

4 种油脂对瘤胃微生物体外产气及辅酶 F₄₂₀ 的影响

王梦芝^{1,2} 王 曙¹ 潘晓花¹ 王洪荣¹ 王加启²

(1. 扬州大学动物科学与技术学院, 扬州 225009; 2. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 动物营养学国家重点实验室, 北京 100193)

摘 要: 本文主要研究不同饱和程度油脂对瘤胃微生物体外产气及辅酶 F₄₂₀ 动态变化的影响。试验选用 3 头装有瘤胃瘘管的徐淮白山羊提供瘤胃液, 分对照组、花生油组(A)、菜籽油组(B)、玉米油组(C)和豆油组(D)5 个组进行体外培养, 每组 3 个重复, 每个重复 1 个培养瓶。结果表明: 1) 36 h 总产气量在 20.61 ~ 39.67 mL 间变化, 除花生油组外, 其他油脂组均显著低于对照组 ($P < 0.05$); 随着时间的延长, 各组产气量呈现波动变化, 甲烷产量和甲烷/总产气量比率在组间差异显著 ($P < 0.05$), 且甲烷/总产气量比率有从 B 到 D 逐渐下降的趋势。2) 对照组辅酶 F₄₂₀ 荧光值显著高于油脂组 ($P < 0.05$), 除菜籽油组外, 其他油脂组辅酶 F₄₂₀ 荧光值有随油脂不饱和程度增加而降低的趋势。3) 相关分析结果表明, 辅酶 F₄₂₀ 荧光值与甲烷产量(0.916)、与总产气量(0.905)相关皆极显著(2-尾 < 0.01)。4) 豆油组总脱氢酶显著高于对照组, 并依次显著高于玉米油、花生油、菜籽油组 ($P < 0.05$)。因此, 随本试验所选油脂不饱和程度的加大, 抑制甲烷产量和总产气量的效应也随之加大, 并以豆油的效果较佳。

关键词: 油脂; 瘤胃微生物; 甲烷; 辅酶 F₄₂₀; 产气量

中图分类号: S816.43

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2011)10-1819-07

由于饲养水平、饲料组成及消化率的不同, 以甲烷形式损失的能量可占饲料总能的 2% ~ 15%^[1], 同时, 因甲烷排放带来的环境问题更不容忽视^[2]。辅酶 F₄₂₀ 以一种低电位电子载体的形式存在于各种甲烷菌中, 是生成甲烷的重要辅酶之一, 可作为衡量甲烷菌活性的指标。而瘤胃微生物的总脱氢酶主要包括以辅酶 I (NAD⁺) 和辅酶 II (NADP⁺) 为辅基的谷氨酸脱氢酶 (GDH) 和乳酸脱氢酶 (LDH), 其中 NAD⁺-GDH 是微生物利用氮合成蛋白质最重要的酶。因此, 总脱氢酶直接反映了微生物代谢时传递氢的能力, 并可表征微生物整体的活力水平。植物油脂是反刍动物生产实践中高温季节与产奶高峰时良好的能量饲料, 同时还能够调控瘤胃微生物各区系的比例, 改变瘤胃发酵模式, 从而减少甲烷产量, 提高饲料资

源的利用效率。如油脂对甲烷菌和甲烷菌载体——原虫均具有一定的抑制作用, 从而降低甲烷菌量^[3-4], 这将可能使得辅酶 F₄₂₀ 降低; 同时, 油脂还可能通过抑制原虫的吞噬力, 减少其对细菌的吞噬而增加总的细菌群体量和微生物总的活力^[5-7], 可能表现为总脱氢酶活性的提高。但有关油脂对瘤胃微生物活力、甲烷产量、辅酶 F₄₂₀ 等的影响, 及其间关系的研究还不多见。为此, 本试验拟选择饱和程度不同的植物油脂进行体外培养, 测定发酵的甲烷产量, 以及培养液辅酶 F₄₂₀、总脱氢酶等指标, 旨在初步解析油脂饱和程度抑制瘤胃甲烷产生的原因, 为反刍动物生产中更好地使用油脂调控瘤胃微生态及减少甲烷的排放提供参考。

