

不同中性洗涤纤维与淀粉比例饲料对体外瘤胃发酵的影响

朱丹^{1,2} 张佩华^{2*} 赵勐^{1,3,4} 刘士杰⁵ 张开展⁶
卜登攀^{1,3,4*} WILLIAM P. Weiss⁷

(1.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所,动物营养国家重点实验室,北京 100193;2.湖南农业大学动物科学技术学院,长沙 410128;3.中国农业科学院与世界农用林业中心农用林业与可持续畜牧业联合实验室,北京 100081;4.东北农业大学食品安全与营养协调创新中心,哈尔滨 150030;5.中国饲料工业协会,北京 100125;6.北京中地种畜有限公司,北京 100028;7.俄亥俄州立大学动物科学技术学院,伍斯特 44691)

摘要: 本试验旨在探讨不同中性洗涤纤维与淀粉比例(NDF/starch)饲料对体外瘤胃发酵的影响。选用玉米青贮、燕麦干草和玉米调整饲料 NDF/starch, 配制 0.86 (I)、1.13 (II)、1.56 (III) 和 2.38 (IV) 4 种 NDF/starch 的全混合日粮, 采用 3 头体况良好且装有永久性瘤胃瘘管的荷斯坦奶牛作为瘤胃液的供体动物, 利用体外发酵试验结合动态产气实时记录技术, 测定累积产气量(2、6、12、24、36、48 h)、产气动力学参数和瘤胃发酵特性指标。结果表明: 1) 随着饲料 NDF/starch 的提高, 发酵 48 h 体外干物质降解率逐渐下降, I、II 组均显著高于 III、IV 组 ($P < 0.05$); 48 h 累积产气量和理论最大产气量呈下降趋势, IV 组显著低于其他各组 ($P < 0.05$); 组间达 1/2 理论最大产气量的时间、最大产气速率无显著差异 ($P > 0.05$)。2) NDF/starch 对发酵液氨态氮和微生物蛋白浓度影响不显著 ($P > 0.05$)。3) 随着饲料 NDF/starch 的增加, pH、乙酸/丙酸、乙酸/总挥发性脂肪酸呈显著或极显著增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 总挥发性脂肪酸、丙酸、丁酸浓度及丙酸/总挥发性脂肪酸呈显著或极显著下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。4) 不同 NDF/starch 饲料营养水平与体外发酵参数相关性分析表明, 48 h 累积产气量、理论最大产气量与淀粉含量、中性洗涤可溶物(NDS)含量、中性洗涤可溶物/粗蛋白质(NDS/CP)、非纤维性碳水化合物(NFC)含量呈极显著正相关关系 ($P < 0.01$), 而与中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)含量呈极显著负相关关系 ($P < 0.01$)。综合而言, 本试验条件下, 体外产气法测定饲料 NDF/starch 在 0.86~1.13 之间对体外瘤胃发酵较好。

关键词: 中性洗涤纤维; 淀粉; 饲料; 瘤胃发酵; 体外培养

中图分类号: S823

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2015)08-2580-09

碳水化合物是反刍动物饲料重要的组分成分, 一般占饲料的 70%~80%, 主要营养功能是为瘤胃微生物和宿主动物提供能量以及维持瘤胃的正常发酵和胃肠道的健康。存在于植物细胞壁中

的结构性碳水化合物(structural carbohydrate, SC) 主要组成部分为能全面体现饲料纤维含量的中性洗涤纤维(neutral detergent fiber, NDF), 而存在于细胞内容物中的非结构性碳水化合物(non-struct-

收稿日期: 2015-03-16

基金项目: 十二五科技支撑计划(2012BAD12B02-5) 动物营养学国家重点实验室自主课题(2004DA125184G1103); 中国农业科学院科技创新工程(ASTIP-IAS07)

作者简介: 朱丹(1988—), 女, 湖南浏阳人, 硕士研究生, 研究方向为反刍动物营养。E-mail: danningzz@163.com

* 通信作者: 张佩华, 副教授, 硕士生导师, E-mail: peiqin41-@163.com; 卜登攀, 研究员, 硕士生导师, E-mail: burdenpan@126.com

tural carbohydrate, NSC) 主要包括含量超过 80% 的淀粉。因此中性洗涤纤维与淀粉比例 (NDF/starch) 相比长久以来一直被人们沿用的饲料精粗比这一笼统指标, 可被描述为更为准确的饲料配方结构和更直接地反映饲料的易发酵程度。精粗比制约着瘤胃发酵内环境和细菌菌群数量的变化等, 但它只是将植物的茎叶和籽实部分加以区分, 体现的仅是纤维物质和非纤维物质含量上的差异。NDF 包括半纤维素、纤维素、木质素和少量磷酸盐, 对增进动物唾液的分泌、刺激反刍及增强瘤胃缓冲力等具有重要意义; 淀粉是完全由多个葡萄糖分子互相连接形成的高度聚合物, 是易发酵碳水化合物的主要组分, 能为动物机体提供重要的能量来源。故 NDF/starch 的提出对研究反刍动物瘤胃发酵特性具有更加直观的作用。之前有研究者发现, 适宜范围的 NDF/starch 饲料对维持动物良好的生产性能至关重要^[1-2], 但不同 NDF/starch 饲料对瘤胃发酵及微生物活动影响的研究报道仍比较少。美国国家研究委员会 (NRC) 在 1989 年推荐奶牛对于 NDF 需要量的最低限为 25%, 而没有确定 NDF 需要量的最佳水平。NRC (2001) 再度调整饲料中 NDF 需要量最低限, 指出以玉米为淀粉来源的奶牛饲料中 NDF 含量不小于 25% (干物质基础), 其中以粗料为来源的饲料不小于 19%^[3]。而对于淀粉来说, 通常认为当饲料含高精料或玉米青贮时, 淀粉含量应不高于 45%。

