúng

có liên quan đến quá trình điều hòa sự phát triển CW do axit gây ra bằng cách xúc tác cho quá trình nối lỏng CW thực vật mà không phân giải các polyme thành (Cosgrove, 2018).

Vai trò của CWP có lẽ gắn liền với sự hình thành hình thái do kết quả của sự phát triển và biệt hóa tế bào ở cấp độ CW. Do đó, quá trình sinh tổng hợp và biệt hóa CW được điều hòa theo các cách thời gian, không gian và phát triển, các quá trình trong cấu trúc đại phân tử của CW được kết nối với nguyên sinh chất bởi plasmodesmata, plasmalemma và khung tế bào. CWP được phân bố khắp nơi trong ma trận CW và đóng vai trò tích cực trong sự phát triển và biệt hóa tế bào. Các nhóm chính như sau: glycoprotein hoặc extensin giàu hydroxyproline, protein arabinogalactan, protein giàu glycine, protein giàu proline và protein chimeric có chứa các miền giống extensin (Cassab, 1998). Các glycoprotein giàu hydroxyproline được tìm thấy trong ML và PCW liền kề. Tuy nhiên, sự hiện diện của CWP khác trong ML, chẳng hạn như protein arabinogalactan, protein giàu glycine và giàu proline, vẫn chưa được biết; có thể có các liên kết chéo khác với arabinoxylans (Zamil và Geitmann, 2017).

Phân hủy sinh học của thành tế bào

Ở động vật nhai lại, các hạt được ăn vào có nguồn gốc thực phẩm đến từ vô số mô thực vật và tạo thành một hỗn hợp các hạt không đồng nhất, cả về kích thước hoặc thành phần; mô thực vật là yếu tố quyết định thành phần hóa học của các hạt, đặc biệt liên quan đến tỷ lệ giữa các phần có khả năng tiêu hóa: khó tiêu (Chandler và cs., 1980; Pond và cs., 1984, 1987; Akin, 1989; Wilson và Mertens, 1995; Walz và cs., 2004). Các mảnh vụn đã được nuốt vào, các hạt nghiền nhỏ ở các độ tuổi khác nhau, thuộc tính nổi và lượng chất nền có khả năng tiêu hóa tạo thành một nhóm các hạt lớn có thể phân biệt được, trong đó các hạt không đủ điều kiện để thoát khỏi RR. Ngược lại, các hạt nhỏ được nghiền nhỏ và tiêu hóa là kết quả của sự phân hủy hóa lý làm cạn kiệt dần các hạt khỏi chất nền có khả năng tiêu hóa của chúng và làm tăng tỷ lệ các hạt khó tiêu. Các hạt nhỏ được pha loãng bằng chất lỏng đó tạo thành nhóm “doanh thu” hoặc nhóm các hạt có thể thoát ra được đủ điều kiện thoát khỏi RR thông qua lỗ dạng lưới (Sutherland, 1988; Walz và cs., 2004; Vieira và cs., 2008b, 2020). Do đó, RR đã phát triển như một hệ thống hiệu quả để lưu giữ có chọn lọc các hạt dạng sợi để chiết xuất năng lượng trong CW cứng đầu của các hạt thức ăn thô xanh (Allen và Mertens, 1988; Huhtanen và cs., 2006a; Lund và cs., 2007; Allen và cs., 2019a; Badhan và cs., 2022).

Hạn chế tiêu hóa của vi sinh vật

Nghiên cứu về sự phân hủy sinh học CW của cây thức ăn thô xanh có tầm quan trọng lớn vì carbohydrate CW là nguồn năng lượng chính cho vi khuẩn trong hệ sinh thái vi sinh vật dạ cỏ. Tốc độ và mức độ phân hủy sinh học trong RR phụ thuộc vào vô số tương tác giữa carbohydrate, protein, hợp chất phenolic và khoáng chất của ma trận CW phức tạp của thực vật làm thức ăn gia súc. Ví dụ, phân tích thành phần glycan, liên kết glycosid và khả năng chiết xuất của polysaccharide trong các chất cản khó tiêu hóa trong phân của động vật nhai lại được cho ăn rơm lúa mạch, kết hợp với phân tích glycome và hệ phiên mã, cho thấy rằng cấu trúc phân lớp CW, chứa các dị vòng và xyloglucans, tạo thành rào cản kháng cự cho hoạt động liên tục của các enzyme phân hủy chất xơ trên vật liệu lignocellulose làm thức ăn thô xanh (Badhan và cs., 2022). PCW hóa gỗ và SCW xơ cứng khó tiêu hóa bởi các vi khuẩn dạ cỏ, được bộc lộ qua các chế phẩm cắt ngang lá và thân (Akin, 1989). Thành tế bào được tiêu hóa từ bên trong và khả năng tiếp cận các bộ phận bên trong của các mô cây thức ăn thô xanh khác nhau, cũng như diện tích bề mặt đối với thể tích CW, ảnh hưởng đến thời gian và mức

độ tiêu hóa CW của vi khuẩn dạ cỏ; ví dụ, CW trung mô mỏng phần lớn bị thoái hóa, trong khi SCW của tế bào xơ cứng cần thời gian tiêu hóa lâu hơn (Wilson và Mertens, 1995; Jung và cs., 2000). Do đó, hàm lượng lignin, tính kỵ nước và liên kết ngang trong CW tạo thành các rào cản hóa học quan trọng làm hạn chế quá trình tiêu hóa của vi sinh vật (Grabber, 2005; Grabber và cs., 2009), có thể được biểu thị bằng dạng lý tưởng hóa của lõi CW khó tiêu của polysaccharit được bao bọc bởi lignin (Fisher và cs., 1989). Phần CW khó tiêu này có thể được dự đoán một cách định lượng bằng cách ủ lâu dài trong điều kiện kỵ khí (Robinson và cs., 1986; Ellis và cs., 2005b; Vieira và cs., 2012).

Giới hạn sử dụng thành tế bào

Chất xơ đại diện cho ma trận không hòa tan của polysaccharide CW được bao bọc bởi lignin (Van Soest, 1994). Lignin là yếu tố hạn chế việc sử dụng năng lượng tiêu hóa trong chất hữu cơ của cỏ; nghĩa là, hàm lượng lignin trong chất hữu cơ (OM) càng lớn thì nồng độ năng lượng chuyển hóa (ME) trong OM càng nhỏ (Blaxter, 1964). Van Soest (1994) đã mở rộng ảnh hưởng đó bằng cách đưa vào nồng độ chất xơ do mối quan hệ giảm tuyến tính giữa nồng độ NDF và hàm lượng năng lượng rỗng của thức ăn chăn nuôi. NDF đã xử lý bằng chất xơ hoặc tro được xử lý bằng α -amylase (aNDFom), chứa polysaccharides và lignin của CW từ các bộ phận khác nhau của cây thức ăn thô xanh, có khả năng tiêu hóa khác nhau, nhưng hàm lượng tế bào được tiêu hóa đồng đều (Huhtanen và cs., 2006b). Do đó, chất xơ tác động tiêu cực đến việc sử dụng OM trong thức ăn, nhưng động vật nhai lại cần chất xơ để đảm bảo sức khỏe dinh dưỡng (Tedeschi và Fox, 2020). Theo nghĩa đó, cần hướng tới sự cân bằng giữa nhu cầu năng lượng, protein, khoáng chất và nhu cầu chất xơ để đảm bảo lượng chất khô hấp thụ đầy đủ cho mức sản xuất mong muốn nhất định (Huhtanen và cs., 2016; Mertens và Grant, 2020). Một số mô hình toán học có thể được sử dụng để dự đoán lượng chất xơ trong RR và định lượng mức độ hạn chế phi tuyến tính trong chế độ ăn uống này có thể ảnh hưởng đến lượng chất khô hấp thụ như thế nào (Vieira và cs., 2008b, 2020; Huhtanen và cs., 2016; Allen và cs., 2019b). Tuy nhiên, một số yếu tố đã cản trở tiến trình dự đoán lượng ăn vào vì lượng thức ăn thô xanh và thức ăn dạng sợi cũng ảnh hưởng đến kích thước và tần suất bữa ăn. Tuy nhiên, hai khía cạnh này cũng bị ảnh hưởng bởi vô số hạn chế khác và kích thích một số phản ứng gây thèm ăn và chán ăn của cơ thể, gây khó khăn cho việc dự đoán lượng chất khô hấp thụ (Allen, 2014). Thật không may, những hạn chế đối với việc sử dụng CW phát sinh từ những hạn chế về lượng ăn vào, khả năng tiêu hóa và hiệu quả sử dụng ME (Van Soest, 1994).

Cơ chế thay đổi thành tế bào

Lignin có lợi cho nhiều ngành công nghiệp (Haq và cs., 2020). Tuy nhiên, vì lignin là chất gây ô nhiễm chính của CW nên đây là một vấn đề nghiêm trọng trong ngành công nghiệp nhà máy giấy vì nó được thải vào nước thải, gây ra các vấn đề môi trường nghiêm trọng (Haq và cs., 2020). Từ góc độ dinh dưỡng của động vật nhai lại, nó làm suy yếu khả năng tiêu hóa CW. Vì vậy, lý do chính để điều khiển CW thực vật là để tăng CW, cụ thể là hemicellulose, khả năng tiêu hóa. Việc điều chỉnh cấu trúc CW có thể được thực hiện bằng 1) tăng cường khả năng tiếp cận và phân hủy carbohydrate và lignin của vi khuẩn hoặc 2) thay đổi thành phần tổ chức vật lý của CW thông qua thay thế gen và làm im lặng gen.

Xử lý với vách tế bào

Iiyama và cs. (1993) đã thảo luận các bước tổng hợp, kích hoạt và trùng hợp monosaccharit quan trọng (khởi tạo chuỗi, trùng hợp, phân nhánh và kết thúc chuỗi) cần thiết để tạo thành

các polyme sinh học, bao gồm cả các polysaccharit được tìm thấy trong CW. Các biến đổi sau quá trình trùng hợp (tức là đồng trùng hợp), chẳng hạn như quá trình este hóa ở cỏ và quá trình ete hóa ở cây họ đậu (Lawoko, 2013), có thể làm cho hemiaellulose dễ tiêu hóa hơn hoặc ít hơn. Do mối tương quan cao giữa hemiaellulose và lignin (Sullivan, 1966), hemicellulose dễ tiêu hóa hơn sau khi xử lý bằng kiềm vì các liên kết este giữa carbohydrate hemicellulose và axit ferulic lignin dễ bị thủy phân bằng kiềm (Van Soest, 1994). Thật vậy, trong một thời gian dài, xử lý cỏ khô bằng kiềm đã là một quá trình nổi tiếng để tăng khả năng tiêu hóa hemicellulose (Jackson, 1977).

Kể từ giữa những năm 1960, hầu hết các nghiên cứu liên quan đến cơ chế làm thay đổi khả năng tiêu hóa CW đều tập trung vào sinh tổng hợp lignin, cụ thể hơn là vai trò của phenylalanine amoniac-lyase (PAL) đối với sự hình thành lignin (Iiyama và cs., 1993). PAL là bước đầu tiên trong con đường phenylpropanoid bằng cách chuyển L-phenylalanine thành amoniac và axit trans-cinnamic (Baucher và cs., 2003). Có mười enzyme cốt lõi chịu trách nhiệm sinh tổng hợp lignin: (hydroxy)cinnamyl Alcohol dehydrogenase, caffeoyl-CoA O-methyl transferase, (hydroxy)cinnamoyl-CoA reductase, p-coumaroyl shikimate 3'-hydroxylase, cinnamate 4-hydroxylase, 4-hydroxycinnamoyl-CoA ligase, axit caffeic O-methyltransferase, axit ferulic/coniferaldehyde/coniferyl Alcohol 5-hydroxylase, hydroxycinnamoyl-CoA:shikimate hydroxycinnamoyl transferase và PAL (Weng và Chapple, 2010; Vanholme và cs., 2012).

Các đột biến và cây chuyển gen có quá trình sinh tổng hợp lignin biến đổi đã thu được hầu hết các enzyme cốt lõi trong quá trình sinh tổng hợp lignin cho các loài thực vật khác nhau được quan tâm trong dinh dưỡng động vật nhai lại, bao gồm cỏ linh lăng (*Medicago sativa*), lúa miến (*Sorghum bicolor*) và ngô (*Zea mays*). (Baucher và cs., 2003). Tuy nhiên, thay vì tăng hoặc giảm điều hòa hoặc loại bỏ các enzyme cụ thể để thay đổi quá trình sinh tổng hợp lignin, các công nghệ mới đã tập trung vào việc thay thế các monolignol lignin truyền thống bằng các homopolyme dễ phân hủy hoặc phân hủy hơn và một số monome lignin thay thế đã được xác định (Vanholme và cs., 2012). Ví dụ, Wilkerson và cs. (2014) đã thiết kế thành công cây dương (*Populus sp*) để tăng tỷ lệ liên hợp lên men monolignol trong quá trình hóa gỗ trong xylem, chứa các liên kết ether có thể phân tách giúp cải thiện khả năng tiêu hóa CW sau khi xử lý trước bằng kiềm nhẹ.

Mặc dù lignin là yếu tố cản trở đáng kể khả năng tiêu hóa chất xơ của vi khuẩn dạ cỏ (và là chất gây ô nhiễm cho ngành sản xuất giấy), quá trình sinh tổng hợp lignin ở thực vật là một bước tiến hóa then chốt vì các hợp chất phenylpropanoid (như lignin) bảo vệ thực vật khỏi bức xạ UV-B (Weng và Chapple, 2010) bên cạnh việc cung cấp độ cứng cần thiết để cây đứng thẳng, vận chuyển nước (Labeeuw và cs., 2015) và bảo vệ khỏi mầm bệnh (Lee và cs., 2019). Vì vậy, liệu những cây đột biến hoặc chuyển gen này có tồn tại và nhân lên ở những vùng có cường độ UV-B cao hay không? Những đột biến này sẽ phản ứng thế nào với các điều kiện môi trường và khí hậu khác nhau (ánh sáng và nhiệt độ), vì chúng là những tác nhân có ảnh hưởng lớn đến sự biến đổi hóa lý ở thực vật (Buxton và Casler, 1993)? Hơn nữa, chúng ta có thể đã trả lời một phần các câu hỏi được đặt ra vào đầu những năm 1990 về những hậu quả không lường trước được của việc cải thiện khả năng tiêu hóa bằng cách thay đổi quá trình sinh tổng hợp lignin hoặc gần đây hơn là thay thế các monolignols truyền thống bằng các homopolyme. Burns (1993) đã đưa ra câu hỏi hóc búa sau: “trong khi tiềm năng năng suất tối đa của một số cây làm thức ăn gia súc có thể bị tổn hại vì chất lượng cao hơn hoặc mức độ sử

dụng chất xơ cao hơn, thì tính toàn vẹn của cây phải được duy trì sao cho các thuộc tính nông học, cho phép năng suất tốt được giữ lại. Điều này sẽ bao gồm khả năng phòng vệ của cây chống lại cả bệnh tật và côn trùng ăn thịt.” Hơn nữa, việc biến đổi polysaccharide của CW là có thể mà không ảnh hưởng xấu đến khả năng sống của thực vật, nhưng nó sẽ dễ tiêu hóa hơn trong khi vẫn giữ được tính hữu ích về mặt nông học (Iiyama và cs., 1993). Có vẻ như việc giảm một lượng nhỏ (điều hòa giảm) trong quá trình sinh tổng hợp lignin của cây có thể mang lại lợi ích đáng kể về khả năng tiêu hóa CW mà không ảnh hưởng đến sự phù hợp về mặt nông học (sức sống, khả năng chống chịu bệnh tật, hạn hán và năng suất) của cây trồng (Jung và cộng sự, 2012)).