收稿日期: 2011-04-29

基金项目: 国家 973 重大基础研究项目 (2011CB100800); 国家自然科学基金 (31072051); 中国博士后科学基金第四十九批面上资助项目 (1520)

作者简介: 王梦芝 (1972—), 女, 江苏徐州人, 博士, 讲师, 从事反刍动物与瘤胃微生态营养代谢调控研究。E-mail: mengzhiwang@yahoo.cn

1 材料与方法

1.1 试验动物与饲养管理

在扬州大学试验农牧场选择 3 只 1.5 岁、装有瘤胃瘘管的徐淮白山羊[活重(29.7 ± 0.14) kg],用于采集瘤胃液。试验山羊分隔单舍,以玉米 + 豆粕 + 羊草为常规饲料,每日于 07:00 和 19:00

分 2 次饲喂,并全天自由饮用洁净水。

1.2 试验设计与培养底物

试验分不加油脂的对照组、花生油组(A)、菜籽油组(B)、玉米油组(C)、豆油组(D)5 个组,采用单因子试验设计,每组各 3 个重复,另外设 1 空白对照。底物组成与油脂的实测碘价见表 1。

表 1 培养底物的组成
Table 1 Composition of culture substrates *in vitro* %

项目 Items	对照组 Control group	A(花生油) Peanut oil	B(菜籽油) Rapeseed oil	C(玉米油) Corn oil	D(豆油) Soybean oil	碘价 Iodine value ¹⁾
淀粉 Starch	19	19	19	19	19	
酪蛋白 Casein	10	10	10	10	10	
纤维素 Cellulose	67	67	67	67	67	
棕榈酸钙 Calcium palmitate ²⁾	4					
花生油 Peanut oil		4				94.1
菜籽油 Rapeseed oil			4			114.5
玉米油 Corn oil				4		131.3
豆油 Soybean oil					4	143.7
合计 Total	100	100	100	100	100	

¹⁾ 碘价为实测值。Iodine values were measured values.
²⁾ 棕榈酸钙由本实验室生产《植物油生产长链脂肪酸盐工艺及其产品研究与开发》(江苏省科技攻关项目: BE2005340)。

Calcium palmitate was produced by our lab《Research and Application on the Production and Technological Procedure of Long Chain Salts of Fatty Acids by Plant Oils》(The project supported by Programs for Science and Technology Development of Jiangsu Province: BE2005340)。

1.3 体外培养与取样设计

1.3.1 体外培养试验

体外培养试验参考 Menke 等^[8]的方法。培养液(人工唾液盐:瘤胃液 = 2:1)中充入 CO₂ 并经 39 ℃水浴预热。按照试验设计准确称取 2.0 g 底物置于培养瓶中,分别加入 150 mL 培养液。通入 CO₂, 39 ℃恒温水浴震荡培养。分别在培养后 0、4、8、12、16、24 h 取样,用于总脱氢酶及辅酶 F₄₂₀ 的即时测定。

1.3.2 产气试验

取试验设计的底物 200 mg,以长柄勺置入注射器底部,再加入 30 mL 培养液,通入 CO₂ 并于 39 ℃恒温水浴震荡培养。分别在 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、24、36 h 读取产气量,即累计总产气量。培养结束后,将注射器中的气体通过三通阀转移到另一个内盛有饱和 KOH 溶液作为

CO₂ 吸收剂(类似史氏吸收管装置)的注射器中。CO₂ 被吸收后,剩下气体的体积即为甲烷的体积(忽略微量的 H₂)。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 辅酶 F₄₂₀ 的测定

参考俞毓馨等^[9]的方法并改进。将培养液样品在 95 ℃水浴中煮 30 min 并不断搅拌,然后冷却,再离心(13 600 r/min)分离。取上清液加入 2 倍体积的异丙醇,搅拌均匀后沉淀 2 h,再 13 600 r/min 离心取上清液,用荧光分光光度计测定辅酶 F₄₂₀ 的吸光值。

