

外源性复合酶制剂对体外瘤胃发酵及奶牛产奶性能的影响

李艳玲¹ 张 民² 柴建民³ 刁其玉^{3*}

(1.北京农学院动物科学技术学院,奶牛营养学北京市重点实验室,北京 102206;2.湖南尤特尔生化有限公司上海分公司,上海 201201;3.中国农业科学院饲料研究所,农业部饲料生物技术重点实验室,北京 100081)

摘 要: 本试验旨在研究添加不同剂量的外源性复合酶制剂对体外瘤胃发酵以及奶牛产奶性能的影响。体外试验采用体外产气法,在培养底物中添加 0(对照)、0.5、1.0 和 2.0 g/kg 的复合酶制剂,在体外模拟瘤胃发酵培养 48 h,测定底物的营养物质降解率、微生物蛋白(MCP)产量及体外发酵参数。动物试验利用高产荷斯坦奶牛开展,选择 80 头产奶量和泌乳天数接近的经产奶牛,分为 4 组,按照完全随机区组设计,将相同胎次的牛随机分配到各组中,分别饲喂 0(对照)、10、20 和 40 g/(头·d)的复合酶制剂,试验期 56 d。体外试验结果表明:底物中添加复合酶制剂对体外 48 h 总产气量、总挥发性脂肪酸(TVFA)浓度和各挥发性脂肪酸(VFA)含量(除异戊酸含量外)没有显著影响($P>0.05$),但显著影响发酵液 pH($P=0.04$)。随复合酶制剂添加量的增加,乙酸含量呈线性增加的趋势($P=0.10$),丁酸含量呈线性下降的趋势($P=0.07$)。复合酶制剂的添加显著提高中性洗涤纤维降解率($P<0.01$),而且发酵液 MCP 产量随复合酶制剂添加量的增加呈上升趋势($P=0.07$)。动物试验结果表明:饲料中添加复合酶制剂对产奶量没有显著影响($P>0.05$),但 40 g/(头·d)组产奶量和 4%校正乳产量在数值上最高,分别比对照组提高 1.4 和 2.6 kg/(头·d)。除非脂固形物率外,饲料中添加复合酶制剂对乳成分含量及产量没有显著影响($P>0.05$),但 10 g/(头·d)组乳脂率和乳蛋白率在数值上最高,分别比对照组高 0.25 和 0.01 个百分点,且该组奶牛的非脂固形物率显著高于其他组($P=0.04$)。由以上 2 部分试验结果可见,添加外源性复合酶制剂会影响体外瘤胃发酵和营养物质的消化并潜在提高奶牛的产奶量和乳成分含量,且与复合酶制剂的添加量有关,综合考虑,推荐饲喂量为 10 g/(头·d)。

关键词: 酶制剂;体外瘤胃发酵;产奶性能;奶牛

中图分类号: S816.7;S823

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2015)09-2911-09

在动物生产中,改善饲料利用率和提高动物生产性能一直是生产者追逐的目标,其中,外源性酶制剂的应用可以作为一种有效手段。对于反刍动物而言,粗饲料消化率低下仍是限制反刍动物生产性能充分发挥的主要因素^[1],近年来,随着饲

料价格的上升和外源酶发酵成本的降低,外源性酶制剂产品在反刍动物饲养中的应用研究受到了越来越广泛的关注。有研究报道,含有纤维分解活性的外源性酶制剂有利于提高瘤胃的纤维消化^[2-3],从而提高饲料转化率;奶牛饲料中添加外

收稿日期:2015-04-03

基金项目:北京市教育委员会科技计划面上项目(KM201510020006);北京市现代农业产业技术体系奶牛创新团队项目

作者简介:李艳玲(1973—),女,宁夏平罗人,副教授,博士,研究方向为反刍动物营养与饲料科学。E-mail: yanli_li@163.com

* 通信作者:刁其玉,研究员,博士生导师,E-mail: diaoqiuyu@caas.cn

源纤维分解酶制剂可以提高泌乳前期和泌乳中期奶牛的产奶性能^[4-5],而也有报道没有效果。酶制剂应用效果的差异与动物种类(动物的能量需要量和饲养水平)、饲料组成、酶制剂组分、添加量以及酶制剂产品的饲喂方式等都有关^[6]。单一酶制剂是酶制剂运用于饲料的最初形式,由于成分单一,作用有限,现在一般不单独作添加剂使用,如淀粉酶、蛋白酶、纤维素酶、植酸酶等。复合酶制剂已成为饲料酶领域的主体,而应用于反刍动物的外源性酶制剂主要是由能够降解细胞壁成分的纤维素酶和木聚糖酶组成^[1]。本试验将重点研究一种由纤维素酶和木聚糖酶组成的外源性复合酶制剂产品对奶牛产奶量和乳成分的影响及其适宜添加量,并结合体外瘤胃发酵试验,研究其对瘤胃发酵和养分消化的影响,为生产中合理使用外源性复合酶制剂提高奶牛生产性能提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 体外试验