Xử lý với vi khuẩn

Những người khác, chủ yếu từ ngành công nghiệp nhà máy giấy, đã đầu tư vào việc tạo ra các chất có khả năng phân hủy lignin với sự trợ giúp của chỉnh sửa gen. Các enzyme phân giải lignin bao gồm laccase (EC 1.10.3.2), lignin peroxidase (khối lượng phân tử glycoprotein 38–46 kDa, EC 1.11.1.14), mangan peroxidase (protein heme glycosyl hóa có khối lượng phân tử 40–50 kDa, EC 1.11.1.13), và peroxidase đa năng (EC 1.11.1.16) (Kumar và Chandra, 2020). Tuy nhiên, có những enzyme phụ trợ phân hủy lignin khác không thể phân hủy lignin một mình nhưng rất cần thiết để hoàn thành quá trình phân hủy (Janusz và cs., 2017). Mặc dù nấm được chuẩn bị tốt hơn để phân hủy lignin hiệu quả hơn vi khuẩn, nhưng một số vi khuẩn có thể phân hủy lignin (Xiong và cs., 2014; Chu và cs., 2017; Atiwesh và cs., 2022) chủ yếu là Actinomycetes sản xuất laccase, lignin peroxidase, và mangan peroxidase (Janusz và cs., 2017; Atiwesh và cs., 2022). Vì vậy, việc phân hủy lignin có thể có lợi cho vi khuẩn hoặc nấm biến đổi gen. Nấm mục nát trắng và nấm thối nâu là những vi sinh vật chiếm ưu thế được nghiên cứu về sự phân hủy lignin, gần đây vi khuẩn có vai trò thứ yếu hơn và mới nổi hơn (Bugg và cs., 2011). Các loài vi khuẩn được thiết kế nổi bật nhất là *Pseudomonas putida*, *Corynebacter glutamicum*, *Rhodococcus* sp và *Amycolatopsis* sp (Bugg và cs., 2021). Ngoài ra, Davidi và cs. (2016) đã phát triển xenluloza chứa laccase từ *Thermobifida fusca*, một loại vi khuẩn hiếu khí. Họ báo cáo rằng rơm lúa mì ủ với chimera có lượng đường khử tăng gấp đôi so với xenluloza chỉ chứa cellulase và hemicellulase. Thật không may, laccase sử dụng oxy để phá vỡ liên kết giữa C-1 và C-2 của các hợp chất phenolic thơm và không thơm (Claus, 2004; Janusz và cs., 2020), một lý do hạn chế khiến các sinh vật kỵ khí thiếu khả năng phân hủy lignin thông qua laccase.

Mặc dù vi khuẩn đã được biến đổi gen để tăng cường khả năng phân hủy lignin trong 10 năm qua, nhưng hầu hết ứng dụng đều dành cho ngành công nghiệp nhà máy giấy, nhiên liệu sinh học và hóa chất thơm (Bugg và cs., 2021). Rất ít nghiên cứu được thực hiện về khả năng tiêu hóa CW trong chăn nuôi động vật nhai lại, một phần vì hầu hết các quá trình này đều cần oxy, hạn chế nghiêm trọng việc sử dụng chúng tại chỗ. Tuy nhiên, có lẽ chúng có thể được sử dụng để bảo tồn thức ăn thô xanh, chẳng hạn như thức ăn ủ chua và cỏ khô, kết hợp với công nghệ hiện có để cải thiện việc bảo tồn thức ăn ủ chua, chẳng hạn như các chi *Lactobacillus*.

Phương pháp thay đổi khả năng tiêu hóa thành tế bào

Fahey và cs. (1993) đã thảo luận về nhiều phương pháp sau thu hoạch để thay đổi khả năng tiêu hóa CW, bao gồm các phương pháp vật lý, hóa học và vi sinh vật/enzym. Trong các phương pháp xử lý vật lý, các tác giả đã thảo luận về 1) nghiền và tạo viên để thay đổi kích thước hạt, 2) chiếu xạ bằng các electron tốc độ cao để tăng quá trình lên men dạ cỏ, 3) xử lý

bằng hơi nước để phá vỡ cấu trúc CW thông qua quá trình thủy phân, 4) tách cơ học các bộ phận của cây (thân so với lá) và 5) bùng nổ đông lạnh amoniac (được gọi là xử lý AFEX) bằng cách xử lý vật liệu xenlulo bằng amoniac lỏng dễ bay hơi dưới áp suất và sau đó làm bay hơi amoniac. Trong các phương pháp xử lý hóa học, phương pháp được sử dụng phổ biến nhất là dựa trên quá trình thủy phân và oxy hóa, bao gồm 1) xử lý kiềm NaOH và NH₃ để hòa tan hemicellulose, lignin và silica (Jackson, 1977), 2) peroxit (ozone, H₂O₂, Na₂O₂, NaOH và NaClO₂) để tấn công và phân hủy lignin CW, và 3) sự kết hợp của các tác nhân thủy phân và oxy hóa. Đối với các phương pháp tiếp cận bằng vi sinh vật và enzyme, 1) việc sử dụng nấm mục trắng để cải thiện khả năng tiêu hóa của vật liệu lignocellulose và 2) xử lý bằng enzyme (cellulase, hemiaellulase và ligninase) của thức ăn ủ chua để giảm pH nhanh chóng và cải thiện các đặc tính của thức ăn ủ chua đã được thực hiện con nuôi. Việc sử dụng các phương pháp này để tăng khả năng tiêu hóa của CW thực vật vẫn có triển vọng nhưng không tránh khỏi những hạn chế. Vấn đề chính là kết quả không nhất quán.

Phương pháp xử lý vật lý và hóa học

Sự kết hợp giữa các phương pháp xử lý vật lý và hóa học dường như làm tăng khả năng tiêu hóa nguyên liệu lignocellulose của lúa miến làm thức ăn gia súc (Falls và cộng sự, 2017b) và thân cây ngô (Falls và cộng sự, 2017a). Tiền xử lý bằng vôi oxy hóa làm tăng khả năng tiêu hóa chất xơ bằng cách loại bỏ lignin và hemiaellulose acetyl. Khi kết hợp với nghiền bi, tổng lượng chất dinh dưỡng tiêu hóa *in vitro* trong 48 giờ tăng từ 40% đối với nguyên liệu thô (toàn bộ cây lúa miến) lên 64% (xử lý hóa học ngắn hạn) lên 84% (nghiền bi sau khi nghiền bi dài hạn) bằng cách loại bỏ lignin và cellulose tinh thể (Falls và cs., 2017b). Trong một nghiên cứu tiếp theo, thân cây ngô được xử lý bằng vôi oxy hóa đã tăng khả năng tiêu hóa sau khi được xử lý sốc cơ học (Falls và cs., 2017a). Khả năng tiêu hóa NDF trong ống nghiệm của thân cây ngô trong 48 giờ tăng từ 49,3% lên 79% sau khi xử lý bằng vôi oxy hóa và sốc, và khi các chất hòa tan trong thân cây ngô được chiết xuất được bổ sung trở lại, tổng chất dinh dưỡng tiêu hóa trong ống nghiệm (cơ sở OM) là 74,9% (Falls và cs., 2017a). Mặc dù sự kết hợp của các phương pháp xử lý hóa học và vật lý có thể làm tăng khả năng tiêu hóa chất xơ nhưng việc ứng dụng chúng vào thương mại vẫn còn khó khăn, khiến cho việc thử nghiệm *in vivo* trở nên khó khăn. Chi phí xử lý vẫn còn quá cao để có thể áp dụng những kỹ thuật này vào mục đích thương mại, mặc dù chúng có vẻ hợp lý về mặt khoa học.

Phương pháp sử lý vi sinh

Đã có một số mối quan tâm mới và mạnh mẽ hơn trong việc sử dụng nấm để tăng khả năng tiêu hóa vật liệu dạng sợi cho động vật nhai lại. Bởi vì các loại nấm mục nát mềm, mục trắng và mục nâu thường tấn công gỗ nên người ta đưa ra giả thuyết rằng chúng có thể phá vỡ phần thức ăn điển hình khó tiêu hóa ở dạ cỏ, do đó có khả năng làm tăng khả năng tiêu hóa của chất xơ. Tuy nhiên, vật liệu gỗ bị phân hủy bởi nấm mục nát nâu chỉ xảy ra ở mức cellulose, trong khi nấm thối mềm chỉ tấn công vật liệu có độ ẩm cao với hàm lượng lignin thấp, còn nấm mục nát trắng sử dụng các enzyme phân hủy cellulose và phân giải lignin (Goodell và cs., 2008). Nayan và cs. (2018) đã ủ rơm lúa mì với 32 chủng nấm mục trắng trong 7 tuần bằng hệ thống sản xuất khí *in vitro*. Họ kết luận rằng các chủng *Ceriporiopsis subvermispora* có tiềm năng cao để cải thiện khả năng phân hủy dạ cỏ, tiếp theo là các chủng *Lentinula edodes* và *Pleurotus eryngii*. Tuyên và cs. (2013) đã so sánh hiệu quả của *Ceriporiopsis subvermispora*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus eryngii* và *Pleurotus ostreatus* để phân hủy thân cây ngô, rơm rạ,

lá cọ dầu và bã mía trong thời gian ủ *in vitro* lên đến 6 tuần. Họ báo cáo các kết quả không nhất quán, ví dụ: tổng sản lượng khí của thân cây ngô không bị ảnh hưởng bởi bất kỳ chủng nấm nào, *C. subvermispora* và *L. edodes* đã tăng tổng sản lượng khí từ bã mía lên 65%–71%, nhưng *P. eryngii* và *P. ostreatus* lại giảm tăng 22%–50%. Vương và cs. (2021) đã thử nghiệm khả năng hoạt động của 4 loài *Pleurotus* spp. nấm (*P. diamor*, *P. eryngii*, *P. sajor-caju* và *P. citrinopileatus*) để cải thiện khả năng tiêu hóa của thân cây ngô. Họ kết luận rằng *P. eryngii* và *P. sajor-caju* đã cải thiện giá trị dinh dưỡng của thân cây ngô cho động vật nhai lại, nhưng họ cũng nêu bật một số điểm không nhất quán. Hầu hết các đánh giá về tiền xử lý thức ăn bằng nấm đều được tiến hành trong điều kiện *in vitro* và đã đưa ra các kết quả không nhất quán. Không rõ liệu sự không nhất quán là do các chủng khác nhau, thành phần cơ chất, ủ trong ống nghiệm hay phương pháp đánh giá khả năng tiêu hóa. Các phương pháp khác nhau để đánh giá khả năng thu hồi các thành phần CW sau khi ủ bằng enzyme nấm có thể cho kết quả khác nhau. Ví dụ, Nayan và cs. (2019) chỉ ra rằng Van Soest's và cs. (1991) phương pháp xác định thành phần sợi chỉ chiếm phần cứng đầu; do đó, cung cấp đánh giá tốt hơn về khả năng tiêu hóa dạ cỏ, trong khi phân tích monosaccharide kết hợp và nhiệt phân kết hợp với sắc ký khí bằng phép đo phổ khối sẽ chính xác hơn để đánh giá những thay đổi đối với CW. Công việc bổ sung được đảm bảo, nhưng thử nghiệm tại chỗ và *in vivo* phải được tiến hành song song với nghiên cứu *in vitro*.

Phương pháp sử lý bằng enzyme

Phương pháp sử dụng enzyme đã phát triển hơn đáng kể khi so sánh với các phương pháp khác, bao gồm sự hiểu biết tốt hơn về phương thức hoạt động, sự kết hợp enzyme và các enzyme polysaccharide không phải tinh bột khác nhau (Bedford và Partridge, 2010; Bedford và cs., 2022). Mặc dù phần lớn sự phát triển là để nuôi động vật không nhai lại (gia cầm và lợn), nhưng một số sự mở cửa đang diễn ra ở lĩnh vực động vật nhai lại (Barletta, 2010; Evans và Irving, 2022). Đối với động vật nhai lại, nguyên tắc sử dụng enzyme ngoại sinh là để tăng khả năng tiêu hóa các chất dinh dưỡng trong khẩu phần, đặc biệt là chất xơ, do tốc độ phân hủy (kd) gần với tốc độ phân hủy (kp), dẫn đến khoảng 50% được lên men hiệu quả trong dạ cỏ. Rosser và cs. (2022) đã thảo luận về một số cơ hội gần đây để sử dụng enzyme ngoại sinh từ *Aspergillus* spp. và *Trichoderma* spp. nhằm nâng cao hiệu quả chăn nuôi động vật nhai lại. Hai nghiên cứu phân tích tổng hợp nhằm mục đích điều tra tác động của các enzyme tiêu sợi ngoại sinh đến năng suất của động vật nhai lại đã báo cáo rằng sự không nhất quán về hiệu quả của các sản phẩm này là do sai sót trong công thức và liều lượng enzyme, chất nền mục tiêu không chính xác và các giai đoạn sản xuất của động vật (Arriola và cs., 2017; Tirado-González và cs., 2018). Trên thực tế, hoạt động tối ưu của enzyme phân hủy chất xơ ngoại sinh phải phù hợp với nhiệt độ và độ pH trong dạ cỏ để tăng hiệu quả của nó (Rosser và cs., 2022). Đối với bò sữa tiêu thụ chế độ ăn nhiều thức ăn thô xanh, năng suất và thành phần sữa được cải thiện khi kết hợp cellulase và xylanase (tỷ lệ 1:4 đến 1:1) được sử dụng với khẩu phần dựa trên cây họ đậu, nhưng đối với khẩu phần ăn cỏ, chỉ bổ sung xylanase là đủ để cải thiện năng suất và thành phần sữa (Tirado-González và cs., 2018). Tương tự, đối với bò thịt, sự kết hợp cellulase và xylanase giúp cải thiện tăng trọng trung bình hàng ngày, lượng chất khô hấp thụ và chuyển đổi thức ăn (Tirado-González và cs., 2018). Kết luận từ hai phân tích tổng hợp này (Arriola và cs., 2017; Tirado-González và cs., 2018) có phần khác nhau. Các kỹ thuật mới với các ứng dụng đầy hứa hẹn để thu được các enzyme phân hủy chất xơ ngoại sinh hiệu quả hơn bao gồm 1) phát hiện enzyme mới bằng công nghệ dựa trên axit nucleic, 2) xác

định tốt hơn các enzyme hoạt động carbohydrate (được gọi là CAZymes) bằng kỹ thuật metagenomics, 3) cấu trúc xenlulo có khả năng về việc tăng cường sức mạnh tổng hợp nhờ các enzyme sắp xếp tốt hơn trong giàn giáo, 4) cải thiện khả năng cố định enzyme để tăng cường tính ổn định của nó trong dạ cỏ và 5) các kỹ thuật chuyển gen để tạo ra vi khuẩn hoặc nấm sản xuất quá nhiều enzyme phân giải xenlulo (Rosser và cs., 2022). Bất kể phương pháp cải tiến nào được sử dụng để sản xuất enzyme phân giải chất xơ ngoại sinh, việc quản lý chất bổ sung không đầy đủ (ví dụ: bảo quản và cho ăn) có thể khiến sản phẩm trở nên trở hoặc giảm hiệu quả (Flint và cs., 2008; Adesogan và cs., 2014; Meale và cs., 2014). Chế phẩm ủ chua, chủ yếu từ các giống *Lactobacillus* (*buchneri*, *plantarum*, *reuteri*, và *casei*)—vi khuẩn axit lactic lên men dị thể bắt buộc—đã được sử dụng để tăng độ ổn định hiếu khí và bảo quản nguyên liệu ủ chua, nhưng chưa có tác dụng được xác nhận đối với năng suất vật nuôi (Muck và cs., 2018). Tuy nhiên, khi kết hợp với các enzyme ngoại sinh, hỗn hợp cellulase và hemicellulase để giải phóng carbohydrate CW thực vật cho vi khuẩn axit lactic lên men chúng thành axit lactic và gần đây hơn là protease để thủy phân ma trận protein, một số nghiên cứu đã báo cáo hiệu suất chăn nuôi tăng lên (Muck và cs., 2018).