1.4.2 总脱氢酶活性测定

参考 Humeyan 等^[10]的方法并改进。具体操作过程为:取经 100 目尼龙布过滤后的新鲜培养液 2 mL 于试管中,加入 0.2 mL 1.5% 的氯化三苯四氮唑(TTC)反应,而对照管先加入 5 mL 异丙醇

抑制酶反应。在厌氧条件下恒温水浴(38 ~ 39 ℃)10 min。各处理加入 5 mL 异丙醇终止反应后,以 1 520 r/min 离心 10 min。上清液稀释 15 倍,于分光光度计在 485 nm 处比色。定义在 38.5 ℃、pH 6.8 条件下,每分钟引起测定液吸光度上升 0.1 的酶量定义为 1 个酶活单位。

酶活单位 (U/mL) = (样品 A485 nm/min - 对照 A485 nm/min) × 15。

1.5 统计分析

用 Excel 软件整理数据和作图,用 SPSS 16.0 软件中 Compare Mean 的 One-way-ANOVA 过程进行方差分析和 Tukey 多重比较;用 Correlate 过程中的 Bivariate 进行相关性分析。

2 结 果

2.1 对产气量与总脱氢酶活性的影响

图 1 表明,除花生油组外,其他 3 个试验组培养液总产气量与对照组之间均有显著差异,添加油脂的各试验组间也有显著或极显著差异($P < 0.05$, $P < 0.01$)。培养液 36 h 总产气量在 20.61 ~ 39.67 mL 间变化,以对照组最高,显著高于玉米油组($P < 0.05$),极显著高于豆油和菜籽油组($P < 0.01$);花生油组与对照组间的差异不显著($P > 0.05$),但数值上低于对照组。

由图 2 可知,随时间的延长,各组产气量呈现波动变化,各组普遍自 10 ~ 12 h 后产气量急剧加大。在 22 ~ 24 h 间对照组、A ~ D 组的产气量分别达到:10.33、9.33、5.50、6.00、5.67 mL,较 10 h 前的 1 ~ 3 mL 发酵产气剧烈;但在 32 ~ 36 h 间各组产气量基本都低于 1 mL,进入发酵的平台状态。从图 2 中曲线的变化幅度来看,对照组与花生油组变化幅度较大、玉米油组次之,而豆油与菜籽油组变化幅度较小。

由图 3 可知,培养液总脱氢酶活性在各组间有显著或极显著差异($P < 0.05$, $P < 0.01$)。以豆油组最高,显著高于对照组($P < 0.05$),玉米油组次之且差异显著($P < 0.05$),花生油组再次之,但差异不显著($P > 0.05$);菜籽油组最低并显著低于对照组($P < 0.05$)。从图 4 的动态变化模式来看,豆油和玉米油持续在较高的水平波动,而菜籽油和对照组则相对在较低的水平波动。

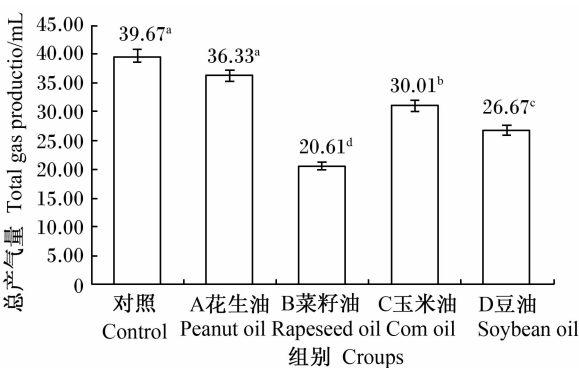


图 1 中柱形图上数字肩标字母相同表示差异不显著 ($P > 0.05$),相邻为差异显著 ($P < 0.05$),相隔为差异极显著 ($P < 0.01$)。下同图。

In Fig. 1, values above the bars with the same letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$), while with adjacent letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$), and with alternate letter superscripts mean significant difference ($P < 0.01$). The same as below.