不同类型的精料和粗料的 NDF 含量对动物生理功能效果不一, 因此确定最佳 NDF/starch 的研究目前已受到国内外研究学者的广泛关注。因此, 本试验利用体外产气操作简单、费用低和重复性好等优点, 采用体外瘤胃发酵结合动态产气实时记录技术, 以调整玉米、玉米青贮和燕麦干草含量配制的 4 种不同 NDF/starch 全混合日粮 (total mixed ration, TMR) 为底物, 对 48 h 累积产气量、产气动力学参数和瘤胃发酵特性进行测定, 并探讨了饲料营养水平与产气参数的相关性, 旨在筛选 NDF/starch 适宜范围, 以期能为配制奶牛饲料提供理论指导和数据支持。

1 材料与方 法

1.1 样品采集与制备

从北京中地良种奶牛科技园区采集 8 种奶牛常用饲料原料, 包括粗料 (苜蓿干草、燕麦干草、玉米青贮)、能量饲料 (玉米、甜菜粕) 和蛋白质饲料 (豆粕、膨化大豆、全棉籽), 烘干粉碎后, 过 1 mm 网筛, 标号密封备用。

1.2 试验设计

参照 NRC (2001) 奶牛营养需要, 调整玉米、玉米青贮和燕麦干草含量配制的 4 种不同 NDF/starch TMR, 其余原料组成不变。4 组饲料 NDF/starch 分别为 0.86 (I)、1.13 (II)、1.56 (III) 和 2.38 (IV)。4 种试验饲料组成及营养水平见表 1。

表 1 4 种试验饲料组成及营养水平 (干物质基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of four experimental diets (DM basis)

%

项目 Items	组别 Groups			
	I	II	III	IV
原料 Ingredients				
苜蓿干草 Dried alfalfa hay	15.00	15.00	15.00	15.00
燕麦干草 Dried oat hay		5.00	10.00	15.00
玉米青贮 Corn silage	20.00	25.00	30.00	35.00
玉米 Corn	35.00	25.00	15.00	5.00
甜菜粕 Sugar beet pulp	2.50	2.50	2.50	2.50
豆粕 Soybean meal	15.00	15.00	15.00	15.00
膨化大豆 Extruded soybean	5.00	5.00	5.00	5.00
全棉籽 Whole cottonseed	3.00	3.00	3.00	3.00
脂肪粉 Fat powder ¹⁾	2.00	2.00	2.00	2.00
预混料 Premix ²⁾	0.50	0.50	0.50	0.50
食盐 NaCl	0.60	0.60	0.60	0.60

续表 1

项目 Items	组别 Groups			
	I	II	III	IV
石粉 Limestone	1.40	1.40	1.40	1.40
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels ³⁾				
干物质 DM	47.00	50.00	51.00	54.00
泌乳净能 NE _L /(MJ/kg)	1.83	1.76	1.69	1.62
有机物 OM	93.35	92.85	92.10	91.66
粗蛋白质 CP	17.04	17.52	17.57	17.60
粗脂肪 EE	4.54	4.42	4.42	4.57
淀粉 Starch	34.44	30.11	24.21	17.26
中性洗涤纤维 NDF	29.24	33.91	37.65	41.00
酸性洗涤纤维 ADF	18.09	20.55	24.95	27.67
半纤维素 HC	11.15	13.36	12.70	13.33
中性洗涤可溶物 NDS	70.26	66.09	62.35	59.00
非纤维性碳水化合物 NFC	42.12	37.00	32.46	28.24
钙 Ca	0.90	0.90	0.90	0.90
磷 P	0.40	0.40	0.40	0.40
中性洗涤纤维与淀粉比例 NDF/starch	0.86	1.13	1.56	2.38

¹⁾ 购自德国百事美公司, 主要成分分馏棕榈油、甘油。The product was from Berg-Schmidt Co. of Germany, and main compositions were palm fat and glycerinum.