Vi khuẩn biến đổi gen

Mục đích của vi khuẩn phân hủy chất xơ bằng kỹ thuật di truyền, chẳng hạn như *Ruminococcus* và *Fibrobacter*, là tối ưu hóa hoạt động phân hủy chất xơ của chúng bằng cách có hỗn hợp chính xác các enzyme phân hủy chất xơ để tối đa hóa quá trình phân hủy carbohydrate CW của thực vật. Gobius và cs. (2002) đã kết hợp gen xylanase từ nấm *Neocallimastix patriciarum* vào *Buyrivibrio fibrisolvens* với khả năng phân hủy chất xơ tăng 28,7%. Thử nghiệm hiện tại sử dụng vi khuẩn phân hủy chất xơ biến đổi gen đã được tiến hành thành công trong điều kiện *in vitro*, có thể là do việc sản xuất quy mô lớn vẫn còn hạn chế (Soltan và Patra, 2021). Ngoài ra, khả năng tồn tại lâu dài của vi khuẩn biến đổi gen là một rào cản quan trọng trong việc phát triển các vi sinh vật biến đổi gen này vì dạ cỏ là một hệ sinh thái năng động và nếu nguồn tài nguyên được sử dụng, vi khuẩn có thể không tồn tại. Ziemer và cs. (2002) chỉ ra rằng *Bacteroides thetaiotaomicron* BTX, một loại vi khuẩn đại tràng có chứa gen xylanase từ *Prevotella ruminicola* (Whitehead và cs., 1991), tồn tại trong các thiết bị lên men trong 144 giờ sau khi ủ và quan sát thấy sự phân hủy chất xơ tăng lên. Hơn nữa, có lẽ một hạn chế nghiêm trọng hơn là sự thiếu hiểu biết về những hậu quả không lường trước được của việc sử dụng vi khuẩn phân hủy chất xơ biến đổi gen như vậy bên ngoài các thử nghiệm có kiểm soát trong phòng thí nghiệm.

Vẫn còn nhiều cơ hội để tăng khả năng tiêu hóa CW thực vật trong dạ cỏ. Tuy nhiên, một số hạn chế đã hạn chế sự tiến bộ của chúng tôi một phần vì 1) thiếu hiểu biết về hệ thống dạ cỏ phức tạp, 2) không có hệ thống chuyển gen nào để ghi lại tiến trình của các vi khuẩn phân hủy sợi chính, 3) vi khuẩn phân hủy sợi và vi sinh vật nấm tồn tại khi nào và như thế nào trong dạ cỏ, 4) các enzyme glycolyl hydrolase cần được xử lý để cải thiện sự phân hủy chất xơ và 5) kiến thức chưa đầy đủ của chúng ta về bộ gen chức năng của sự phân hủy chất xơ (Krause và cs., 2003).

Phương pháp đánh giá thành tế bào và chất xơ

Đánh giá đầy đủ về CW thực vật càng trở nên quan trọng hơn do mối quan hệ giữa lượng khí thải mêtan (CH₄) của động vật nhai lại và hiện tượng nóng lên toàn cầu (Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp, 2021; Tedeschi và cs., 2022). Quá trình lên men chất xơ thường tạo ra nhiều

axit axetic hơn, dẫn đến sản lượng CH₄ trên mỗi đơn vị thức ăn lớn hơn so với chất nền không có chất xơ (Hegarty và Gerdes, 1999; Janssen, 2010). Do đó, việc xác định chính xác chất xơ là một bước quan trọng trong việc cải thiện khả năng dự đoán lượng khí thải CH₄ của động vật nhai lại và phát triển các cách để giảm lượng khí thải CH₄ (Beauchemin và cs., 2022; Tedeschi và cs., 2022). Ngoài việc thân thiện với môi trường và nhạy cảm, các phương pháp đánh giá phải đáng tin cậy (có thể lặp lại giữa các phòng thí nghiệm), chính xác (ít hoặc không có sự khác biệt giữa các lần chạy trong phòng thí nghiệm), khả thi (các phòng thí nghiệm có thể thực hiện thành công các xét nghiệm bằng cách sử dụng thiết bị và phương pháp tiêu chuẩn), tầm thường (có tay nghề cao, không cần lao động), nhanh chóng (các xét nghiệm có thể được thực hiện kịp thời) và tiết kiệm chi phí (lợi ích thay thế chi phí) (Tedeschi và Fox, 2020).

Phương pháp trọng lượng

Các thành phần thiết yếu của CW thực vật có thể được xác định bằng phương pháp trọng lượng thông qua các phương pháp của Hiệp hội các nhà hóa học phân tích chính thức (AOAC, 2012), chẳng hạn như chất khô (DM, phương pháp AOAC 967.03), OM (sự khác biệt giữa DM và tro), OM dạng sợi như aNDFom được phân tích bằng dung dịch amylase đã chuẩn hóa và Na₂SO₃ (phương pháp AOAC 2002.04) (Mertens, 2002), chiết xuất sợi tẩy rửa bằng axit đã hiệu chỉnh tro (ADFom) (Möller, 2009), OM dưới dạng lignin sau khi chiết bằng axit sulfuric (sa) trên cặn chất tẩy axit (gọi tắt là lignin (sa)) (Möller, 2009), protein thô (Thiex và cs., 2002), chất béo thô (Thiex và cs., 2003) và tro dư (phương pháp AOAC 942.05) sau khi đốt chất dễ bay hơi chất rắn như OM.

Phân tích tuần tự trong khuôn khổ hệ thống chất tẩy rửa (Van Soest và cs., 1991; Van Soest, 2015) mang lại ba thành phần quan trọng của CW thức ăn thô xanh ban đầu được xếp hạng như sau: [aNDFom] > [ADFom] > [lignin (sa)]. Phần tro của hệ thống phân tích gần có chứa khoáng chất và silica với nồng độ khác nhau tùy theo loài thực vật (Van Soest, 1994), tức là. *Panicum virgatum* L. (cỏ kiếm) có chứa phytoliths silic (Ball và Brotherson, 1992). Silicon cần thiết cho sự phát triển của lúa (*Oriza sativa* L.) và tác động tiêu cực đến khả năng hấp thụ và tiêu hóa của rom rạ, nhưng kết quả rất khác nhau và có mối tương quan kém giữa các giống lúa (Van Soest, 2006; Lin và cs., 2016). Việc chiết chất xơ có tính tẩy axit (ADF) không hòa tan được tất cả các khoáng chất thu được trong phần tro. Cần phải hiệu chỉnh để đảm bảo độ tái lập và độ đặc hiệu tốt hơn của quy trình ND và chất tẩy axit (AD) để tách chất lignocellulose hữu cơ và sau đó là lignin (sa). Lý do trước đây chứng tỏ sự cần thiết phải báo cáo NDF, ADF và lignin trên cơ sở OM (tức là không bao gồm tro dư), trong khi việc tiêu chuẩn hóa các quy trình làm tăng tính đặc hiệu và khả năng tái lập của các phương pháp tham chiếu (Mertens, 2002; Möller, 2009; Silva và cs., 2018).

Quang phổ cận hồng ngoại

Quang phổ cận hồng ngoại (NIRS) là kết quả của công trình tiên phong của Sir Frederick Herschel, người đã nghiên cứu bức xạ hồng ngoại khi truyền ánh sáng mặt trời qua lăng kính và đo nhiệt độ của nó. Quang phổ phổ ra đời vào thế kỷ 19, và vào khoảng những năm 1960 (Shenk và Westerhaus, 1994), các nhà khoa học bắt đầu áp dụng các kỹ thuật đo quang phổ do chúng được tự động hóa trong phòng thí nghiệm và có mối tương quan cao với một số thành phần thức ăn thô xanh được đo bằng hóa học ướt (Norris và cs., 1976). Đối với các hệ thống

chăn thả, NIRS mang lại những cơ hội không tồn tại hoặc rất khó đạt được thông qua hóa học ướt, bao gồm cả chất lượng khẩu phần ăn hàng ngày được tiêu thụ bởi động vật chăn thả (Lippke và Barton, 1988; Stuth và cs., 1991, 2003). Tuy nhiên, những hạn chế cũng tồn tại. Các phương pháp nhanh hơn có thể kém tin cậy hơn và có xu hướng cần phải xác nhận và hiệu chỉnh chéo liên tục (Stuth và cs., 1991). Kính hiển vi Raman với sự kích thích bằng laser là một kỹ thuật quang phổ mới độc đáo (Landsberg và Imandelstam, 1928; Raman và Krishnan, 1928; Delhay và Dhamelincourt, 1975). Nó dựa trên việc đo mức độ tổn thất năng lượng do tán xạ ánh sáng liên quan đến dấu vân tay của các phân tử hóa học khác nhau, cho phép nhận dạng và tiết lộ sự phân bố không gian của chúng trong mẫu ở quy mô micromet hoặc nanomet (Gerald, 2020). Quang phổ Raman có độ phân giải không gian rộng hơn NIRS và có thể hoạt động trong nước và thủy tinh (De Gelder và cs., 2007). Nó cũng yêu cầu ít bước chuẩn bị mẫu hơn, giúp sử dụng nhanh hơn và dễ dàng hơn trong điều kiện hiện trường. Ví dụ, thiết bị quang phổ Raman cầm tay đã được sử dụng cùng với các phương pháp đo hóa học để xác định hàm lượng carbohydrate, chất xơ, carotenoid và protein trong hạt ngô chính xác như dự đoán của NIRS (Krimmer và cs., 2019). Quang phổ Raman đã hỗ trợ xác định kiểu gen của khoai tây chứa nhiều tinh bột (Morey và cs., 2020) và đậu phộng (Farber và cs., 2020) cũng như xác định chất lượng dinh dưỡng của bơ kem ngọt của bò sữa được cho ăn các chế độ ăn hỗn hợp tổng hợp khác nhau (Gómez -Mascaraque và cs., 2020). Thật không may, tài liệu dường như khan hiếm hoặc không có về việc sử dụng quang phổ Raman để xác định thành phần dinh dưỡng của thức ăn thô xanh, chủ yếu là đồng cỏ bao gồm các loại thức ăn thô xanh hỗn hợp như cỏ và cây họ đậu. Raman ban đầu được sử dụng để xác định vật liệu xenlulo vào đầu những năm 1970 và lignin vào giữa những năm 1980 (Agarwal, 2019). Phương pháp Fourier Transform Raman 1064nm đã được sử dụng để phát hiện các đặc tính cấu trúc và thành phần của nguyên liệu thực vật (cellulose, xylan, lignin và pectin) với kết quả khả quan (Agarwal, 2014).

Dự đoán giá trị dinh dưỡng của thành tế bào

Có nhiều cách để ước tính giá trị dinh dưỡng của CW (tức là chất xơ), nhưng chúng yêu cầu dữ liệu chính xác về khả năng tiêu hóa của CW. Thật không may, khả năng tiêu hóa không phải là hằng số vì nó phụ thuộc vào tỷ lệ phân hủy của khẩu phần ăn (tức là kd, h-1) trong dạ cỏ và tỷ lệ phân hủy của nó (tức là kp, h-1) từ dạ cỏ. Doanh thu (h) là thuật ngữ dùng để chỉ thời gian trung bình mà khẩu phần còn lại trong dạ cỏ chưa được tiêu hóa; tốc độ biến mất một phần càng nhanh (tức là kd + kp), tốc độ quay vòng càng ngắn. Nếu tìm kiếm khả năng tiêu hóa tổng GIT thì khả năng tiêu hóa cũng phụ thuộc vào tốc độ phân hủy (hoặc khả năng tiêu hóa một phần) trong ruột (tức là ruột già đối với các hợp chất dạng sợi) và thời gian vận chuyển chất tiêu hóa. Trong 70 năm, cộng đồng khoa học đã cho rằng dạ cỏ và ruột già có khả năng sản xuất VFA, quần thể vi sinh vật và một số con đường lên men tương tự nhau nhưng có những khác biệt như thời gian vận chuyển ở ruột sau ngắn hơn so với dạ cỏ, không có nấm kỵ khí và động vật nguyên sinh và các chất nền khác nhau để lên men (Tedeschi và Fox, 2020). Tỷ lệ tiêu hóa chất xơ trong dạ cỏ là khoảng 50%–60%, tùy thuộc vào mức độ chế biến. Khả năng tiêu hóa ở ruột sau của chất xơ thoát ra khỏi dạ cỏ có thể thay đổi từ 10% (Huhtanen và cs., 2006a) đến khoảng 20% (Sniffen và cs., 1992; Huhtanen và Vanhatalo, 1997). Tuy nhiên, câu hỏi vẫn là: Động vật nhai lại được hưởng lợi bao nhiêu từ khả năng tiêu hóa chất xơ ở ruột sau?

Tỷ lệ tiêu hóa

Như đã thảo luận ở trên, lignin chịu trách nhiệm về mức độ tiêu hóa của CW, mặc dù tồn tại các báo cáo mâu thuẫn về mối tương quan với ADF ($r^2 > 0,86$) so với lignin (Lippke, 1980). Mối quan hệ thực nghiệm giữa khả năng tiêu hóa CW và ADF có thể bị ảnh hưởng bởi loại và tỷ lệ lignin được phát hiện trong phân tích ADF. Phương pháp tiêu chuẩn vàng để xác định khả năng tiêu hóa ở động vật nhai lại là thử nghiệm *in vivo* (Schneider và Flatt, 1975). Đây là phương pháp được sử dụng để xác định tổng tiêu hóa chất dinh dưỡng hiện đang được sử dụng để ước tính giá trị dinh dưỡng của thức ăn, bao gồm năng lượng tiêu hóa, năng lượng chuyển hóa và năng lượng rỗng cho hầu hết các hệ thống dinh dưỡng của động vật nhai lại ở Bắc Mỹ (Cannas và cs., 2004; Fox và cs., 2004; Hội đồng Nghiên cứu Quốc gia, 2007; Tedeschi và cs., 2010; NASEM, 2016; Tedeschi và Fox, 2020; NASEM, 2021). Vì vậy, cũng có tầm quan trọng của việc cải thiện độ chính xác và độ chính xác của phép xác định.