图 1 油脂对体外产气的影响

Fig. 1 Effect of oils on gas production *in vitro*

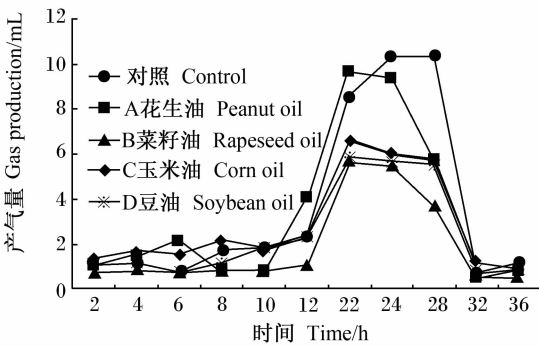


图 2 体外产气动态变化趋势图

Fig. 2 The dynamics of gas production with time *in vitro*

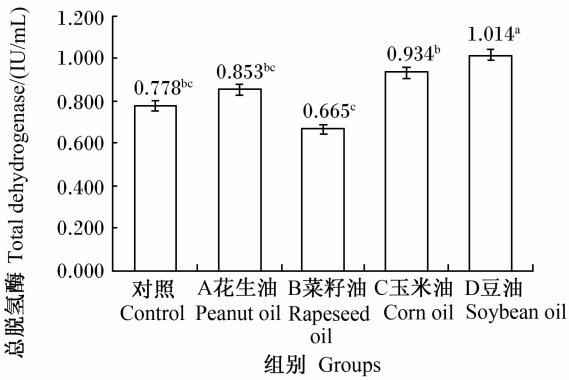


图 3 油脂对总脱氢酶活性的影响

Fig. 3 Effect of oils on total dehydrogenase activity *in vitro*

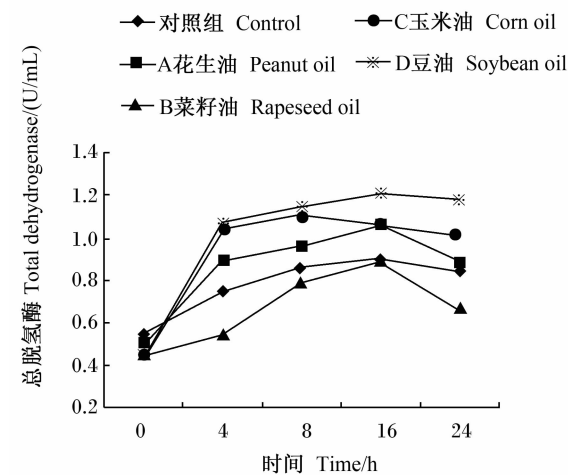


图4 培养液总脱氢酶活性变化趋势图
Fig. 4 The dynamics of total dehydrogenase activity with time *in vitro*

2.2 对甲烷产量与辅酶 F₄₂₀ 荧光值的影响

由图5可知,甲烷产量和甲烷/总产气量比率在组间差异显著,皆以没加油脂的对照组为最高,显著或极显著高于各油脂组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。从油脂试验组看来,甲烷产量以豆油和菜籽油2组最低,显著低于花生油和玉米油组 ($P < 0.05$);但甲烷/总产气量比率却仅以豆油组最低,而菜籽油组虽甲烷产量最低,但其与总产气量的比率却在各油脂组中最高。另外,甲烷/总产气量比率有从B到D逐渐下降的趋势。

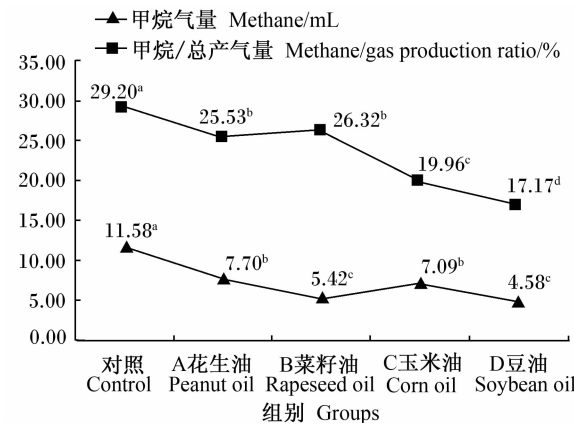


图5 油脂对甲烷和其占总产气量比率的影响
Fig. 5 Effect of oils on methane production and methane to total gas ratio