²⁾ 每千克预混料含有 One kg of premix contained the following: VA 250 000 IU, VD₃ 65 000 IU, VE 2 100 IU, Cu (as copper sulfate) 540 mg, Zn (as ferrous sulfate) 2 100 mg, Mn (as manganese sulfate) 560 mg, I (as potassium iodide) 35 mg, Se (as sodium selenite) 15 mg, Co (as cobalt chloride) 68 mg。

³⁾ 泌乳净能、半纤维素、中性洗涤可溶物、非纤维性碳水化合物、中性洗涤纤维与淀粉比例为计算值, 其余为实测值。半纤维素 = 中性洗涤纤维 - 酸性洗涤纤维。中性洗涤可溶物 = 1 - 中性洗涤纤维。非纤维性碳水化合物 = 1 - (中性洗涤纤维 + 粗蛋白质 + 粗脂肪 + 粗灰分)。NE_L, HC, NDS, NFC and NDF/starch were calculated values, while the others were measured values. $HC = NDF - ADF$. $NDS = 1 - NDF$. $NFC = 1 - (NDF + CP + EE + ash)$.

1.3 试验动物及饲养管理

选用 3 头年龄相近、体况良好、体重 [(580 ± 21) kg] 相近且装有永久性瘤胃瘘管的荷斯坦奶牛为试验动物。试验牛采用单栏喂养, 每日基础饲料供给量满足日产奶 30 kg 营养需要, 精粗比为 41.2:58.8, 基础饲料饲喂为 TMR (组成质量分数为羊草 3.7%、苜蓿干草 28.4%、全株玉米青贮 26.7%、玉米 22.6%、豆粕 11.8%、全棉籽 5.1%、磷酸氢钙 0.6%、食盐 0.5%、预混料 0.6%)。试验期间 07:30、13:00 和 19:30 共饲喂 3 次, 全天自由采食, 自由饮水。

1.4 试验方法

1.4.1 瘤胃液采集

利用基础饲料预饲 7 d, 第 8 天晨饲前 2 h 从试验瘘管牛上下左右不同位点采集瘤胃液, 混匀后装于保温瓶迅速带回实验室, 然后在 39 °C 水浴环境中用 4 层纱布过滤, 并通入 CO₂。

1.4.2 缓冲液配制

参照 Menke 等^[4]的人工唾液方法进行调制。

1.4.3 体外培养

称取 500 mg 试验饲料样品 (每种饲料设 5 个平行, 1 个空白对照), 置于 150 mL 厌氧发酵罐中。接种时迅速向每个罐中加入于 39 °C 恒温箱预热的缓冲液 50 mL 和经 4 层纱布过滤的新鲜瘤胃液 25 mL, 并向罐中持续通入 CO₂ 5 s 后, 立即加上瓶塞。将每个发酵罐与中国农业大学研制的 AGRS-III 型 64 通路微生物发酵微量产气全自动记录装置与软件系统产气装置 (automated trace gas recording system for microbial fermentation, AGRS)^[5] 的每个传感器相连接, 于 39 °C 下连续培养 48 h。

1.4.4 样品采集与指标测定

在体外培养 48 h 后置于冰水中终止发酵, 从发酵罐中收集培养液, 立即用 pH 计 (Sartorius,

PB-10)测定发酵液的pH。并用10~40 μm孔径,5 cm×10 cm的尼龙袋过滤发酵液分装于4个10 mL离心管中,按与发酵液3:1的比例添加25%的偏磷酸溶液混匀固氮,于-20℃冷冻保存,尼龙袋内滤过的发酵液固相,用于体外干物质降解率(IVDMD)测定。微生物蛋白(MCP)浓度采用改进过的嘌呤法测定^[6-7];氨态氮(NH₃-N)浓度采用靛酚比色法测定^[8];挥发性脂肪酸(VFA)浓度采用气相色谱(Agilent 6890N GC system, Agilent, 美国)以外标法测定^[9]。

1.5 产气动力学模型分析

根据AGRS-Ⅲ型64通路微生物发酵微量产气全自动记录装置与软件系统实时记录各发酵瓶的产气时间和对应的累积产气量,参照Groot等^[10]指数模型对不同饲料累积产气量数据进行非线性拟合。得出:

$$GP_t = A/[1+(C/t)^B];$$

$$R_{\max}G = (A \times C^B \times B \times TR_{\max}G^{-B-1}) / (1 + C \times B \times TR_{\max}G^{-B})^2;$$

$$TR_{\max}G = C \times [(B-1)/(B-1)]^{1/B}。$$

式中: GP_t 为 t 时间点记录到的累积产气量(mL/g,干物质基础); A 为发酵时间无限延长时的理论最大产气量(mL/g); B 为所形成的产气曲线平滑度; C 为达1/2理论产气量最大值的时间(h); $R_{\max}G$ 为最大产气速率(mL/h); $TR_{\max}G$ 为达最大产气速率的时间(h)。

1.6 数据处理

试验数据使用Excel 2010进行初步整理,采用SAS 9.2软件的广义线性模型(GLM)和Duncan氏多重比较法进行分析,以 $P < 0.05$ 为差异显著性判断的标准。