Tuy nhiên, do những hạn chế về mặt kinh tế của các thí nghiệm *in vivo*, cả kỹ thuật *in situ* và *in vitro* thường được áp dụng và sử dụng như một giải pháp thay thế cho việc xác định đặc tính của thức ăn chăn nuôi. Các kỹ thuật *in situ* và *in vitro* phải được đánh giá để xác nhận tính đầy đủ và độ tin cậy của chúng so với phương pháp *in vivo*. Trong một phân tích tổng hợp so sánh các phương pháp *in situ* và *in vitro* để ước tính khả năng tiêu hóa chất xơ trung tính (NDFD) với phương pháp *in vivo*, Krizsan và cs. (2013) kết luận rằng phương pháp *in situ* đã đánh giá thấp NDFD *in vivo*, đặc biệt đối với thức ăn chăn nuôi khó tiêu hóa và có thể là do mất mẫu trong quá trình ủ và giảm hoạt động của vi sinh vật. Do đó, phương pháp *in vitro* có thể phù hợp hoặc phù hợp hơn phương pháp tại chỗ để ước tính NDFD.

Có nhiều kỹ thuật *in vitro* khác nhau, mỗi kỹ thuật đều có ưu điểm và nhược điểm (Vinyard và Faciola, 2022), bao gồm cả hệ thống nuôi cấy theo đợt (Pell và Schofield, 1993; Theodorou và cs., 1994; Mauricio và cs., 1999; Yáñez-Ruiz và cs., 2016) đến các máy lên men bán liên tục như RUSITEC (Czerkawski và Breckenridge, 1977) hoặc hệ thống nuôi cấy liên tục dòng kép (Hoover và cs., 1976). Tilley và Terry (1963) đã phát triển phương pháp *in vitro* hai giai đoạn đã truyền cảm hứng cho hầu hết các hệ thống nuôi cấy hàng loạt *in vitro*. Nguyên tắc cốt lõi của nó là mô phỏng các điều kiện dạ cỏ (nhiệt độ, pH và vi khuẩn kỵ khí) bằng cách sử dụng vật liệu cấy vào dạ cỏ (tức là dịch dạ cỏ đã được lọc), một môi trường đệm để tránh sự thay đổi pH đáng kể và cung cấp các chất dinh dưỡng cần thiết cho vi khuẩn và chất nền hoặc phương pháp xử lý cần được đánh giá.

Kỹ thuật sản xuất khí *in vitro* (IVGP) đã có nhiều lần hiện đại hóa kể từ khi nó được giới thiệu lần đầu vào cuối những năm 1980. Menke và Steingass (1988) xác định rằng tỷ lệ tiêu hóa thức ăn ước tính từ khí thoát ra trong quá trình lên men *in vitro* chính xác hơn phương pháp hai giai đoạn của Tilley và Terry (1963) và các kỹ thuật tiêu hóa tương tự. Kỹ thuật IVGP đã được sử dụng rộng rãi để đánh giá thức ăn của động vật nhai lại, đặc biệt là để ước tính khả năng tiêu hóa chất xơ. Hơn nữa, do những khó khăn và phức tạp trong việc định lượng lượng khí thải CH_4 ở gia súc chăn thả (Tedeschi và cs., 2022), lựa chọn xác định nó bằng hệ thống *in vitro* trở thành một giải pháp thay thế thú vị, đặc biệt là để sàng lọc tác động của các phương pháp xử lý khác nhau như tannin, thực vật. chất chuyển hóa thứ cấp và tinh dầu để giảm quá trình sinh metan (Tedeschi và cs., 2021). Mặc dù Danielsson và cs. (2017) nhận thấy rằng việc sản xuất CH_4 từ kỹ thuật IVGP bị đánh giá thấp hơn một chút so với phương pháp *in vivo*, các tác giả đã quan sát thấy mối tương quan cao ($r^2 = 0,94$) với CH_4 đo

được trong cơ thể và kết luận rằng việc sản xuất CH₄ ở động vật nhai lại có độ chính xác và độ chính xác hợp lý có thể đo được bằng kỹ thuật IVGP. Ngược lại, Macome và cs. (2017) đã báo cáo mối tương quan kém ($r^2 = 0,16$) giữa sản xuất CH₄ in vitro và in vivo từ ngô ủ chua. Tuy nhiên, kết quả thường ngụ ý rằng kỹ thuật IVGP cho thấy độ chính xác và độ chính xác giảm khi đánh giá thức ăn dạng đậm đặc (Danielsson và cs., 2017; Macome và cs., 2017).

Mặc dù kỹ thuật IVGP có thể được điều chỉnh cho phù hợp với bất kỳ phòng thí nghiệm nào, nhưng việc tiêu chuẩn hóa phương pháp sẽ cải thiện độ chính xác của ước tính khả năng tiêu hóa chất xơ và cho phép so sánh kết quả giữa các phòng thí nghiệm một cách phù hợp hơn. Tuy nhiên, những sửa đổi dựa trên công nghệ mới hoặc tiên tiến là cần thiết để tiếp tục cải tiến phương pháp phòng thí nghiệm.

Vật liệu cây dạ cỏ

Các đặc điểm của vật liệu cây dạ cỏ được sử dụng cho IVGP, chẳng hạn như loài động vật cho, chế độ ăn của động vật cho và thời gian thu thập dịch dạ cỏ, tạo thành nguồn biến đổi đáng kể giữa các phòng thí nghiệm. Mặc dù lý tưởng nhất là sử dụng dịch dạ cỏ cho lên men *in vitro* cùng loài với loài mục tiêu nhưng không phải lúc nào cũng khả thi về mặt kinh tế. Điều này đặt ra vấn đề về khả năng có sự khác biệt trong phản ứng sản sinh CH₄ giữa các loài động vật khác nhau (Yáñez-Ruiz và cs., 2016). Khi so sánh IVGP và khả năng tiêu hóa của thức ăn thô xanh khi sử dụng chất cây dạ cỏ từ gia súc, cừu và dê, Aderinboye và cs. (2016) đã quan sát thấy thời gian trễ ngắn hơn và tốc độ lên men cao hơn khi ủ với chất cây dạ cỏ từ gia súc. Tương tự, Bueno và cs. (2015) đã báo cáo rằng khả năng phân hủy trong ống nghiệm và tổng sản lượng khí thấp hơn khi thức ăn thô xanh được lên men với chất cây dạ cỏ từ cừu và dê so với trâu nước, bò sữa và bò thịt. Ngoài các loài động vật hiến tặng, chế độ ăn của động vật hiến tặng được sử dụng cho IVGP có thể dẫn đến các kết quả khác nhau trong và giữa các phòng thí nghiệm. Khi đánh giá ảnh hưởng của chế độ ăn của vật nuôi đến các thông số IVGP, Nagadi và cs. (2000) kết luận rằng chế độ ăn của động vật hiến tặng đã thay đổi nồng độ vi sinh vật trong dịch dạ cỏ và cuối cùng làm thay đổi đặc tính sản xuất khí. Aderinboye và cs. (2016) không phát hiện ra sự khác biệt giữa các loài động vật hiến tặng về khả năng tiêu hóa chất khô trong ống nghiệm của thức ăn thô xanh, nhưng các động vật hiến tặng được cho ăn cùng một chế độ ăn, do đó có thể có quần thể và hoạt động của vi sinh vật dạ cỏ tương tự nhau. Khi so sánh khả năng tiêu hóa *in vitro* của chất nền có hàm lượng thức ăn thô xanh và nồng độ cao với vật liệu cây từ cừu được cho ăn chế độ ăn nhiều thức ăn thô xanh hoặc có hàm lượng đậm đặc cao, Martínez và cs. (2010) đã quan sát thấy khả năng tiêu hóa của chất nền có nồng độ cao thấp hơn khi được ủ với chất cây có nồng độ cao, nhưng chế độ ăn của động vật cho vật nuôi không có tác dụng đối với chất nền có hàm lượng thức ăn thô xanh cao. Tuy nhiên, khả năng tiêu hóa NDFD và DM thực sự trong ống nghiệm của các chất nền có nồng độ cao cao hơn khi ủ với cỏ khô cộng với chế phẩm đậm đặc so với khi ủ với cỏ linh lăng cộng với chế phẩm cô đặc (Martínez và cs., 2010). Cuối cùng, sẽ là lý tưởng khi sử dụng dịch dạ cỏ từ động vật hiến tặng được cho ăn chế độ ăn tương tự với chất nền được lên men để duy trì quần thể vi sinh vật tương tự, nhưng điều này dường như có tầm quan trọng lớn hơn khi lên men chất nền đậm đặc cao.

Thu thập dịch dạ cỏ

Mặc dù có rất ít nghiên cứu đánh giá thời gian thu thập dịch dạ cỏ có thể ảnh hưởng đến quá trình lên men trong ống nghiệm như thế nào, nhưng nó vẫn là một nguồn biến đổi đáng kể do

sự khác biệt tiềm ẩn về quần thể vi sinh vật và hoạt động liên quan đến thời gian cho ăn. Để giảm tính biến thiên, Yáñez-Ruiz và cs. (2016) khuyến cáo nên lấy dịch dạ cỏ ngay trước khi cho ăn. Tuy nhiên, họ đã thừa nhận rằng sự biến đổi giảm đi đạt được để đổi lấy sự đa dạng và hoạt động của vi sinh vật giảm đi. Có thể có lợi nếu ủ dịch dạ cỏ được thu thập ngay sau khi cho vật nuôi ăn để đảm bảo hoạt động đầy đủ của vi sinh vật, nhưng cần nghiên cứu thêm để xác định xem sự khác biệt trong hoạt động của vi sinh vật liên quan đến thời gian cho ăn có dẫn đến sự khác biệt đáng kể về quá trình tiêu hóa chất xơ trong ống nghiệm hay không. .

Môi trường đệm

Phương pháp chuẩn bị mẫu trong ống nghiệm, bao gồm môi trường đệm và áp suất trong khoảng trống của chai, có thể là yếu tố không nhất quán nhất giữa các phòng thí nghiệm nhưng cũng có thể là một trong những yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng đến kết quả lên men trong ống nghiệm. Môi trường đệm được sử dụng cho quá trình lên men trong ống nghiệm để duy trì môi trường thích hợp (tức là độ pH) cho quá trình lên men. Tuy nhiên, khả năng đệm của môi trường có thể không cho phép những dao động về độ pH thường xảy ra trong dạ cỏ. Sau khi đánh giá kỹ thuật IVGP với hai chất đệm *in vitro* thường được sử dụng (McDougall, 1948; Mold và cs., 2005) khác nhau về nồng độ phát và cacbonat, Muetzel và cs. (2014) quan sát thấy không có sự khác biệt trong tổng sản lượng khí, sản xuất axit béo chuỗi ngắn hoặc sản xuất CH₄, nhưng ủ với dung dịch đệm có hàm lượng photphat và cacbonat cao hơn của McDougall (1948) dẫn đến tỷ lệ propionate lớn hơn axetat trong sản phẩm lên men cuối cùng. Khi Patra và Yu (2013) so sánh các nồng độ bicarbonate khác nhau trong môi trường đệm cho quá trình lên men trong ống nghiệm, họ đã quan sát thấy sự gia tăng tuyến tính của NDFD khi nồng độ bicarbonate tăng lên. Vì vậy, họ kết luận rằng nồng độ bicarbonate không được vượt quá 80 mM đối với môi trường đệm *in vitro* để ngăn ngừa sự dao động pH do chuyển đổi bicarbonate thành CO₂ trong quá trình lên men. Tuy nhiên, nồng độ bicarbonate tối ưu trong môi trường đệm có thể liên quan đến lượng lên men và loại cơ chất. Ngoài thành phần của môi trường đệm, tỷ lệ dịch dạ cỏ và đệm là một yếu tố cần cân nhắc liên quan đến việc sản xuất CH₄ trong ống nghiệm. Navarro-Villa và cs. (2011) đã nghiên cứu phản ứng lên men trong ống nghiệm của một số nguyên liệu thức ăn chăn nuôi khi được ủ với các tỷ lệ chất lỏng và đệm dạ cỏ khác nhau. Họ kết luận rằng tỷ lệ 1:2 cho phép giảm độ pH thích hợp trong quá trình ủ và sản xuất CH₄ tăng lên khi tỷ lệ dịch dạ cỏ trong môi trường đệm tăng lên.

Giải phóng áp lực

Thông gió trong hệ thống IVGP được áp dụng để ngăn chặn môi trường đệm hoặc sự tích tụ các sản phẩm lên men cuối cùng làm thay đổi quá trình lên men thông thường. Các hệ thống IVGP sử dụng hệ thống thông gió phải chịu chi phí và nhân công tăng lên cũng như nguồn biến thể tăng lên, nhưng sự tích tụ các sản phẩm lên men cuối cùng trong hệ thống IVGP khép kín có thể ảnh hưởng đến các đặc tính lên men *in vitro* khác. Ví dụ, kết quả từ Qiao và cs. (2015) ngụ ý rằng CO₂ được vi khuẩn sử dụng để tạo metan được cung cấp bởi cả quá trình lên men chất nền và từ bicarbonate trong môi trường đệm, do đó làm cho nồng độ bicarbonate trong môi trường đệm thậm chí còn quan trọng hơn. Cattani và cs. (2014) đã so sánh IVGP sử dụng hệ thống kín hoặc thông hơi và kết luận rằng hệ thống khép kín cung cấp các phép đo chính xác về lượng khí thải CH₄, nhưng các phép đo về tổng lượng khí thải ra không đáng tin cậy do áp suất khí cao vượt quá ngưỡng hoạt động của vi sinh vật.

Mặc dù đã có một số sửa đổi đối với kỹ thuật IVGP, nhưng cần phải tiến hành nghiên cứu sâu hơn để nâng cao và tối ưu hóa phương pháp ước tính khả năng tiêu hóa chất xơ. Hơn nữa, việc áp dụng các sửa đổi đối với phương pháp tiêu chuẩn hóa sẽ cho phép tăng độ chính xác và tính phù hợp khi so sánh kết quả *in vitro* giữa các phòng thí nghiệm.

Vòng quay dạ cỏ

Tốc độ luân chuyển dạ cỏ đồng nghĩa với thời gian lưu trung bình (MRT, h), thời gian trung bình thức ăn tồn tại trong dạ cỏ và có thể được đánh giá bằng cách chia hàm lượng chất khô (kg) trong dạ cỏ cho tỷ lệ chất khô ăn vào (kg/h). (Văn Soest, 1994). Nghịch đảo của doanh thu (hoặc MRT) mang lại tỷ lệ biến mất theo tỷ lệ (h-1), có thể được tính bằng cách tính tổng tỷ lệ suy thoái theo tỷ lệ (tức là kd, h-1) và tốc độ đi qua (tức là kp, h-1) cho lần đầu tiên. -hệ thống tuyến tính thứ tự. Do đó, MRT trở thành $1/(kd+kp)$, phương trình [1] có công thức vi phân và phương trình [2] có giải pháp phân tích về chất dinh dưỡng trong dạ cỏ. Đối với hệ thống tuyến tính bậc nhất, giả sử kd là 15%/h (tức là 0,15 h-1) và kp là 5%/h (tức là 0,05 h-1), tỷ lệ biến mất phân số sẽ là 20%/h (tức là 0,2 h-1), dẫn đến MRT là 5 giờ (tức là 1/0,2).

$$S' = -k \times S \quad [1]$$

$$S_t = S_0 \times e^{-k \times t} \quad [2]$$

Trong đó S là lượng chất nền (hoặc khẩu phần ăn) trong dạ cỏ; k là tỷ lệ biến mất một phần, h-1; và t là thời gian trong dạ cỏ, h.