由图6可知,辅酶 F₄₂₀ 荧光值对照组最高,显著高于玉米油和豆油组 ($P < 0.05$),极显著高于菜籽油组 ($P < 0.01$);油脂组中以菜籽油和豆油2组

较低,菜籽油显著低于花生油和玉米油组 ($P < 0.05$),并且除菜籽油外有随油脂不饱和程度增加而降低的趋势,其高低顺序与甲烷产量基本一致,为此,进一步进行相关变量相关性分析。

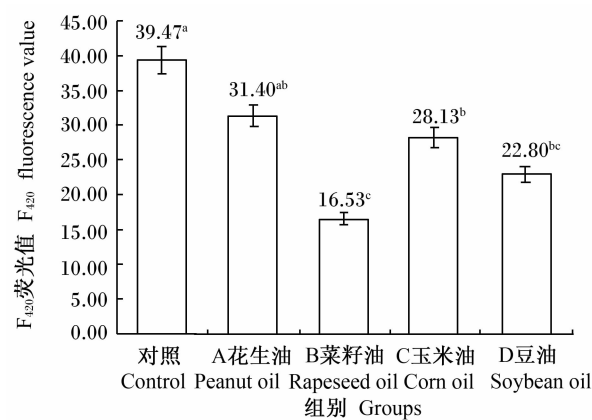


图6 油脂对培养液 F₄₂₀ 荧光值的影响
Fig. 6 Effect of oils on F₄₂₀ fluorescence value in culture medium

2.3 产气量、甲烷产量、总脱氢酶活性及辅酶 F₄₂₀ 荧光值相关性分析

产气量、甲烷产量、总脱氢酶活性及辅酶 F₄₂₀ 荧光值相关性分析结果见表2。辅酶 F₄₂₀ 荧光值与甲烷产量的 Pearson 相关系数为 0.916,与总产气量相关系数为 0.905,相关皆极显著 (2-尾 < 0.01)。而总脱氢酶与甲烷/总产气量为极显著负相关 (2-尾 < 0.01)。另外,甲烷产量与总产气量、甲烷/总产气量的相关系数分别为 0.829、0.704,相关皆极显著 (2-尾 < 0.01)。其他各指标间的相关性皆不显著 (2-尾 > 0.05)。

3 讨论

3.1 油脂对产气量与总脱氢酶活性的影响

在瘤胃中,气体伴随饲料中碳水化合物发酵成乙酸、丙酸、丁酸而产生,其中 CO₂ 可占65.5%,甲烷占28.8%及少量的 N₂、H₂ 和 O₂ [11]。暖气排出的甲烷不仅造成饲料能量的损耗,还对环境造成较大的影响。通过饲料调配或添加调控剂,改变发酵模式,则可能在一定程度上减少甲烷的生成。如丙酸与甲烷竞争有效氢,调控发酵增加丙酸产生,则可能降低甲烷产量 [12],进而减少产气量。Sallam 等 [13] 报道,添加桉树油可显著降低甲烷产量,并随添加量的增加效果增加。

表 2 总产气量、甲烷产量、总脱氢酶活性和辅酶 F₄₂₀ 荧光值相关性分析

Table 2 The correlation analysis among gas production, methane production, total dehydrogenase activity and F₄₂₀ value