2 结果与分析

2.1 不同NDF/starch饲料的体外发酵产气量和产气动力学参数

由表2和图1可知,48 h内,各组产气量变化一致,均呈逐渐升高趋势。6~48 h内,随着饲料NDF/starch的提高,各时间点产气量呈依次下降趋势,均为I组>II组>III组>IV组。在6和12 h

时,除III和IV组无显著性差异外($P > 0.05$),其他各组间差异均显著($P < 0.05$);24~48 h内,各组间产气量差异均显著($P < 0.05$)。I和II组发酵48 h IVDMD显著高于III和IV组($P < 0.05$),且I和II组之间、III和IV组之间的差异不显著($P > 0.05$)。各组饲料发酵前12 h处于快速上升,之后进入缓慢上升阶段。理论最大产气量以I组最高,II组次之,III组再次之,IV组最低,除II和III组之间差异不显著($P > 0.05$)外,其他各组间差异显著($P < 0.05$)。各组间产气曲线平滑度、达1/2理论最大产气量时间、最大产气速率及达最大产气速率的时间变化趋势为I组>II组>III组>IV组,但均无显著性差异($P > 0.05$)。

2.2 不同NDF/starch饲料对体外瘤胃发酵参数的影响

由表3可知,随着饲料NDF/starch的提高,pH、乙酸/丙酸、乙酸/总挥发性脂肪酸(TVFA)呈显著或极显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),TVFA、丙酸、丁酸浓度及丙酸/TVFA呈显著或极显著下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),乙酸浓度随NDF/starch的增加而呈增加趋势,但各组间无显著性差异($P > 0.05$),对于NH₃-N和MCP浓度而言,各组间差异不显著($P > 0.05$)。

2.3 不同NDF/starch饲料营养水平与体外产气参数的相关性

由表4可知,48 h累积产气量和理论最大产气量与淀粉、中性洗涤可溶物(NDS)、中性洗涤可溶物/粗蛋白质(NDS/CP)、非纤维性碳水化合物(NFC)含量呈正相关关系($P < 0.01$),而与NDF、酸性洗涤纤维(ADF)含量呈负相关关系($P < 0.01$);产气曲线平滑度与饲料营养水平无显著相关($P > 0.05$);达1/2理论最大产气量的时间与NDS、NDS/CP、NFC呈正相关关系($P < 0.01$),与淀粉含量呈正相关关系($P < 0.05$),而与NDF($P < 0.01$)、ADF($P < 0.05$)呈负相关关系;最大产气速率与饲料营养水平无显著相关($P > 0.05$);达最大产气速率的时间与粗蛋白质(CP)含量呈正相关关系($P < 0.01$),与淀粉、NDS含量呈正相关关系($P < 0.05$),而与ADF($P < 0.01$)、NDF含量($P < 0.05$)呈负相关关系。

表 2 不同中性洗涤纤维与淀粉比例饲料的体外发酵产气量和产气动力学参数

Table 2 GP and GP kinetic parameters of diets with different NDF/starch during *in vitro* fermentation

项目 Items	组别 Groups				SEM	P 值 P-value
	I	II	III	IV		
体外干物质降解率 IVDMD/%	89.98 ^a	88.79 ^a	83.26 ^b	82.80 ^b	0.827	<0.000 1
累积产气量 Accumulative GP/(mL/g)						
2 h	104.26 ^a	97.25 ^a	84.78 ^b	89.15 ^b	1.291	0.028 6
6 h	211.21 ^a	185.49 ^b	156.98 ^c	156.83 ^c	1.973	0.000 3
12 h	312.85 ^a	255.26 ^b	207.91 ^c	198.39 ^c	3.423	0.000 5
24 h	388.38 ^a	292.01 ^b	257.02 ^c	231.47 ^d	4.379	<0.000 1
36 h	406.56 ^a	297.79 ^b	275.06 ^c	237.60 ^d	4.715	<0.000 1
48 h	416.14 ^a	300.05 ^b	284.65 ^c	240.33 ^d	4.967	<0.000 1
理论最大产气量 Theoretical maximum GP/(mL/g)	459.68 ^a	327.31 ^b	319.98 ^b	262.20 ^c	4.708	<0.000 1
产气曲线平滑度 Smoothness of GP curve	1.11	1.07	1.01	1.00	0.016	0.088 1
达 1/2 理论产气量最大值的时间 Time of reaching 1/2 theoretical maximum GP/h	6.57	5.41	4.97	4.81	0.363	0.178 6
最大产气速率 Maximum GP rate/(mL/h)	60.28	58.11	54.56	50.00	5.332	0.845 7
达最大产气速率的时间 Time of reaching maximum GP rate/h	0.45	0.37	0.33	0.29	0.129	0.990 5

同行数据无字母或相同小写字母肩标表示差异不显著 ($P>0.05$), 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。表 3 同。

In the same row, values with no letter or the same small letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), while with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$). The same as Table 3.