Khoảng 63,2% chất dinh dưỡng sẽ biến mất khỏi dạ cỏ khi đạt đến mức MRT, tức là 5 giờ sau khi tiêu thụ khẩu phần. Điều này là do, tại MRT, thời gian trong phương trình. [2] trở thành $1/k$ (tức là nghịch đảo của tốc độ biến mất), dẫn đến S_t bằng $S_0 \times 0,368$. Chỉ có 36,8% chất dinh dưỡng còn lại trong dạ cỏ; do đó, 63,2% đã biến mất. Tương tự, để biết khi nào 50% chất dinh dưỡng sẽ biến mất, chúng ta giả sử rằng S_t bằng $S_0 \times 0,5$ và sắp xếp lại phương trình. [2], sẽ cho kết quả là $t = 0,693/k$. Do đó, với ak bằng 0,2 thì t sẽ là 3,46 h. Do đó, mặc dù MRT xảy ra vào lúc 5 giờ, một nửa chất dinh dưỡng sẽ biến mất vào lúc 3,46 giờ với tỷ lệ biến mất một phần là 20%/h.

Đối với các hệ thống phức tạp hơn (ví dụ: bậc hai trở lên) cũng chứa một nhóm khó tiêu, thường là trường hợp của CW, cần có các mô hình phụ thuộc vào thời gian để ước tính MRT dạ cỏ (Vieira và cs., 2008a, 2008b, 2020). Nhiều yếu tố ảnh hưởng đến tốc độ luân chuyển CW trong dạ cỏ (ví dụ: chuyển động của dạ cỏ, sự nhai lại, độ nổi, khả năng chống nghiền và giảm kích thước hạt), cuối cùng dẫn đến những thay đổi về khả năng tiêu hóa CW (Kennedy và Doyle, 1993; Mertens, 1993). Do đó, một số mô hình toán học đã được đề xuất để mô tả dữ liệu về quá trình tiêu hóa và di chuyển chất xơ, đưa ra các giả định chặt chẽ về yếu tố nào ảnh hưởng đến khả năng tiêu hóa CW và nhiều khái niệm khác nhau về cách cảm nhận chất xơ (Mertens, 2005). Hầu hết các công thức toán học thuộc lĩnh vực điện ảnh, vì chúng tích hợp dữ liệu cho mục đích phân tích và dự đoán mà không tổng hợp các khái niệm và dữ liệu bên ngoài ranh giới dữ liệu (Tedeschi và Fox, 2020). Tỷ lệ vượt qua thường đạt được bằng cách sử dụng phương pháp đánh dấu đơn hoặc kép (ví dụ: đất hiếm) (Faichney, 2005).

Mặt khác, Seo và cs. (2007, 2009) đã phát triển các mô hình cơ học để dự đoán kp chất lỏng và chất rắn tương ứng từ dạ cỏ bằng cách sử dụng các cơ chế hóa lý đã biết tác động đến dòng tiêu hóa. Các tác giả đã đề xuất hai bề (lớn cho kích thước hạt > 1,18 mm và nhỏ cho các hạt < 1,18 mm) và ba ngăn (vùng không thể thoát ra ở dạ cỏ lưng, bề thoát ra ở dạ cỏ bụng và bề

thoát ra trong lưới) dựa trên trọng lượng riêng chức năng (FSG) của hạt. Dòng chảy của các hạt xảy ra giữa hai lần co thắt sơ cấp liên tiếp của lưới, do sự chênh lệch áp suất giữa lưới và omasum (Wyburn, 1980). Trong đánh giá sơ bộ của họ, Seo và cs. (2009) chỉ ra rằng mô hình của họ giải thích được từ 66% (n = 41) đến 86% (n = 16) sự biến đổi của kp thức ăn thô xanh, tùy thuộc vào loại thức ăn thô xanh được sử dụng. Họ cũng nhấn mạnh rằng FSG dự đoán hạt kp hiệu quả hơn so với chỉ kích thước hạt. Trên thực tế, FSG và kích thước hạt đã được công nhận là các biến số quan trọng ảnh hưởng đến dòng hạt ra khỏi dạ cỏ trong một thời gian khá dài (King và Moore, 1957), nhưng việc đánh giá FSG đã ngăn cản việc sử dụng nó trong thực tế và chỉ có kích thước hạt là được đo trong hầu hết các thử nghiệm, có khả năng làm giảm khả năng của chúng tôi trong việc có được bức tranh hoàn chỉnh về ảnh hưởng của FSG của CW trong việc xác định kp một cách đầy đủ (Kennedy, 2005).

Mặc dù kích thước hạt tương đối dễ xác định hơn FSG, nhưng vẫn có một số chỉ trích về việc sử dụng phương pháp nào: sàng khô hay sàng ướt (Poppi và cs., 1985; Maulfair và Heinrichs, 2012), rung dọc và rung ngang (Mertens, 1986, 1997) và tần suất lắc (Kononoff và cs., 2003), nguyên liệu gốc so với nguyên liệu xay, hoặc nguyên liệu khô so với nguyên liệu được cho ăn. Một số mô hình toán học đã được phát triển để dự đoán kích thước hạt trung bình dựa trên phương pháp phân bố Rosin–Rammler (Vesilind, 1980), nhưng nó có ứng dụng hạn chế trong dinh dưỡng động vật nhai lại.

KẾT LUẬN

Các nguyên tắc cơ bản về việc sử dụng CW thức ăn thô xanh của động vật nhai lại đã được phác thảo trong hơn 50 năm. Tuy nhiên, trong 30 năm qua, chúng ta đã thu được kiến thức sâu rộng về cấu trúc và tổng hợp các thành phần quan trọng của CW thực vật, các cơ chế và phương pháp làm thay đổi khả năng tiêu hóa CW cũng như các kỹ thuật đánh giá để định lượng các thành phần CW cũng như khả năng lên men của chúng. Kiến thức như vậy thậm chí còn cho phép đưa ra khuyến nghị về tầm quan trọng của chất xơ trong chế độ ăn để cải thiện không chỉ năng suất vật nuôi mà còn cả phúc lợi. Các lĩnh vực kinh tế khác đã đạt được những tiến bộ có ý nghĩa trong việc biến đổi lignin thực vật và các vi sinh vật phân hủy lignin, đặc biệt là ngành công nghiệp nhà máy giấy và nhiên liệu sinh học, và dinh dưỡng động vật có thể được hưởng lợi rất nhiều từ kinh nghiệm của họ. Các nghiên cứu sơ bộ về sinh tổng hợp lignin đã dẫn đến việc xác định các enzyme chủ chốt có thể được điều chỉnh tăng hoặc giảm hoặc loại bỏ để điều khiển sự hình thành lignin. Nhiều nghiên cứu gần đây đã tập trung vào việc thay thế các monolignols truyền thống bằng các homopolyme dễ phân hủy hoặc phân hủy hơn. Cộng đồng khoa học động vật có thể có cơ hội áp dụng các kỹ thuật như vậy để cải thiện khả năng tiêu hóa của CW mà không cần xử lý trước thức ăn, nhưng chúng ta vẫn cần tìm hiểu xem liệu những đột biến hoặc thực vật chuyển gen này có tồn tại và tái tạo ở những nơi cần chúng nhất hay không. Một số vi khuẩn và nấm có thể phân hủy lignin, mặc dù nấm hiệu quả hơn vi khuẩn.

Có nhiều kỹ thuật và công nghệ hiện có để tăng khả năng tiêu hóa CW và từ đó tăng năng suất vật nuôi. Tuy nhiên, mỗi loại đều có tiềm năng và hạn chế, và khi sử dụng riêng lẻ, nó có thể không mang lại kết quả tốt nhất. Do đó, từ góc độ dinh dưỡng của động vật nhai lại, việc kết hợp các kỹ thuật và công nghệ như vậy dường như có nhiều khả năng mang lại những cải thiện đáng kể về khả năng tiêu hóa CW. Những công nghệ như vậy sẽ bao gồm 1) trồng thức ăn thô xanh với hàm lượng lignin giảm nhẹ và sự hiện diện của homopolyme, 2) bảo tồn thức

ăn thô xanh bằng cách sử dụng các kỹ thuật cải thiện quá trình tiêu hóa CW thông qua việc cấy vi khuẩn biến đổi gen để phân hủy lignin và xử lý bằng enzym bằng cách sử dụng các chi *Lactobacillus*, và 3) bổ sung khẩu phần ăn với vi khuẩn biến đổi gen có khả năng làm tăng sự thoái hóa chất xơ trong dạ cỏ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aderinboye, R. Y., Akinlolu A. O., Adeleke M. A., Najeem G. O., Ojo V. O. A., Isah O. A., and Babayemi O. J.. . 2016. In vitro gas production and dry matter degradation of four browse leaves using cattle, sheep and goat inocula. *Slovak J. Anim. Sci.* 49(1):32–43. [Google Scholar]
- Adesogan, A. T., Ma Z. X., Romero J. J., and Arriola K. G.. . 2014. Ruminant Nutrition Symposium: improving cell wall digestion and animal performance with fibrolytic enzymes. *J. Anim. Sci.* 92:1317–1330. doi: 10.2527/jas.2013-7273 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Agarwal, U. P. 2014. 1064 nm FT-Raman spectroscopy for investigations of plant cell walls and other biomass materials. *Fronti. Plant Sci.* 5:490. doi: 10.3389/fpls.2014.00490 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Agarwal, U. P. 2019. Analysis of cellulose and lignocellulose materials by Raman spectroscopy: a review of the current status. *Molecules.* 24:1659. doi: 10.3390/molecules24091659 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Akin, D. E. 1989. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. *Agron. J.* 81:17–25. doi: 10.2134/agronj1989.00021962008100010004x [CrossRef] [Google Scholar]
- Alberts, B., Heald R., Johnson A., Morgan D. O., Raff M. C., Roberts K., and Walter P.. . 2022. *Molecular biology of the cell.* 7th ed. New York, NY: W. W. Norton & Company. [Google Scholar]
- Allen, M. S. 2014. Drives and limits to feed intake in ruminants. *Anim. Prod. Sci.* 54:1513–1524. doi: 10.1071/an14478 [CrossRef] [Google Scholar]
- Allen, M. S., and Mertens D. R.. . 1988. Evaluating constraints on fiber digestion by rumen microbes. *J. Nutr.* 118:261–270. doi: 10.1093/jn/118.2.261 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Allen, L., O’Connell A., and Kiermer V.. . 2019a. How can we ensure visibility and diversity in research contributions? How the Contributor Role Taxonomy (CRediT) is helping the shift from authorship to contributorship. *Learn. Publ.* 32:71–74. doi: 10.1002/leap.1210 [CrossRef] [Google Scholar]
- Allen, M. S., Sousa D. O., and VandeHaar M. J.. . 2019b. Equation to predict feed intake response by lactating cows to factors related to the filling effect of rations. *J. Dairy Sci.* 102:7961–7969. doi: 10.3168/jds.2018-16166 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- AOAC. 2012. *Official methods of analysis of AOAC International.* 19 ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists. [Google Scholar]
- Araujo, C. M. d., Batista Â. M. V., Carvalho F. F. R. d., Silva M. P. d., Ramos A. O., Souza A. P., and Medeiros A. N. d.. . 2020. Inclusion of *Opuntia stricta* (Haw.) in sheep diets affects nutrition and the physicochemical characteristics of the rumen content. *Rev. Bras. Zootec.* 49:1–12. doi: 10.37496/rbz4920190271 [CrossRef] [Google Scholar]
- Arriola, K. G., Oliveira A. S., Ma Z. X., Lean I. J., Giurcanu M. C., and Adesogan A. T.. . 2017. A meta-analysis on the effect of dietary application of exogenous fibrolytic enzymes on the performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100:4513–4527. doi: 10.3168/jds.2016-12103 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Atiweh, G., Parrish C. C., Banoub J., and Le T. T.. . 2022. Lignin degradation by microorganisms: a review. *Biotechnol. Prog.* 38:e3226. doi: 10.1002/btpr.3226 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Badhan, A., Low K. E., Jones D. R., Xing X., Milani M. R. M., Polo R. O., Klassen L., Venketachalam S., Hahn M. G., Abbott D. W., . et al. 2022. Mechanistic insights into the digestion of complex dietary fibre by the rumen microbiota using combinatorial high-resolution glycomics and transcriptomic analyses. *Comput.*

- Struct. Biotechnol. J. 20:148–164. doi: 10.1016/j.csbj.2021.12.009 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Ball, T. B., and Brotherson J. D. . 1992. The effect of varying environmental conditions on phytolith morphometries in two species of grass (*Bouteloua curtipendula* and *Panicum virgatum*). *Scanning Microsc.* 6:1163–1181. [Google Scholar]
- Barletta, A. 2010. Current market and expected developments. In: Bedford, M. R., and Partridge G. G., editors. *Enzymes in farm animal nutrition*. Wallingford, UK: CABI Publishing; p. 1–11. [Google Scholar]
- Baucher, M., Halpin C., Petit-Conil M., and Boerjan W.. . 2003. Lignin: genetic engineering and impact on pulping. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 38:305–350. doi: 10.1080/10409230391036757 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Beauchemin, K. A., Ungerfeld E., Abdalla A., Álvarez C., Arndt C., Becquet P., Benchaar C., Berndt A., Mauricio R., McAllister T., . et al. 2022. Invited review: current enteric methane mitigation. *J. Dairy Sci.* 105:REF. doi: 10.3168/jds.2022-22091 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Bedford, M. R., and Partridge G. G.. . 2010. *Enzymes in farm animal nutrition*. 2nd ed. Wallingford, UK: CABI Publishing. [Google Scholar]
- Bedford, M. R., Partridge G., Walk C. L., and Hruby M.. . 2022. *Enzymes in farm animal nutrition*. 3rd ed. Wallingford, UK: CABI Publishing. [Google Scholar]
- Blaxter, K. L. 1964. Utilization of the metabolizable energy of grass. *Proc. Nutr. Soc.* 23:62–71. doi: 10.1079/pns19640012 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Bueno, I. C. S., Brandi R. A., Franzolin R., Benetel G., Fagundes G. M., Abdalla A. L., Louvandini H., and Muir J. P.. . 2015. In vitro methane production and tolerance to condensed tannins in five ruminant species. *Anim. Feed Sci. Technol.* 205:1–9. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2015.03.008 [CrossRef] [Google Scholar]
- Bugg, T. D. H., Ahmad M., Hardiman E. M., and Singh R.. . 2011. The emerging role for bacteria in lignin degradation and bio-product formation. *Curr. Opin Biotechnol.* 22:394–400. doi: 10.1016/j.copbio.2010.10.009 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Bugg, T. D. H., Williamson J. J., and Alberti F.. . 2021. Microbial hosts for metabolic engineering of lignin bioconversion to renewable chemicals. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 152:111674. doi: 10.1016/j.rser.2021.111674 [CrossRef] [Google Scholar]
- Burns, J. C. 1993. Mechanisms for altering cell wall utilization. In: Jung, H. G., Buxton D. R., Hatfield R. D., and Ralph J., editors, *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison, WI: American Society of Agronomy; p. 767–777. [Google Scholar]
- Burton, R. A., Gidley M. J., and Fincher G. B.. . 2010. Heterogeneity in the chemistry, structure and function of plant cell walls. *Nat. Chem. Biol.* 6:724–732. doi: 10.1038/nchembio.439 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Buxton, D. R., and Casler M. D.. . 1993. Environmental and genetic effects on cell wall composition and digestibility. In: Jung, H. G., Buxton D. R., Hatfield R. D., and Ralph J., editors, *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison, WI: American Society of Agronomy; p. 685–714. [Google Scholar]
- Cannas, A., Tedeschi L. O., Fox D. G., Pell A. N., and Van Soest P. J.. . 2004. A mechanistic model for predicting the nutrient requirements and feed biological values for sheep. *J. Anim. Sci.* 82:149–169. doi: 10.2527/2004.821149x [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Carpita, N. C. 2011. Update on mechanisms of plant cell wall biosynthesis: how plants make cellulose and other (1→4)-β-d-glycans. *Plant Physiol.* 155:171–184. doi: 10.1104/pp.110.163360 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Cassab, G. I. 1998. Plant cell wall proteins. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49:281–309. doi: 10.1146/annurev.arplant.49.1.281 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