项目 Items		总产气量 Gas production	甲烷产量 Methane production	甲烷/总产气量 Methane/gas production	总脱氢酶 Total dehydrogenase	辅酶 F ₄₂₀ 荧光值 F ₄₂₀ fluorescence value
总产气量 Gas production	Pearson correlation	1	0.829 **	0.199	0.213	0.905 **
	Sig. (2-tailed)		0.000	0.476	0.446	0.000
	N	15	15	15	15	15
甲烷产量 Methane production	Pearson correlation		1	0.704 **	-0.275	0.916 **
	Sig. (2-tailed)			0.003	0.322	0.000
	N		15	15	15	15
甲烷/总产气量 Methane/gas production	Pearson correlation			1	-0.814 **	0.444
	Sig. (2-tailed)				0.000	0.097
	N			15	15	15
总脱氢酶 Total dehydrogenase	Pearson correlation				1	0.063
	Sig. (2-tailed)					0.823
	N				15	15
辅酶 F ₄₂₀ 荧光值 F ₄₂₀ fluorescence value	Pearson correlation					1
	Sig. (2-tailed)					
	N					15

** 为相关极显著(2 - 尾 < 0.01) ; * 为相关显著(2 - 尾 < 0.05)。
** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed). * Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

本试验中,所有油脂试验组的产气量均低于对照组,这可能是因为油脂对原虫和甲烷菌有一定的毒害作用,导致甲烷菌减少;还可能由于油脂不同程度地限制某些产气瘤胃微生物的活性,如:甲烷菌失去了寄生体从而减少了生物量,并降低了生物活性^[14],改变了发酵模式而影响产气所致。这从上述的油脂组甲烷产量下降的结果中可以得到数据的支持。各试验组中以不饱和程度最高的豆油组的产气量较低,比对照组降低了 32.77%;而不饱和程度最低的花生油组最高,比对照组降低了8.42%。可见不饱和程度越高,对某些产气的瘤胃微生物的活性与产气活动的抑制程度越高。这与 Jalč 等^[15-16]使用不同油脂如菜籽油、亚麻油、樱草油和紫草油等对瘤胃微生物产气的抑制程度不同的结果较为一致。Avila 等^[17]研究也发现油脂对瘤胃发酵影响效应随不饱和程度加大而加大。例外的是,菜籽油的不饱和程度比豆油低,但其产气量却显著低于豆油组,而且该组其他的指标如微生物量、总脱氢酶活性等也都较低,其原因是否与菜籽油含有的芥酸^[18]与培养液中的氨在培养过程中经由微生物复杂的作用,形成有毒性的三聚氰酸、芥酸酰胺等物质有关,具体原因有

待进一步的研究。

表征微生物活力的总脱氢酶活性也以豆油组最高,显著高于对照组,而玉米油组次之,花生油组再次之,除菜籽油组外与油脂试验总产气量的高低顺序相反,该结果看似与油脂对微生物产气的抑制作用相悖,但其原因可解释为:油脂对瘤胃微生物的活性有一定的抑制效应,饲料中油脂的添加量一般不高于 7%,但由于微生物中不同种类的自身特点,其对油脂的应答也有所不同。本试验添加 4% 的适度不饱和油脂可能对瘤胃细菌的抑制作用相对较小,而对体壁较薄的原虫抑制作用相对较大^[4],从而降低了原虫的群体生物量,继而降低了甲烷菌的生物量和甲烷产量;这同时也抑制了原虫的吞噬力^[5,7]而减少了原虫对细菌的吞噬,进而增加了细菌的数量^[6]并提高了其活力,最终提高了微生物的生物总量及微生物总的活力所致。

3.2 油脂对甲烷产量及辅酶 F₄₂₀ 荧光值的影响

瘤胃液中各种酶的活性与瘤胃微生物的数量和代谢之间密切相关,可在一定程度上以表征微生物的活力及相应代谢的强度。辅酶 F₄₂₀ 是甲烷合成的重要酶,在各种产甲烷菌中均存在,紫外光