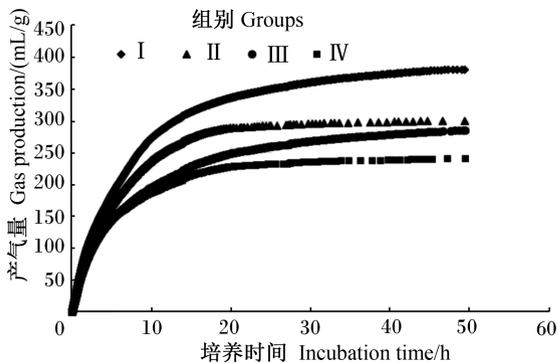


图 1 体外发酵产气量动态变化

Fig.1 Dynamic change of GP during *in vitro* fermentation

3 讨论

3.1 不同 NDF/starch 饲料对体外发酵产气量的影响

体外培养产气量是评定饲料可发酵程度的重要指标,它与饲料中有机物的降解程度存在高度相关性,即饲料的可发酵性越强,瘤胃中微生物的活性越高,产气量越大,反之则越少。本试验中,随着饲料 NDF/starch 的提高,IVDMD 呈依次下降趋势,6~48 h 累积产气量也逐渐下降。刘利平

等^[11]研究了不同比例玉米、稻草、银合欢组合对山羊体外瘤胃产气的影响,结果表明随着精料水平和玉米比例的提高,12~96 h 累积产气量呈增加趋势,与本试验 4 组饲料随玉米比重的增加即淀粉比例的提高产气量逐渐增加研究一致。郑文思等^[12]研究指出饲料 NDF 水平的降低与体外发酵总产气量、CH₄、CO₂ 产量存在极显著的正相关关系,与本试验结果吻合。本试验结果显示,饲料的可发酵程度随着饲料 starch 比例的提高而提高,为 I 组>II 组>III 组>IV 组,这主要是因为易发酵的碳水化合物含量随之增加,促进了瘤胃微生物自身繁殖及微生物对发酵所需能量的利用。理论最大产气量是根据 48 h 累积产气量计算出来的,它们呈正比例关系,所以理论最大产气量也是随 NDF/starch 增加依次降低,各组间差异显著。产气曲线平滑度、达 1/2 理论最大产气量的时间、最大产气速率及达最大产气速率的时间各组间差异均不显著。

3.2 不同 NDF/starch 饲料对瘤胃发酵参数的影响

pH 是衡量瘤胃发酵状况的关键指标。本试验中发酵液 pH 均维持在 6.77~6.90,各组的 pH 均在文献报道的范围(5.7~7.5)内,处于正常生理

范围之间,适合瘤胃纤维分解菌的生长^[13]。反刍动物瘤胃内纤维分解菌、淀粉分解菌的主要发酵底物分别为纤维素、淀粉,粗料中的纤维素和半纤维素比淀粉等非结构性碳水化合物更难分解,产生的挥发性脂肪酸减少,故 pH 得到提高^[14]。另

外, Yang 等^[15]研究指出,瘤胃 pH 主要受饲料精粗比和营养水平影响,与淀粉消化存在高度相关性。因此,综合以上研究,本试验结果显示随着 NDF/starch 的上升,瘤胃液 pH 逐渐增加,主要是由于饲料玉米比例的下降及粗料水平的增加。

表 3 不同中性洗涤纤维与淀粉比例饲料对体外瘤胃发酵参数的影响

Table 3 Effects of different NDF/starch diets on *in vitro* rumen fermentation parameters

项目 Items	组别 Groups				SEM	P 值 P-value
	I	II	III	IV		
pH	6.77 ^b	6.82 ^{ab}	6.89 ^a	6.90 ^a	0.020	0.043 8
氨态氮 NH ₃ -N/(mg/dL)	9.30	12.22	10.47	13.40	0.910	0.443 9
微生物蛋白 MCP/(mg/mL)	1.46	1.73	1.66	1.72	0.047	0.148 8
总挥发性脂肪酸 TVFA/(mmol/L)	96.04 ^a	94.05 ^{ab}	91.95 ^{bc}	90.22 ^c	0.703	0.011 6
乙酸 Acetate/(mmol/L)	58.94	59.32	61.16	63.21	0.871	0.321 0
丙酸 Propionate/(mmol/L)	26.33 ^a	24.73 ^a	22.02 ^b	18.82 ^c	0.718	<0.000 1
丁酸 Butyrate/(mmol/L)	10.78 ^a	10.00 ^b	8.77 ^c	8.19 ^c	0.305	<0.000 1
乙酸/丙酸 Acetate/propionate	2.24 ^d	2.40 ^c	2.78 ^b	3.36 ^a	0.136	<0.000 1
乙酸/总挥发性脂肪酸 Acetate/TVFA/%	61.36 ^c	63.07 ^c	66.51 ^b	70.06 ^a	0.824	<0.000 1
丙酸/总挥发性脂肪酸 Propionate/TVFA/%	27.41 ^a	26.29 ^a	23.94 ^b	20.86 ^c	0.642	<0.000 1

表 4 不同中性洗涤纤维与淀粉比例饲料营养水平与体外产气参数的相关性

Table 4 Correlation between nutrient levels of different NDF/starch diets and *in vitro* GP parameters