- Cattani, M., Tagliapietra F., Maccarana L., Hansen H. H., Bailoni L., and Schiavon S. . 2014. Technical note: in vitro total gas and methane production measurements from closed or vented rumen batch culture systems. *J. Dairy Sci.* 97:1736–1741. doi: 10.3168/jds.2013-7462 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Chandler, J. A., Jewell W. J., Gossett J. M., Van Soest P. J., and Robertson J. B. . 1980. Predicting methane fermentation biodegradability. In: *Biotechnology and Bioengineering Symposium*, 10; p. 93–107. [Google Scholar]
- Chesson, A. 1993. Mechanist models of forage cell wall degradation. In: Jung, H. G., Buxton D. R., Hatfield R. D., and Ralph J., editors, *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison, WI: American Society of Agronomy; p. 347–376. [Google Scholar]
- Claus, H. 2004. Laccases: structure, reactions, distribution. *Micron.* 35:93–96. doi: 10.1016/j.micron.2003.10.029 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Cosgrove, D. J. 2005. Growth of the plant cell wall. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 6:850–861. doi: 10.1038/nrm1746 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Cosgrove, D. J. 2018. Diffuse growth of plant cell walls. *Plant Physiol.* 176:16–27. doi: 10.1104/pp.17.01541 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Cruz, A. A. C., Vêras A. S. C., Oliveira J. C. V. d., Santos D. C. d., Chagas J. C. C., Neves M. L. M. W., C. Monteiro C. d. F., and Ferreira M. d. A. . 2020. Sugarcane and cactus cladodes plus urea: a new option for Girolando dairy heifers. *Rev. Bras. Zootec.* 49:1–8. doi: 10.37496/rbz4920200016 [CrossRef] [Google Scholar]
- Czerkawski, J. W., and Breckenridge G. . 1977. Design and development of a long-term rumen simulation technique (RUSITEC). *Br. J. Nutr.* 38:371–384. doi: 10.1079/bjn19770102 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Dai, J., and Mumper R. J. . 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules.* 15:7313–7352. doi: 10.3390/molecules15107313 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Danielsson, R., Ramin M., Bertilsson J., Lund P., and Huhtanen P. . 2017. Evaluation of a gas in vitro system for predicting methane production in vivo. *J. Dairy Sci.* 100:8881–8894. doi: 10.3168/jds.2017-12675 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Davidi, L., Morais S., Artzi L., Knop D., Hadar Y., Arfi Y., and Bayer E. A. . 2016. Toward combined delignification and saccharification of wheat straw by a laccase-containing designer cellulosome. *Proc. Nat. Academies Sci.* 113(39):10854–10859. doi: 10.1073/pnas.1608012113 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- De Gelder, J., De Gussem K., Vandenabeele P., and Moens L. . 2007. Reference database of Raman spectra of biological molecules. *J. Raman Spectrosc.* 38:1133–1147. doi: 10.1002/jrs.1734 [CrossRef] [Google Scholar]
- Delhaye, M., and Dhamelincourt P. . 1975. Raman microprobe and microscope with laser excitation. *J. Raman Spectrosc.* 3:33–43. doi: 10.1002/jrs.1250030105 [CrossRef] [Google Scholar]
- Doblin, M. S., Kurek I., Jacob-Wilk D., and Delmer D. P. . 2002. Cellulose biosynthesis in plants: from genes to rosettes. *Plant Cell Physiol.* 43:1407–1420. doi: 10.1093/pcp/pcf164 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Ellis, W. C., Mahlooji M., Lascano C. E., and Matis J. H. . 2005a. Effects of size of ingestively masticated fragments of plant tissues on kinetics of digestion of NDF. *J. Anim. Sci.* 83:1602–1615. doi: 10.2527/2005.8371602x [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Ellis, W. C., Mahlooji M., and Matis J. H. . 2005b. Models for estimating parameters of neutral detergent fiber digestion by ruminal microorganisms. *J. Anim. Sci.* 83:1591–1601. doi: 10.2527/2005.8371591x [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

- Evans, C., and Irving H.. . 2022. The feed enzyme market in 2020 and beyond. In: Bedford, M. R., Partridge G., Walk C. L., and Hruby M., editors. *Enzymes in farm animal nutrition*. Wallingford, UK: CABI International; p. 1–9. [Google Scholar]
- Fahey, G. C., Jr., Bourquin L. D., Titgemeyer E. C., and Atwell D. G.. . 1993. Postharvest treatment of fibrous feedstuffs to improve their nutritive value. In: Jung, H. G., Buxton D. R., Hatfield R. D., and Ralph J., editors. *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison, WI: American Society of Agronomy; p. 715–766. [Google Scholar]
- Faichney, G. J. 2005. Digesta flow. In: Dijkstra, J., Forbes J. M., and France J., editors. *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*. Wallingford, UK: CABI International; p. 49–86. [Google Scholar]
- Falls, M., Meysing D., Liang C., Karim M. N., Carstens G., Tedeschi L. O., and Holtzapple M. T.. . 2017a. Development of highly digestible animal feed from lignocellulosic biomass part 2: oxidative lime pretreatment (OLP) and shock treatment of corn stover. *Transl. Anim. Sci.* 1(2):215–220. doi: 10.2527/tas2017.0025 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Falls, M., Meysing D., Liang C., Karim M. N., Carstens G., Tedeschi L. O., and Holtzapple M. T.. . 2017b. Development of highly digestible animal feed from lignocellulosic biomass part 1: oxidative lime pretreatment (OLP) and ball milling of forage sorghum. *Transl. Anim. Sci.* 1(2):208–214. doi: 10.2527/tas2017.0024 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Farber, C., Sanchez L., Rizevsky S., Ermolenkov A., McCutchen B., Cason J., Simpson C., Burow M., and Kuroski D.. . 2020. Raman spectroscopy enables non-invasive identification of peanut genotypes and value-added traits. *Sci. Rep.* 10:7730. doi: 10.1038/s41598-020-64730-w [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Fisher, D. S., Burns J. C., and Pond K. R.. . 1989. Kinetics of in vitro cell-wall disappearance and in vivo digestion. *Agron. J.* 81:25–33. doi: 10.2134/agronj1989.00021962008100010005x [CrossRef] [Google Scholar]
- Flint, H. J., Bayer E. A., Rincon M. T., Lamed R., and White B. A.. . 2008. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis. *Nat. Rev. Microbiol.* 6:121–131. doi: 10.1038/nrmicro1817 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Food and Agriculture Organization. 2021. Methane emissions in livestock and rice systems. Rome, Italy: Livestock Environmental Assessment and Performance (LEAP) Partnership, and Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO-UN). [Google Scholar]
- Fox, D. G., Tedeschi L. O., Tylutki T. P., Russell J. B., Van Amburgh M. E., Chase L. E., Pell A. N., and Overton T. R.. . 2004. The Cornell Net Carbohydrate and Protein System model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. *Anim. Feed Sci. Technol.* 112:29–78. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2003.10.006 [CrossRef] [Google Scholar]
- Gao, Y., Lipton A. S., Wittmer Y., Murray D. T., and Mortimer J. C.. . 2020. A grass-specific cellulose–xylan interaction dominates in sorghum secondary cell walls. *Nat. Commun.* 11:6081. doi: 10.1038/s41467-020-19837-z [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Geraldes, C. F. G. C. 2020. Introduction to infrared and Raman-based biomedical molecular imaging and comparison with other modalities. *Molecules.* 25:5547. doi: 10.3390/molecules25235547 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Gobius, K. S., Xue G. P., Aylward J. H., Dalrymple B. P., Swadling Y. J., McSweeney C. S., and Krause D. O.. . 2002. Transformation and expression of an anaerobic fungal xylanase in several strains of the rumen bacterium *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Appl. Microbiol.* 93:122–133. doi: 10.1046/j.1365-2672.2002.01662.x [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Gómez-Mascaraque, L. G., Kilcawley K., Hennessy D., Tobin J. T., and O’Callaghan T. F.. . 2020. Raman spectroscopy: a rapid method to assess the effects of pasture feeding on the nutritional quality of butter. *J. Dairy Sci.* 103:8721–8731. doi: 10.3168/jds.2020-18716 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

- Goodell, B., Qian Y., and Jellison J. . 2008. Fungal decay of wood: soft rot—brown rot—white rot, development of commercial wood preservatives. ACS Symposium Series No. 982. American Chemical Society; p. 9–31. [Google Scholar]
- Grabber, J. H. 2005. How do lignin composition, structure, and cross-linking affect degradability? A review of cell wall model studies. *Crop Sci.* 45:820–831. doi: 10.2135/cropsci2004.0191 [CrossRef] [Google Scholar]
- Grabber, J. H., Mertens D. R., Kim H., Funk C., Lu F., and Ralph J. . 2009. Cell wall fermentation kinetics are impacted more by lignin content and ferulate cross-linking than by lignin composition. *J. Sci. Food Agric.* 89:122–129. doi: 10.1002/jsfa.3418 [CrossRef] [Google Scholar]
- Grabber, J. H., Ralph J., Lapierre C., and Barrière Y. . 2004. Genetic and molecular basis of grass cell-wall degradability. I. Lignin–cell wall matrix interactions. *C.R. Biol.* 327:455–465. doi: 10.1016/j.crv.2004.02.009 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Hall, M. B. 2003. Challenges with nonfiber carbohydrate methods. *J. Anim. Sci.* 81:3226–3232. doi: 10.2527/2003.81123226x [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Hall, M. B., and Mertens D. R. . 2017. A 100-year review: carbohydrates—characterization, digestion, and utilization. *J. Dairy Sci.* 100:10078–10093. doi: 10.3168/jds.2017-13311 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Haq, I., Mazumder P., and Kalamdhad A. S. . 2020. Recent advances in removal of lignin from paper industry wastewater and its industrial applications—a review. *Bioresour. Technol.* 312:123636. doi: 10.1016/j.biortech.2020.123636 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Hartley, R. D., Morrison W. H., Himmelsbach D. S., and Borneman W. S. . 1990. Cross-linking of cell wall phenolic arabinoxylans in graminaceous plants. *Phytochem.* 29:3705–3709. doi: 10.1016/0031-9422(90)85317-9 [CrossRef] [Google Scholar]
- Hatfield, R. D., and Kalscheur K. F. . 2020. Carbohydrate and protein nutritional chemistry of forages. In: Moore, K. J., Collins M., Nelson C. J., and Redfearn D. D., editors. *Forages: the science of grassland agriculture* No. 2. New York, NY: John Wiley & Sons Ltd; p. 595–607. [Google Scholar]
- Hatfield, R. D., Rancour D. M., and Marita J. M. . 2017. Grass cell walls: a story of cross-linking. *Front. Plant Sci.* 7:1–15. doi: 10.3389/fpls.2016.02056 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Hegarty, R. S., and Gerdes R. G. . 1999. Hydrogen production and transfer in the rumen. *Rec. Adv. Anim. Nutr. Aust.* 12:37–44. [Google Scholar]
- Höfte, H., and Voxeur A. . 2017. Plant cell walls. *Curr. Biol.* 27:R865–R870. doi: 10.1016/j.cub.2017.05.025 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Hoover, W. H., Crooker B. A., and Sniffen C. J. . 1976. Effects of differential solid-liquid removal rates on protozoa numbers in continuous cultures of rumen contents. *J. Anim. Sci.* 43:528–534. doi: 10.2527/jas1976.432528x [CrossRef] [Google Scholar]
- Huhtanen, P., Ahvenjärvi S., Weisbjerg M. R., and Nørgaard P. . 2006a. Digestion and passage of fibre in ruminants, ruminant physiology: digestion, metabolism and impact on nutrition on gene expression, immunology and stress. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers; p. 87–135. [Google Scholar]
- Huhtanen, P., Detmann E., and Krizsan S. J. . 2016. Prediction of rumen fiber pool in cattle from dietary, fecal, and animal variables. *J. Dairy Sci.* 99:5345–5357. doi: 10.3168/jds.2015-10842 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Huhtanen, P., Nousiainen J., and Rinne M. . 2006b. Recent developments in forage evaluation with special reference to practical applications. *Agric. Food Sci.* 15:293–323. doi: 10.2137/145960606779216317 [CrossRef] [Google Scholar]

- Huhtanen, P., and Vanhatalo A. . 1997. Ruminal and total plant cell-wall digestibility estimated by a combined in situ method utilizing mathematical models. *Br. J. Nutr.* 78:583–598. doi: 10.1079/bjn19970176 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Iiyama, K., Lam T. B. T., Meinkle P. J., Ng K., Rhodes D. I., and Stone B. A. . 1993. Cell wall biosynthesis and its regulation. In: Jung, H. G., Buxton D. R., Hatfield R. D., and Ralph J., editors. *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison, WI: American Society of Agronomy; p. 621–683. [Google Scholar]
- Iiyama, K., Lam T. B. T., and Stone B. A. . 1994. Covalent cross-links in the cell wall. *Plant Physiol.* 104:315–320. doi: 10.1104/pp.104.2.315 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Jackson, M. G. 1977. Review article: the alkali treatment of straws. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2:105–130. doi: 10.1016/0377-8401(77)90013-X [CrossRef] [Google Scholar]
- Jamet, E., Canut H., Boudart G., and Pont-Lezica R. F. . 2006. Cell wall proteins: a new insight through proteomics. *Trends Plant Sci.* 11:33–39. doi: 10.1016/j.tplants.2005.11.006 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Jamet, E., and Dunand C. . 2020. Plant cell wall proteins and development. *Int. J. Mol. Sci.* 21:27311–27315. doi: 10.3390/ijms21082731 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Janssen, P. H. 2010. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Anim. Feed Sci. Technol.* 160:1–22. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2010.07.002 [CrossRef] [Google Scholar]
- Janusz, G., Pawlik A., Sulej J., Świdarska-Burek U., Jarosz-Wilkołazka A., and Paszczyński A. . 2017. Lignin degradation: microorganisms, enzymes involved, genomes analysis and evolution. *FEMS Microbiol. Rev.* 41:941–962. doi: 10.1093/femsre/fux049 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Janusz, G., Pawlik A., Świdarska-Burek U., Polak J., Sulej J., Jarosz-Wilkołazka A., and Paszczyński A. . 2020. Laccase properties, physiological functions, and evolution. *Int. J. Mol. Sci.* 21:966. doi: 10.3390/ijms21030966 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Jung, H. G., Buxton D. R., Hatfield R. D., and Ralph J. . 1993. *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison, WI: American Society of Agronomy. [Google Scholar]
- Jung, H. G., Jorgensen M. A., Linn J. G., and Engels F. M. . 2000. Impact of accessibility and chemical composition on cell wall polysaccharide degradability of maize and lucerne stems. *J. Sci. Food Agric.* 80:419–427. doi: 10.1002/1097-0010(200002)80:3<419::AID-JSFA544>3.0.CO;2-I [CrossRef] [Google Scholar]
- Jung, H. G., Samac D. A., and Sarath G. . 2012. Modifying crops to increase cell wall digestibility. *Plant Sci.* 18:65–77. doi: 10.1016/j.plantsci.2011.10.014 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Kennedy, P. 1985. Effect of rumination on reduction of particle size of rumen digesta by cattle. *Austr. J. Agric. Res.* 36:819–828. doi: 10.1071/AR9850819 [CrossRef] [Google Scholar]
- Kennedy, P. M. 2005. Particle dynamics. In: Dijkstra, J., Forbes J. M., and France J., editors. *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*. Wallingford, UK: CABI Publishing; p. 123–156. [Google Scholar]
- Kennedy, P. M., and Doyle P. T. . 1993. Particle-size reduction by ruminants—effects of cell wall composition and structure. In: Jung, H. G., Buxton D. R., Hatfield R. D., and Ralph J., editors. *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison, WI: American Society of Agronomy; p. 499–534. [Google Scholar]
- King, K. W., and Moore W. E. C. . 1957. Density and size as factors affecting passage rate of ingesta in the bovine and human digestive tracts. *J. Dairy Sci.* 40:528–536. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(57)94516-2 [CrossRef] [Google Scholar]
- Kononoff, P. J., Heinrichs A. J., and Buckmaster D. R. . 2003. Modification of the Penn State forage and total mixed ration particle separator and the effects of moisture content on its measurements. *J. Dairy Sci.* 86:1858–1863. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73773-4 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