激发下发出蓝绿色荧光^[19]。Dolfing 等^[20]认为辅酶 F₄₂₀ 可作为衡量甲烷菌活性的指标。本研究中, 对照组辅酶 F₄₂₀ 荧光值显著高于各油脂试验组, 这说明油脂对甲烷菌的活性有一定的抑制作用。油脂组中辅酶 F₄₂₀ 的荧光值除菜籽油外, 有随油脂不饱和程度增加而逐渐降低的趋势, 同时甲烷/总产气量比率也有从 B 到 D 逐渐下降的趋势。表明油脂的不饱和程度越高, 抑制甲烷产生的效果越好。而菜籽油组虽甲烷产量最低, 但其总产气量也低, 导致甲烷与总产气量的比率较高, 这可能是菜籽油不仅抑制甲烷菌, 还抑制其他微生物的活性, 这与上述结果中该组总脱氢酶活性最低, 表示微生物活力低相吻合。

本研究中辅酶 F₄₂₀ 荧光值高低顺序与甲烷产量基本一致, 进一步的相关分析结果表明了辅酶 F₄₂₀ 荧光值与甲烷产量、总产气量的相关皆极显著。说明了辅酶 F₄₂₀ 与产气, 尤其是甲烷产量密切相关, 这一结果如果得到其他体外、体内试验重复验证, 其意义在于可以作为产气、甲烷产量的表征指标。另外, 总脱氢酶与甲烷/总产气量的相关系数为 -0.814, 呈极显著负相关, 其主要原因可能是本研究是借助一定比例的油脂适度抑制原虫、甲烷菌, 起到了提高总微生物活力, 改变发酵模式的效应, 而使得总脱氢酶活性与甲烷/总产气量的变化不一致, 但具体原因还需进一步对各区系微生物进行测定等试验研究的验证。

4 结 论

① 在本试验所选油脂研究结果的基础上可见, 油脂在一定程度上能够抑制甲烷产量和总产气量, 其效应随着油脂不饱和程度的加大而加大, 并以豆油的效果较佳。

② 辅酶 F₄₂₀ 荧光值与甲烷产量及总产气量的相关皆极显著。

参考文献:

- [1] HOLTER J B, YOUNG A J. Methane production in dry and lactating Holstein cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 1992, 72:2165-2175.
- [2] TAKAHASHI J. Nutritional manipulation of methanogenesis in ruminants[J]. *Journal of Animal Science*, 2001, 14:131-135.
- [3] BUSQUET M, CALSAMIGLIA S, FERRET A, et al. Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation[J]. *Journal of Dairy Science*, 2005, 88:4393-4404.
- [4] JALČ D, ČERTIK M, KUNDRIKOVA K, et al. Effect of microbial oil and fish oil on rumen fermentation and metabolism of fatty acids in artificial rumen[J]. *Czech Journal of Animal Science*, 2009, 54(5):229-237.
- [5] OLDICK B S, FIRKINS J L. Effects of degree of fat saturation on fiber digestion and microbial protein synthesis when diets are fed twelve times daily[J]. *Journal of Animal Science*, 2000, 78:2412-2420.
- [6] NHAN N T H, NGU N T, THIET N, et al. Determination of the optimum level of a soybean oil drench with respect to the rumen ecosystem, feed intake and digestibility in cattle[J]. *Livestock Research for Rural Development*. 2007, 19(8):117-118.
- [7] WANG M Z, WANG H R, YU L H. Effects of NDF Content on Protozoal Community and Grazing Rate in Rumen[J]. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2009, 8(9):1746-1752.
- [8] MENKE K H, STEINGASS H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid[J]. *Animal Research and Development*, 1988, 28:7-55.
- [9] 俞毓馨, 吴国庆, 孟宪庭. 环境工程微生物检验手册[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990.
- [10] HUMEYAN D B, NAGARAJA T G, MILLER G W, et al. Rumen microbial changes in cattle fed diets with or without salinomycin[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1986, 51(2):340-345.
- [11] FAICHNEY G J. Rumen physiology: the key to understanding the conversion of plants into animal products[J]. *Australian Journal of Agricultural Research*, 1996, 47(2):163-174.
- [12] PEN B, SAR C, MWENYA B, et al. Effects of *Yucca schidigera* and *Quillajasaponaria* extracts on *in vitro* ruminal fermentation and methane emission[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2006, 129:175-186.
- [13] SALLAM S M A, BUENO I C S, BRIGIDE P, et al. Efficacy of eucalyptus oil on *in vitro* ruminal fermentation and methane production [J]. *Options Méditerranéennes, Nutritional and Foraging Ecology of Sheep and Goats*, 2009, Series A (85):267-272.
- [14] TOKURA M, CHAGAN I, USHIDA K, et al. Phyloge-