项目 Items	粗蛋 白质 CP	中性洗 涤纤维 NDF	酸性洗 涤纤维 ADF	半纤维素 HC	淀粉 Starch	中性洗涤 可溶物 NDS	中性洗涤 可溶物/ 粗蛋白质 NDS/CP	非纤维性 碳水化合物 NFC
48 h 累积产气量 Accumulative GP in 48 h (mL/g)	0.079 8	-0.811 4 **	-0.772 6 **	-0.303 0	0.757 0 **	0.811 4 **	0.825 6 **	0.808 2 **
理论最大产气量 Theoretical maximum GP/(mL/g)	0.037 3	-0.808 5 **	-0.759 1 **	-0.328 9	0.752 4 **	0.808 5 **	0.831 8 **	0.802 5 **
产气曲线平滑度 Smoothness of GP curve	-0.092 8	0.247 5	0.240 8	0.079 4	-0.311 3	-0.247 5	-0.241 2	-0.217 3
达 1/2 理论产气量 最大值的时间 Time of reaching 1/2 theoretical maximum GP/h	-0.110 8	-0.583 9 **	-0.488 5 *	-0.387 8	0.502 1 *	0.583 9 **	0.654 3 **	0.566 4 **
最大产气速率 Maximum GP rate/(mL/h)	-0.299 7	0.302 2	0.289 7	0.107 9	0.303 9	0.302 2	0.334 3	-0.291 4
达最大产气速率的时间 Time of reaching maximum GP rate/h	0.618 0 **	-0.462 5 *	-0.614 3 **	0.265 6	0.482 4 *	0.462 5 *	0.395 1	0.473 0

* 为显著相关 ($P < 0.05$), ** 为极显著相关 ($P < 0.01$)。

* meant significant correlation ($P < 0.05$), and ** meant extremely significant correlation ($P < 0.01$).

$\text{NH}_3\text{-N}$ 是动物瘤胃内含氮物质及内源氮分解的终产物,同时又是微生物合成 MCP 的主要原料。Ortega 等^[16]认为瘤胃微生物所需 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的最佳浓度在 6.3~27.5 mg/dL。本试验中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度为 9.30~13.40 mg/dL,但各组间均无显著差异,说明 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度适合微生物生长和 MCP 合成,并且不受 NDF/starch 的影响。与本试验研究一致,张建勋等^[17]对南江黄羊瘤胃体外发酵特性研究发现,精粗比对 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度影响不显著。张爱忠等^[18]研究不同精粗比饲料条件下绒山羊瘤胃内环境和发酵指标动态变化时,也得到与本试验类似的结论。而华金玲等^[19]研究发现 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度随着精料水平的增加而增加,与本试验研究结果不吻合。 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度取决于饲料蛋白质的降解性、瘤胃壁吸收、食糜排空速度和瘤胃微生物对其利用程度。本试验由于是体外发酵,所以 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度并不会收到瘤胃壁吸收和食糜排空速度的影响,因此各组 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度没有差异可能的原因是瘤胃内微生物的数量会随饲料 starch 比例的提高而增加,较多的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 被细菌利用,使各组饲料的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度差异不显著。MCP 浓度受饲料 CP 含量、瘤胃易发酵来源及碳水化合物降解的同步性影响,本试验中各组饲料 MCP 浓度无显著性差异,推断与 4 组饲料的蛋白质水平相近有关。

瘤胃碳水化合物发酵的主要产物是乙酸、丙酸和丁酸等挥发性脂肪酸,占 TVFA 的 95%左右,其中乙酸占 TVFA 的 70%~75%^[20]。它们是反刍动物重要的能量来源及合成乳脂和乳糖的主要前体物质。高粗料饲料中纤维含量高,纤维分解菌占优势,乙酸比例提高;高精料饲料中淀粉含量高,有利于淀粉分解菌和瘤胃原虫的生长繁殖,表现为丙酸和丁酸比例升高^[21-22]。杨红建等^[23]研究表明 TVFA 产量与饲料可发酵纤维素和可发酵淀粉比率呈负相关。王仁杰^[24]对不同精粗比饲料中添加异位酸时体外发酵特性研究表明,未添加异位酸时,随精粗比从 30:70 上升到 70:30,乙酸/TVFA 显著下降,而丙酸/TVFA 显著升高。本试验研究结果与上述研究结果一致。