- Krause, D. O., Denman S. E., Mackie R. I., Morrison M., Rae A. L., Attwood G. T., and McSweeney C. S.. . 2003. Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics. *FEMS Microbiol. Rev.* 27:663–693. doi: 10.1016/s0168-6445(03)00072-x [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Krimmer, M., Farber C., and Kurouski D.. . 2019. Rapid and noninvasive typing and assessment of nutrient content of maize kernels using a handheld Raman spectrometer. *ACS Omega.* 4:16330–16335. doi: 10.1021/acsomega.9b01661 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Krizsan, S. J., Jančík F., Ramin M., and Huhtanen P.. . 2013. Comparison of some aspects of the in situ and in vitro methods in evaluation of neutral detergent fiber digestion. *J. Anim. Sci.* 91:838–847. doi: 10.2527/jas.2012-5343 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Kumar, A., and Chandra R.. . 2020. Ligninolytic enzymes and its mechanisms for degradation of lignocellulosic waste in environment. *Heliyon.* 6:e03170. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03170 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Labeeuw, L., Martone P. T., Boucher Y., and Case R. J.. . 2015. Ancient origin of the biosynthesis of lignin precursors. *Biol. Direct.* 10:23. doi: 10.1186/s13062-015-0052-y [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Landsberg, G., and Imandelstam L.. . 1928. Eine neue erscheinung bei der lichtzerstreuung in krystallen (A novel effect of light scattering in crystals). *Naturwissenschaften.* 16:557–558. doi: 10.1007/BF01506807 [CrossRef] [Google Scholar]
- Lawoko, M. 2013. Unveiling the structure and ultrastructure of lignin carbohydrate complexes in softwoods. *Int. J. Biol. Macromolec.* 62(Supplement C):705–713. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.10.022 [CrossRef] [Google Scholar]
- Lee, M. H., Jeon H. S., Kim S. H., Chung J. H., Roppolo D., Lee H. J., Cho H. J., Tobimatsu Y., Ralph J., and Park O. K.. . 2019. Lignin-based barrier restricts pathogens to the infection site and confers resistance in plants. *EMBO J.* 38:e101948. doi: 10.15252/embj.2019101948 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Li, X. 2021. Plant cell wall chemistry: implications for ruminant utilisation. *J. Appl. Anim. Nutr.* 9(1):31–56. doi: 10.3920/JAAN2020.0017 [CrossRef] [Google Scholar]
- Lin, F., Manisseri C., Fagerström A., Peck M. L., Vega-Sánchez M. E., Williams B., Chiniquy D. M., Saha P., Pattathil S., Conlin B., . et al. 2016. Cell wall composition and candidate biosynthesis gene expression during rice development. *Plant Cell Physiol.* 57:2058–2075. doi: 10.1093/pcp/pcw125 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Lippke, H. 1980. Forage characteristics related to intake, digestibility and gain by ruminants. *J. Anim. Sci.* 50:952–961. doi: 10.2527/jas1980.505952x [CrossRef] [Google Scholar]
- Lippke, H., and F. E. Barton, II. 1988. Near infrared reflectance spectroscopy for predicting intake of digestible organic matter by cattle. *J. Dairy Sci.* 71(11):2986–2991. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(88)79896-3 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Lund, P., Weisbjerg M. R., and Hvelplund T.. . 2007. Digestible NDF is selectively retained in the rumen of dairy cows compared to indigestible NDF. *Anim. Feed Sci. Technol.* 134 (1–2):1–17. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.05.016 [CrossRef] [Google Scholar]
- Macome, F. M., Pellikaan W. F., Hendriks W. H., Dijkstra J., Hatew B., Schonewille J. T., and Cone J. W.. . 2017. In vitro gas and methane production of silages from whole-plant corn harvested at 4 different stages of maturity and a comparison with in vivo methane production. *J. Dairy Sci.* 100:8895–8905. doi: 10.3168/jds.2017-12953 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Martínez, M. E., Ranilla M. J., Tejido M. L., Saro C., and Carro M. D.. . 2010. The effect of the diet fed to donor sheep on in vitro methane production and ruminal fermentation of diets of variable composition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 158:126–135. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2010.04.005 [CrossRef] [Google Scholar]

- Maulfair, D. D., and Heinrichs A. J.. . 2012. REVIEW: methods to measure forage and diet particle size in the dairy cow. *Prof. Anim. Sci.* 28:489–493. doi: 10.15232/S1080-7446(15)30396-X [CrossRef] [Google Scholar]
- Mauricio, R. M., Mould F. L., Dhanoa M. S., Owen E., Channa K. S., and Theodorou M. K.. . 1999. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 79:321–330. doi: 10.1016/s0377-8401(99)00033-4 [CrossRef] [Google Scholar]
- McDougall, E. I. 1948. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochem. J.* 43:99–109. doi: 10.1042/bj0430099 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Meale, S. J., Beauchemin K. A., Hristov A. N., Chaves A. V., and McAllister T. A.. . 2014. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve ruminant production. *J. Anim. Sci.* 92:427–442. doi: 10.2527/jas.2013-6869 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Menke, K.-H., and Steingass H.. . 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Develop.* 28:7–55. [Google Scholar]
- Mertens, D. R. 1986. Effect of physical characteristics, forage particle size and density on forage utilization. In: *Proc. of the Nutrition Symposium, St. Louis, MO*; p. 91–106. [Google Scholar]
- Mertens, D. R. 1993. Kinetics of cell wall digestion and passage in ruminants. In: Jung, H. G., Buxton D. R., Hatfield R. D., and Ralph J., editors. *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison, WI: American Society of Agronomy; p. 535–570. [Google Scholar]
- Mertens, D. R. 1996. Formulating dairy rations: using fiber and carbohydrate analyses to formulate dairy rations. In: *Proceedings of the US Dairy Forage Research Center Information Conference, Madison, WI*; p. 81–92. [Google Scholar]
- Mertens, D. R. 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:1463–1481. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76075-2 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Mertens, D. R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *J. AOAC Int.* 85:1217–1240. doi: 10.1093/jaoac/85.6.1217 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Mertens, D. R. 2005. Rate and extent of digestion. In: Dijkstra, J., Forbes J. M., and France J., editors. *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*. Wallingford, UK: CABI Publishing; p. 13–47. [Google Scholar]
- Mertens, D. R., and Grant R. J.. . 2020. Digestibility and intake. In: Moore, K. J., Collins M., Nelson C. J., and Redfean D. D., editors. *Forages: the science of grassland agriculture No. 2*. New York, NY: John Wiley & Sons Ltd; p. 609–631. [Google Scholar]
- Möller, J., Arananant J., Boonnayanont K., Danier J., Egert M., Fütö K., Horst H., Hüther L., Janjira; S., Kongchuensin R., . et al. 2009. Gravimetric determination of acid detergent fiber and lignin in feed: interlaboratory study. *J. AOAC Int.* 92:74–90. doi: 10.1093/jaoac/92.1.74 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Morey, R., Ermolenkov A., Payne W. Z., Scheuring D. C., Koym J. W., Vales M. I., and Kurouski D.. . 2020. Non-invasive identification of potato varieties and prediction of the origin of tuber cultivation using spatially offset Raman spectroscopy. *Anal. Bioanal. Chem.* 412:4585–4594. doi: 10.1007/s00216-020-02706-5 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Mould, F. L., Morgan R., Kliem K. E., and Krystallidou E.. . 2005. A review and simplification of the in vitro incubation medium. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123–124(Part 1):155–172. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2005.05.002 [CrossRef] [Google Scholar]
- Muck, R. E., Nadeau E. M. G., McAllister T. A., Contreras-Govea F. E., Santos M. C., and L.Kung, Jr. 2018. Silage review: recent advances and future uses of silage additives. *J. Dairy Sci.* 101:3980–4000. doi: 10.3168/jds.2017-13839 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

- Muetzel, S., Hunt C., and Tavendale M. H.. . 2014. A fully automated incubation system for the measurement of gas production and gas composition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 196:1–11. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2014.05.016 [CrossRef] [Google Scholar]
- Nagadi, S., Herrero M., and Jessop N. S.. . 2000. The influence of diet of the donor animal on the initial bacterial concentration of ruminal fluid and in vitro gas production degradability parameters. *Anim. Feed Sci. Technol.* 87:231–239. [Google Scholar]
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. 2016. *Nutrient requirements of beef cattle*. 8th ed. Washington, DC: National Academy Press. [Google Scholar]
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. 2021. *Nutrient requirements of dairy cattle*. 8th ed. Washington, DC: National Academy Press. [Google Scholar]
- National Research Council. 2007. *Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids*. 7th ed. Washington, DC: National Academy Press. [Google Scholar]
- Navarro-Villa, A., O'Brien M., López S., Boland T. M., and O'Kiely P.. . 2011. Modifications of a gas production technique for assessing in vitro rumen methane production from feedstuffs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166–167:163–174. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2011.04.064 [CrossRef] [Google Scholar]
- Nayan, N., Sonnenberg A. S. M., Hendriks W. H., and Cone J. W.. . 2018. Screening of white-rot fungi for bioprocessing of wheat straw into ruminant feed. *J. Appl. Microbiol.* 125(2):468–479. doi: 10.1111/jam.13894 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Nayan, N., van Erven G., Kabel M. A., Sonnenberg A. S. M., Hendriks W. H., and Cone J. W.. . 2019. Evaluation of fungal degradation of wheat straw cell wall using different analytical methods from ruminant nutrition perspective. *J. Sci. Food Agric.* 99:4054–4062. doi: 10.1002/jsfa.9634 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Nelson, D. L., and Cox M. M.. . 2005. *Lehninger principles of biochemistry*. 4th ed. New York, NY: W.H. Freeman and Company. [Google Scholar]
- Norris, K. H., Barnes R. F., Moore J. E., and Shenk J. S.. . 1976. Predicting forage quality by infrared reflectance spectroscopy. *J. Anim. Sci.* 43:889–897. doi: 10.2134/jas1976.434889x [CrossRef] [Google Scholar]
- Pallardy, S. G. 2008. Carbohydrates. In: Pallardy, S. G., editor. *Physiology of woody plants*. San Diego, CA: Academic Press; p. 199–215. [Google Scholar]
- Patra, A. K., and Yu Z.. . 2013. Effects of gas composition in headspace and bicarbonate concentrations in media on gas and methane production, degradability, and rumen fermentation using in vitro gas production techniques. *J. Dairy Sci.* 96:4592–4600. doi: 10.3168/jds.2013-6606 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Peek, S. F., McGuirk S. M., Sweeney R. W., and Cummings K. J.. . 2018. Infectious diseases of the gastrointestinal tract, pp. 249–356. In: Peek, S. F., and Divers T. J., editors. *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*. (3rd ed.). Elsevier, St. Louis, MO. doi: 10.1016/B978-0-323-39055-2.00006-1 [CrossRef] [Google Scholar]
- Pell, A. N., and Schofield P.. . 1993. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. *J. Dairy Sci.* 76:1063–1073. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(93)77435-4 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Pond, K. R., Ellis W. C., and Akin D. E.. . 1984. Ingestive mastication and fragmentation of forages. *J. Anim. Sci.* 58:1567–1574. doi: 10.2527/jas1984.5861567x [CrossRef] [Google Scholar]
- Pond, K. R., Ellis W. C., Lascano C. E., and Akin D. E.. . 1987. Fragmentation and flow of grazed coastal bermudagrass through the digestive tract of cattle. *J. Anim. Sci.* 65:609–618. doi: 10.2527/jas1987.652609x [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

- Poppi, D. P., Hendricksen R. E., and Minson D. J.. . 1985. The relative resistance to escape of leaf and stem particles from the rumen of cattle and sheep. *J. Agric. Sci.* 105:9–14. doi: 10.1017/s0021859600055623 [CrossRef] [Google Scholar]
- Qiao, J. Y., Tan Z. L., Guan L. L., Tang S. X., Zhou C. S., Han X. F., Wang M., Kang J. H., and He Z. X.. . 2015. Effects of hydrogen in headspace and bicarbonate in media on rumen fermentation, methane production and methanogenic population using in vitro gas production techniques. *Anim. Feed Sci. Technol.* 206:19–28. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2015.05.004 [CrossRef] [Google Scholar]
- Ralph, J., Bunzel M., Marita J. M., Hatfield R. D., Lu F., Kim H., Schatz P. F., Grabber J. H., and Steinhart H.. . 2004. Peroxidase-dependent cross-linking reactions of p-hydroxycinnamates in plant cell walls. *Phytochem. Rev.* 3:79–96. doi: 10.1023/b:phyt.0000047811.13837.fb [CrossRef] [Google Scholar]
- Raman, C. V., and Krishnan K. S.. . 1928. A new type of secondary radiation. *Nature.* 121:501–502. doi: 10.1038/121501c0 [CrossRef] [Google Scholar]
- Robinson, P. H., Fadel J. G., and Tamminga S.. . 1986. Evaluation of mathematical models to describe neutral detergent residue in terms of its susceptibility to degradation in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 15:249–271. [Google Scholar]
- Rosser, C., Terry S. A., Badhan A., McAllister T. A., and Beauchemin K. A.. . 2022. Current knowledge and future opportunities for ruminant enzymes. In: Bedford, M. R., Partridge G., Walk C. L., and Hruby M., editors. *Enzymes in farm animal nutrition*. Wallingford, UK: CABI International; p. 153–169. [Google Scholar]
- Schneider, B. H., and Flatt W. P.. . 1975. *The evaluation of feed through digestibility experiments*. Athens, GA: The University of Georgia Press. [Google Scholar]
- Seo, S., Lanzas C., Tedeschi L. O., and Fox D. G.. . 2007. Development of a mechanistic model to represent the dynamics of liquid flow out of the rumen and to predict rate of passage of liquid in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 90:840–855. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(07)71568-0 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Seo, S., Lanzas C., Tedeschi L. O., Pell A. N., and Fox D. G.. . 2009. Development of a mechanistic model to represent the dynamics of particle flow out of the rumen and to predict rate of passage rate of particles in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 92:3981–4000. doi: 10.3168/jds.2006-799 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Shenk, J. S., and Westerhaus M. O.. . 1994. The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis. In: Fahey, G. C.Jr., Collins M., Mertens D. R., and Moser L. E., editors. *Forage quality, evaluation, and utilization*. Madison, WI: American Society of Agronomy; p. 406–449. [Google Scholar]
- Silva, R. S. T. d., Fernandes A. M., Gomes R. d. S., Bendia L. C. R., Silva L. d. C. e., and Vieira R. A. M.. . 2018. On the specificity of different methods for neutral detergent fiber and related problems. *Anim. Feed Sci. Technol.* 240:128–144. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2018.04.003 [CrossRef] [Google Scholar]
- Sniffen, C. J., O'Connor J. D., Van Soest P. J., Fox D. G., and Russell J. B.. . 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70:3562–3577. doi: 10.2527/1992.70113562x [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Soltan, Y. A., and Patra A. K.. . 2021. Ruminant microbiome manipulation to improve fermentation efficiency in ruminants. In: Patra, A. K., editor. *Animal feed science and nutrition - production, health and environment*. London, UK: IntechOpen; p. 1–20. [Google Scholar]
- Stuth, J. W., Jama A., and Tolleson D. R.. . 2003. Direct and indirect means of predicting forage quality through near infrared reflectance spectroscopy. *Field Crop Res.* 84(1–2):45–56. doi: 10.1016/S0378-4290(03)00140-0 [CrossRef] [Google Scholar]
- Stuth, J. W., Lyons R. K., Angerer J. P., and McKown C. D.. . 1991. Role of NIRS-based nutritional monitoring systems for grazing and nutritional management of range livestock. In: *Proceedings of the 2nd Grazing Livestock Nutrition Conference*, Steamboat Springs, CO; p. 83–93. [Google Scholar]