- netic study of methanogens associated with rumen ciliates[J]. *Current Microbiology*, 1999, 39:123–128.
- [15] JALČ D, POTKANSKI A, SZUMACHER-STRABEL M, et al. Effect of microbial oil, evening primrose oil on rumen fermentation *in vitro*[J]. *Veterinary Medicine Czech*, 2005, 50 (11):480–486.
- [16] JALČ D, ČEREŠŇÁKOVÁ Z. Effect of plant oils and malate on rumen fermentation *in vitro*[J]. *Czech Journal of Animal Science*, 2002, 47(3):106–111.
- [17] AVILA C D, DE PETERS E J, PEREZ-MONTI H, et al. Influences of saturation ratio of supplemental dietary fat on digestion and milk yield in dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2000, 83:1505–1519.
- [18] 陈蛋,陈斌,陆道礼,等. 近红外光谱分析法测定菜籽油中芥酸的含量[J]. *农业工程学报*, 2007, 23(1):234–237.
- [19] TZENG S F, WOLFE R S, BRYANT M P. Factor 420-dependent tyridine nucleotide-linked hydrogenase system of *Methanobacterium ruminantium*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1975, 121(1):184–191.
- [20] DOLFING J, WILLEM J. Comparison of methane production rate and coenzyme F₄₂₀ content of methanogenic consortia in anaerobic granular sludge[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1985, 49(5):1142–1145.

Supplementation of Four Different Oils Affects Gas Production and Coenzyme F₄₂₀ of Ruminant Microbe *in Vitro*

WANG Mengzhi^{1,2} WANG Shu¹ PAN Xiaohua¹ WANG Hongrong¹ WANG Jiaqi²

(1. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 2. State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Science (IAS), Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS), Beijing 100193, China)

Abstract: The objective of this paper was to assay the effect of different oils supplementation on dynamics of gas production and coenzyme F₄₂₀ of ruminal microbe *in vitro*, using 3 *Xuhuai* white goats with permanent cannulas. Five groups were designed as follows: control group (no oil), peanut oil (A), rapeseed oil (B), corn oil (C), and soybean oil (D) respectively. Each group had 3 replicates and 1 fermentation bottle per replicate. The results showed as follows: 1) the volume of accumulated gas within 36 h was varied from 20.61 to 39.67 mL, except for the peanut oil group, the other oil groups were all significantly lower than the control group ($P < 0.05$); the gas production of the 5 groups showed fluctuation with time prolonging and significant differences were found in methane production and methane to gas production ratio among groups ($P < 0.05$), and methane to gas production ratio had a decreasing tendency from B to D. 2) Coenzyme F₄₂₀ fluorescence value of the control group was higher than that of the oil groups ($P < 0.05$), except for the rapeseed oil group, coenzyme F₄₂₀ fluorescence value decreased with increasing degrees of oil unsaturation. 3) Good correlations were observed between coenzyme F₄₂₀ fluorescence value and methane production ($r = 0.916$), coenzyme F₄₂₀ fluorescence value and gas production ($r = 0.905$) (2-tail < 0.01). 4) The total dehydrogenase activity of the soybean oil group was significantly higher than that of the control group, and was also higher than that of the corn oil, peanut oil and rapeseed oil groups in order ($P < 0.05$). Finally, it could be concluded that, the inhibiting effects of the oil supplementation on coenzyme F₄₂₀ fluorescence value, methane and gas production enhanced with increasing unsaturation degrees of the four kinds of oils, and soybean oil showed a remarkable effect comparatively. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2011, 23(10):1819-1825]

Key words: oil; rumen microbe; methane production; coenzyme F₄₂₀; gas production