3.3 不同 NDF/starch 饲料养分与瘤胃产气量及发酵参数的相关性

饲料类型与瘤胃发酵之间紧密相连。阳伏林等^[25]认为,底物发酵时的主要产气来源物质是碳水化合物及 CP,而饲料 NSC/CP 对体外发酵产气

特性有决定性作用,并指出 48 h 的产气量和理论最大产气量与底物的 CP、NDS 含量存在正相关关系,而与 NDF、ADF 含量及 NDS/CP 呈负相关关系。Khazaal 等^[26]研究希腊灌木对体外产气的影响发现,不同培养时间的产气量 CP 呈不显著的正相关关系。汤少勋等^[27]对豆科和蓼科组合牧草的研究发现,48 h 累积产气量与 ADF、NDS 含量及 NDS/CP 呈显著正相关关系,而与 CP、NDF 及 HC 的含量呈显著负相关关系。崔占鸿等^[28]对青海高原燕麦 (*Arrhenatherum elatius*) 青干草与藏嵩草、金露梅、珠芽蓼等天然牧草组合时体外产气特性研究表明,48 h 累积产气量及理论最大产气量与 NDS 含量呈极显著正相关关系,与 CP 呈不显著的正相关关系,与 NDF、HC 含量呈极显著负相关关系;产气速率与 NDS 含量呈不显著正相关关系,而与 HC 含量呈极显著负相关关系。本研究中,48 h 累积产气量、理论最大产气量与淀粉、NDS、NFC 含量及 NDS/CP 均呈极显著正相关关系,与 CP 含量呈不显著正相关关系,分别与 NDF、ADF 含量均呈极显著负相关关系,与 HC 含量呈不显著负相关关系;最大产气速率与 NDF、ADF、HC、淀粉、NDS 含量及 NDS/CP 呈不显著正相关关系,而与 CP、NFC 含量呈不显著负相关关系。这与以上有的研究结果一致,有的则不完全相同。因此,饲料营养物质供给是否平衡,会极大程度上影响瘤胃微生物的活力和生长繁殖,继续深入研究不同地域、畜种、粗料和精料的配合比例及其产生机理至关重要。

4 结 论

体外产气法测定饲料 NDF/starch 在 0.86~1.13 之间对体外瘤胃发酵特性较好。

参考文献:

- [1] 朱岩丽,李福昌,王春阳,等.不同中性洗涤纤维与淀粉比例饲料对生长肉兔生产性能、盲肠发酵及胃肠道发育的影响[J].动物营养学报,2013,25(8):1791-1798.
- [2] 段智勇.反刍动物日粮中淀粉与纤维的组合效应及其机理的研究[D].博士学位论文.杭州:浙江大学,2006.
- [3] NRC.Nutrient requirements of dairy cattle[S].7th ed. Washington, D.C.: National Academy Press,2001.
- [4] MENKE K H, STEINGASS H. Estimation of the ener-

- getic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid[J]. *Animal Research and Development*, 1988, 28(1): 47-55.
- [5] 沈英,宋正河,杨红建,等.基于虚拟仪器技术的饲料体外发酵产气自动记录系统的研制[J]. *农业工程学报*, 2006, 22(12): 159-163.
- [6] MAKKAR H P S, BECKER K. Purine quantification in digesta from ruminants by spectrophotometric and HPLC methods[J]. *British Journal of Nutrition*, 1999, 81(2): 107-112.
- [7] ZINN R A, OWENS F N. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis [J]. *Canadian Journal of Animal Science*, 1986, 66(1): 157-166.
- [8] 王加启.反刍动物营养学研究方法[M].北京:现代教育出版社, 2011.
- [9] 丁洪涛,夏冬华,秦珊珊,等.枯草芽孢杆菌对奶牛体外瘤胃发酵的影响[J]. *饲料研究*, 2012(1): 57-59.
- [10] GROOT J C J, CONE J W, WILLIAMS B A, et al. Multiphasic analysis of gas production kinetics for *in vitro* fermentation of ruminant feeds[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 1996, 64(1): 77-89.
- [11] 刘利平,王之盛,蔡义民,等.玉米、稻草、银合欢组合对山羊瘤胃产气、含羞草素降解的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2010, 46(21): 56-59.
- [12] 郑文思,赵广永,张婷婷,等.应用体外发酵法研究高精料饲料 NSC/NDF 与甲烷产量之间的关系[J]. *动物营养学报*, 2013, 25(10): 2315-2324.
- [13] 李国祥,王梦芝,李世霞,等.丝兰提取物对山羊瘤胃发酵参数、原虫密度及甲烷产量的影响[J]. *饲料工业*, 2008, 29(18): 15-18.
- [14] 冯仰廉.反刍动物营养学[M].北京:科学出版社, 2004: 136-138.
- [15] YANG W Z, BEAUCHEMIN K A, RODE L M. Effects of grain processing, forage to concentrate ratio, and forage particle size on rumen pH and digestion by dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2001, 84(10): 2203-2216.
- [16] ORTEGA M E, STERN M D, SATTER L D, et al. The effect of rumen ammonia concentrate on dry matter disappearance *in situ*[J]. *Journal of Dairy Science*, 1979, 62: 76(Abstract).
- [17] 张建勋,刘江波,薛白,等.饲料精粗比对南江黄羊瘤胃体外发酵的影响[J]. *动物营养学报*, 2013, 25(4): 870-877.
- [18] 张爱忠,卢德勋,王立志,等.不同精粗比日粮条件下绒山羊瘤胃内环境和发酵指标动态变化的研究[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2005(12): 23-25.
- [19] 华金玲,郭亮,王立克,等.不同精粗比日粮对黄淮白山羊瘤胃内环境的影响[J]. *中国兽医学报*, 2013, 33(6): 913-917.
- [20] 冯仰廉.反刍动物营养学[M].北京:科学出版社, 2004: 337-339.
- [21] NOCEK J E, TAMMINGA S. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition [J]. *Journal of Dairy Science*, 1991, 74(10): 3598-3629.
- [22] Demeyer D I. Rumen microbes and digestion of plant cell walls [J]. *Agriculture and Environment*, 1981, 6(2/3): 295-337.
- [23] 杨红建,冯仰廉.不同纤维素与淀粉比率等氮纯化日粮瘤胃发酵挥发性脂肪酸产生量[J]. *中国畜牧杂志*, 2003, 39(5): 9-11.
- [24] 王仁杰.异位酸对南江黄羊体外瘤胃发酵、生产性能及血液指标的影响[D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学, 2012.
- [25] 阳伏林,丁学智,史海山,等.苜蓿干草和秸秆组合体外发酵营养特性及其利用研究[J]. *草业科学*, 2008, 25(3): 61-67.
- [26] KHAZAAL K, MARKANTONATOS X, NASTIS A, et al. Changes with maturity in fibre composition and levels of extractable polyphenols in Greek browse: effects on *in vitro* gas production and *in sacco* dry matter degradation [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1993, 63(2): 237-244.
- [27] 汤少勋,姜海林,周传社,等.豆科和蓼科牧草的组合发酵特性研究[J]. *草业学报*, 2005, 14(5): 59-65.
- [28] 崔占鸿,郝力壮,刘书杰,等.体外产气法评价青海高原燕麦青干草与天然牧草组合效应[J]. *草业学报*, 2012, 21(3): 250-257.