- Sullivan, J. T. 1966. Studies of the hemicelluloses of forage plants. *J. Anim. Sci.* 25:83–86. doi: 10.2527/jas1966.25183x [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Sutherland, T. M. 1988. Particle separation in the forestomachs of sheep. In: Dobson, A., and Dobson M. J., editors. *Aspects of digestive physiology in ruminants*. Ithaca, NY: Cornell University Press; p. 43–73. [Google Scholar]
- Tang, S. X., He Y., Zhang P. H., Jiao J. Z., Han X. F., Yan Q. X., Tan Z. L., Wang H. R., Wu D. Q., Yu L. H., . et al. 2019. Nutrient digestion, rumen fermentation and performance as ramie (*Boehmeria nivea*) is increased in the diets of goats. *Anim. Feed Sci. Technol.* 247:15–22. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2018.10.013 [CrossRef] [Google Scholar]
- Tedeschi, L. O., Abdalla A. L., Álvarez C., Anuga S. W., Arango J., Beauchemin K. A., Becquet P., Berndt A., Burns R., De Camillis C., . et al. 2022. Quantification of methane emitted by ruminants: a review of methods. *J. Anim. Sci.* 100:1–22. doi: 10.1093/jas/skac197 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Tedeschi, L. O., Cannas A., and Fox D. G.. . 2010. A nutrition mathematical model to account for dietary supply and requirements of energy and nutrients for domesticated small ruminants: the development and evaluation of the Small Ruminant Nutrition System. *Small Ruminant Res.* 89:174–184. doi: 10.1016/j.smallrumres.2009.12.041 [CrossRef] [Google Scholar]
- Tedeschi, L. O., and Fox D. G.. . 2020. *The ruminant nutrition system: volume I—an applied model for predicting nutrient requirements and feed utilization in ruminants*. 3rd ed. XanEdu: Ann Arbor, MI. [Google Scholar]
- Tedeschi, L. O., Molle G., Menendez H. M., Cannas A., and Fonseca M. A.. . 2019. The assessment of supplementation requirements of grazing ruminants using nutrition models. *Transl. Anim. Sci.* 3(2):811–828. doi: 10.1093/tas/txy140 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Tedeschi, L. O., Muir J. P., Naumann H. D., Norris A. B., Ramírez-Restrepo C. A., and Mertens-Talcott S. U.. . 2021. Nutritional aspects of ecologically relevant phytochemicals in ruminant production. *Front. Vet. Sci.* 8(155). doi: 10.3389/fvets.2021.628445 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- 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. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48:185–197. doi: 10.1016/0377-8401(94)90171-6 [CrossRef] [Google Scholar]
- Thiex, N. J., Anderson S., Gildemeister B., Adcock W., Boedigheimer J., Bogren E., Coffin R., Conway K., DeBaker A., Frankenius E., . et al. 2003. Crude fat, diethyl ether extraction, in feed, cereal grain, and forage (Randall/Soxtec/submersion method): collaborative study. *J. AOAC Int.* 86:888–898. doi: 10.1093/jaoac/86.5.888 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Thiex, N. J., Manson H., Anderson S., Persson J.-Å., and Collaborators. 2002. Determination of crude protein in animal feed, forage, grain, and oilseeds by using block digestion with a copper catalyst and steam distillation into boric acid: collaborative study. *J. AOAC Int.* 85(2):309–317. doi: 10.1093/jaoac/85.2.309 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Tilley, J. M. A., and Terry R. A.. . 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.* 18:104–111. [Google Scholar]
- Tirado-González, D. N., Miranda-Romero L. A., Ruíz-Flores A., Medina-Cuéllar S. E., Ramírez-Valverde R., and Tirado-Estrada G.. . 2018. Meta-analysis: effects of exogenous fibrolytic enzymes in ruminant diets. *J. Appl. Anim. Res.* 46:771–783. doi: 10.1080/09712119.2017.1399135 [CrossRef] [Google Scholar]
- 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. *Bioresour. Technol.* 129:256–263. doi: 10.1016/j.biortech.2012.10.128 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

- Van Soest, P. J. 1993. Cell wall matrix interactions and degradation. In: Jung, H. G., Buxton D. R., Hatfield R. D., and Ralph J., editors. Forage cell wall structure and digestibility. Madison, WI: American Society of Agronomy; p. 377–395. [Google Scholar]
- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. Ithaca, NY: Comstock Publishing Associates. [Google Scholar]
- Van Soest, P. J. 1996. Allometry and ecology of feeding behavior and digestive capacity in herbivores: a review. *Zoo Biol.* 15:455–479. doi: 10.1002/(sici)1098-2361(1996)15:5<455::aid-zoo3>3.0.co;2-a [CrossRef] [Google Scholar]
- Van Soest, P. J. 2006. Rice straw, the role of silica and treatments to improve quality. *Anim. Feed Sci. Technol.* 130:137–171. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.01.023 [CrossRef] [Google Scholar]
- Van Soest, P. J. 2015. The detergent system for analysis of foods and feeds. Ithaca, NY: Cornell University. [Google Scholar]
- Van Soest, P. J., Robertson J. B., and Lewis B. A.. . 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583–3597. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Vanholme, R., Morreel K., Darrah C., Oyarce P., Grabber J. H., Ralph J., and Boerjan W.. . 2012. Metabolic engineering of novel lignin in biomass crops. *New Phytol.* 196:978–1000. doi: 10.1111/j.1469-8137.2012.04337.x [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Vesilind, P. A. 1980. The Rosin-Rammler particle size distribution. *Resour. Recovery Conserv.* 5:275–277. doi: 10.1016/0304-3967(80)90007-4 [CrossRef] [Google Scholar]
- Vieira, R. A. M., Campos P. R. S., Coelho da Silva J. F., Tedeschi L. O., and Tamy W. P.. . 2012. Heterogeneity of the digestible insoluble fibre of selected forages in situ. *Anim. Feed Sci. Technol.* 171(2-4):154–166. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2011.11.001 [CrossRef] [Google Scholar]
- Vieira, R. A. M., Rohem Júnior N. M., Abreu M. L. C., Silva M. C., Oliveira J. G., Tedeschi L. O., and Glória L. S.. . 2020. The transit of external markers throughout the ruminant digestive tract: 2. The estimation of fiber digestibility, ruminoreticular fill, and related biases. *Anim. Feed Sci. Technol.* 261:114420. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2020.114420 [CrossRef] [Google Scholar]
- Vieira, R. A. M., Tedeschi L. O., and Cannas A.. . 2008a. A generalized compartmental model to estimate the fibre mass in the ruminoreticulum. 1. Estimating parameters of digestion. *J. Theor. Biol.* 255:345–356. doi: 10.1016/j.jtbi.2008.08.014 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Vieira, R. A. M., Tedeschi L. O., and Cannas A.. . 2008b. A generalized compartmental model to estimate the fibre mass in the ruminoreticulum. 2. Integrating digestion and passage. *J. Theor. Biol.* 255:357–368. doi: 10.1016/j.jtbi.2008.08.013 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Vinyard, J. R., and Faciola A. P.. . 2022. Unraveling the pros and cons of various in vitro methodologies for ruminant nutrition: a review. *Transl. Anim. Sci.* 6(4):1–9. doi: 10.1093/tas/txac130 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Walz, L. S., Ellis W. C., White T. W., Matis J. H., Bateman H. G., Williams C. C., Fernandez J. M., and Gentry L. R.. . 2004. Flow paths of plant tissue residues and digesta through gastrointestinal segments in Spanish goats and methodological considerations. *J. Anim. Sci.* 82:508–520. doi: 10.2527/2004.822508x [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Wang, Y., Luo Y., Luo L., Zhang H., Liao Y., and Gou C.. . 2021. Enhancement of the nutritional value of fermented corn stover as ruminant feed using the fungi *Pleurotus* spp. *Sci. Rep.* 11:11961. doi: 10.1038/s41598-021-90236-0 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Weng, J.-K., and Chapple C.. . 2010. The origin and evolution of lignin biosynthesis. *New Phytol.* 187(2):273–285. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03327.x [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

- Whitehead, T. R., Cotta M. A., and Hespell R. B.. . 1991. Introduction of the *Bacteroides ruminicola* xylanase gene into the *Bacteroides thetaiotaomicron* chromosome for production of xylanase activity. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:277–282. doi: 10.1128/aem.57.1.277-282.1991 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Wilkerson, C. G., Mansfield S. D., Lu F., Withers S., Park J. Y., Karlen S. D., Gonzales-Vigil E., Padmakshan D., Unda F., Rencoret J., . et al. 2014. Monolignol ferulate transferase introduces chemically labile linkages into the lignin backbone. *Science.* 344:90–93. doi: 10.1126/science.1250161 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Wilson, J. R. 1993. Organization of forage plant tissues. In: Jung, H. G., Buxton D. R., Hatfield R. D., and Ralph J., editors. *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison, WI: American Society of Agronomy; p. 1–32. [Google Scholar]
- Wilson, J. R., and Mertens D. R.. . 1995. Cell wall accessibility and cell structure limitations to microbial digestion of forage. *Crop Sci.* 35:251–259. doi: 10.2135/cropsci1995.0011183x003500010046x [CrossRef] [Google Scholar]
- Wyburn, R. S. 1980. The mixing and propulsion of the stomach contents of ruminants. In: *Proc. of the 5th International Symposium on Ruminant Physiology: Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*, Clermont-Ferrand, France; p. 35–51. doi: 10.1007/978-94-011-8067-2_2. [CrossRef] [Google Scholar]
- Xiong, X. Q., Liao H. D., Ma J. S., Liu X. M., Zhang L. Y., Shi X. W., Yang X. L., Lu X. N., and Zhu Y. H.. . 2014. Isolation of a rice endophytic bacterium, *Pantoea* sp. Sd-1, with ligninolytic activity and characterization of its rice straw degradation ability. *Lett. Appl. Microbiol.* 58:123–129. doi: 10.1111/lam.12163 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Yáñez-Ruiz, D. R., Bannink A., Dijkstra J., Kebreab E., Morgavi D. P., O’Kiely P., Reynolds C. K., Schwarm A., Shingfield K. J., Yu Z., . et al. 2016. Design, implementation and interpretation of in vitro batch culture experiments to assess enteric methane mitigation in ruminants—a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 216:1–18. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2016.03.016 [CrossRef] [Google Scholar]
- Zamil, M. S., and Geitmann A.. . 2017. The middle lamella—more than a glue. *Phys. Biol.* 14(1):015004. doi: 10.1088/1478-3975/aa5ba5 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Zeng, Y., Himmel M. E., and Ding S. -Y.. . 2017. Visualizing chemical functionality in plant cell walls. *Biotechnol. Biofuels.* 10:263. doi: 10.1186/s13068-017-0953-3 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Zhong, R., Cui D., and Ye Z.-H.. . 2019. Secondary cell wall biosynthesis. *New Phytol.* 221:1703–1723. doi: 10.1111/nph.15537 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Zhou, H., Guo W., Xu B., Teng Z., Tao D., Lou Y., and Gao Y.. . 2017. Screening and identification of lignin-degrading bacteria in termite gut and the construction of LiP-expressing recombinant *Lactococcus lactis*. *Microb. Pathog.* 112:63–69. doi: 10.1016/j.micpath.2017.09.047 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Ziemer, C. J., Sharp R., Stern M. D., Cotta M. A., Whitehead T. R., and Stahl D. A.. . 2002. Persistence and functional impact of a microbial inoculant on native microbial community structure, nutrient digestion and fermentation characteristics in a rumen model. *Syst. Appl. Microbiol.* 25:416–422. doi: 10.1078/0723-2020-00125 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

ABSTRACT

Mechanisms, methods and models to alter the cell wall utilization of ruminant forages

Several ruminant animals rely almost exclusively on the complex polysaccharide matrix from the plant cell wall (CW) as their primary energy source via volatile fatty acids produced through ruminal and some hindgut fermentation processes. The CW contains different types and proportions of polysaccharides, proteins, phenolic compounds, and minerals in their macromolecular structure that influence the rate and extent of fiber digestion and selective retention of particulate matter due to its physical characteristics (buoyancy and comminuting) in the reticulorumen. The biosynthetic formation of the CW dictates possible manipulation mechanisms (targeted plant and microbes selection) and processing methods (physical, chemical, microbial, and enzymatic treatments and the use of genetically engineered bacteria) to increase its digestibility, leading to better utilization of the CW by the ruminant animal and hopefully lower the contribution of ruminants' greenhouse gas emissions. Early studies on lignin biosynthesis have led to more advanced studies focusing on replacing traditional monolignols with homopolymers that are easier to deconstruct or degrade. Concurrently, laboratory methods must be developed, evaluated, and modified to accurately reflect the digestibility and nutritive value of CW brought about by modern manipulation mechanisms or processing methods. However, the laboratory methods must also be reliable, precise, feasible, trivial, easy to implement, and cost-effective, but at the same time environmentally friendly and aware. For instance, although the acid detergent lignin has been demonstrated to behave uniformly as a nutritional entity, its chemical determination and association with carbohydrates still lack consensus. Spectroscopy (near-infrared and Raman) and in vitro gas production techniques have been adopted to assess plant chemical composition and nutritive value, but an incomplete understanding of the impacts caused by disrupting the CW for sample processing still exists. Different variations of multicompartmental and time- and age-dependent mathematical models have been proposed to determine the ruminal rates of degradation and passage of fiber. However, low-quality and incomplete data due to inconsistent marker results used to determine passage rates and transit time of fiber in the gastrointestinal tract have hindered advancements and adoptions of the next generation of computer models to understand ruminal fiber degradation.

Keywords: *Assessment, composition, fiber, model, nutritive value, prediction*

Ngày nhận bài: 06/12/2023

Ngày chấp nhận đăng: 28/12/2023