Effects of Different Neutral Detergent Fiber to Starch Ratio Diets on Rumen Fermentation *in Vitro*

ZHU Dan^{1,2} ZHANG Peihua^{2*} ZHAO Meng^{1,3,4} LIU Shijie⁵
ZHANG Kaizhan⁶ BU Dengpan^{1,3,4*} WILLIAM P. Weiss⁷

(1. State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 3. CAAS-ICRAF Joint Laboratory on Agroforestry and Sustainable Animal Husbandry, Beijing 100081, China; 4. Synergetic Innovation Center of Food Safety and Nutrition, Northeast Agriculture University, Harbin 150030, China; 5. China Feed Industry Association, Beijing 100125, China; 6. Beijing Sino Farm Ltd., Co., Beijing 100028, China; 7. College of Animal Science and Technology, Ohio State University, Wooster 44691, USA)

Abstract: This experiment was conducted to examine the effects of different neutral detergent fiber to starch ratio (NDF/starch) diets on rumen fermentation *in vitro*. Corn silage, dried oat hay and corn were used to adjust the NDF/starch of total mixed rations, and NDF/starch was 0.86 (I), 1.13 (II), 1.56 (III) and 2.38 (IV), respectively. Three healthy Holstein cows fitted with permanent ruminal cannulas were used as the donor of rumen fluid. Accumulative gas production in 2, 6, 12, 24, 36 and 72 h, gas production kinetic parameters and rumen fermentation parameters of the diets were determined by combining the method of *in vitro* rumen fermentation and the technique of real-time recording of gas production. The results showed as follows: 1) with the increase of dietary NDF/starch, *in vitro* dry matter degradation rate after 48 h fermentation was decreased, and groups I and II were significantly higher than groups III and IV ($P < 0.05$); accumulative gas production in 48 h and theoretical maximum gas production ranked in descending order, and group IV was significantly higher than the other groups ($P < 0.05$). No significant differences in the time of reaching 1/2 theoretical maximum gas production and the maximum gas production rate among all groups were observed ($P > 0.05$). 2) The concentrations of ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) and microbial protein in fermentation fluid were not affected by dietary NDF/starch ($P > 0.05$). 3) With the increase of dietary NDF/starch, pH, acetate/propionate and acetate/total volatile fatty acid (TVFA) were significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), but TVFA, propionate, butyrate and propionate/TVFA were significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). 4) Correlation between nutrient levels of different NDF/starch diets and fermentation parameters *in vitro* showed that the accumulative gas production in 48 h and theoretical maximum gas production were significantly positive related to the contents of starch, neutral detergent soluble (NDS) and non-fiber carbohydrate (NFC), as well as NDS/CP ($P < 0.01$), and also were significantly negative related to neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) contents ($P < 0.01$). In conclusion, the results of *in vitro* gas production method indicate that dietary NDF/starch between 0.86 and 1.13 can promote rumen fermentation under the present experimental conditions. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(8):2580-2588]

Key words: neutral detergent fiber; starch; diets; rumen fermentation; *in vitro*

* Corresponding authors: ZHANG Peihua, associate professor, E-mail: peiqin41-@163.com; BU Dengpan, professor, E-mail: burdenpan@126.com (责任编辑 王智航)