1.1.1 复合酶制剂

本试验应用湖南尤特尔生化有限公司生产的复合酶制剂,有效成分包括纤维素酶 3 000 U/g、木聚糖酶 10 000 U/g。

1.1.2 培养底物组成及试验设计

体外试验的培养底物参考高产奶牛典型全混合日粮(TMR)的营养水平,以玉米秸青贮、苜蓿、羊草、玉米和豆粕作为原料,按一定比例配制底物,底物组成及营养水平见表 1。不添加复合酶制剂的作为对照组,另设 3 个试验组,分别在底物中添加 0.5、1.0 和 2.0 g/kg 复合酶制剂[干物质(DM)基础],每组设 6 个重复。

1.1.3 体外发酵培养

试验采用 Menke 氏的体外产气法,采集 3 只安装永久瘤胃瘘管的瘘管奶牛瘤胃液,与缓冲液以 1:2 的比例混合制成人工瘤胃培养液。称取 200 mg(DM 基础)底物于 100 mL 培养管(注射器)中,每种底物分别称入 6 个培养管中,加入 30 mL 人工瘤胃培养液,放置在 39 ℃ 的恒温气浴培养箱中培养 48 h,记录培养管在不同时间点的刻度值,并于 48 h 终止培养,测定发酵液各项发酵参数和微生物蛋白(MCP)产量。

试验进行了 2 个批次的重复。

表 1 底物组成及营养水平(干物质基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the substrate (DM basis)

| 项目 Items | 含量 Content |
|--------------------------|------------|
| 原料 Ingredients | |
| 玉米秸青贮 Corn stover silage | 20.9 |
| 苜蓿 Alfalfa | 18.4 |
| 羊草 Chinese wildrye | 5.1 |
| 玉米 Corn | 35.3 |
| 豆粕 Soybean meal | 20.3 |
| 合计 Total | 100.0 |
| 营养水平 Nutrient levels | |
| 干物质 DM | 90.28 |
| 粗蛋白质 CP | 16.62 |
| 粗脂肪 EE | 2.60 |
| 中性洗涤纤维 NDF | 30.42 |
| 酸性洗涤纤维 ADF | 19.15 |

营养水平为实测值。干物质含量指培养底物风干样中的干物质比例,其余营养水平指各营养物质在底物干物质基础上的含量。

Nutrient levels were measured values. DM content was calculated based on air-dried substrate, while other nutrient levels were the contents of nutrients based on substrate DM.

1.1.4 测定指标及方法

1.1.4.1 产气量

分别读取 0、1、2、3、4、5、6、8、10、12、16、20、24、28、32、36、40、44 和 48 h 的培养管刻度值,计算不同时间点的体外产气量,并计算 48 h 总产气量。

1.1.4.2 体外发酵参数

在体外培养 48 h 后,将培养管取出,迅速放入冰水浴中终止发酵,并将培养管中的发酵液排出,立即测定发酵液 pH;然后将其中 3 只培养管的发酵液离心(800×g, 15 min),取 1 mL 上清液于 1.5 mL 离心管中(预装 0.2 mL 25% 偏磷酸溶液冷冻保存)混匀,用于总挥发性脂肪酸(TVFA)浓度和各挥发性脂肪酸(VFA)含量测定;另取 1 mL 上清液于 1.5 mL 离心管中(预装 0.2 mL 1% 硫酸冷冻保存)用于氨态氮(NH₃-N)浓度测定。所有待测样品均保存于-20 ℃。

1.1.4.3 DM 和中性洗涤纤维(NDF)降解率

将以上离心取上清液后的培养管发酵液弃去上清液,底物颗粒残渣烘干称重并测定其中的 DM 和 NDF 含量,从而计算 DM 和 NDF 降解率。

1.1.4.4 MCP 产量

另外 3 只培养管的发酵液先低速离心 (800×g,15 min,4 ℃),去除饲料颗粒,然后将上清液高速离心 (20 000×g,30 min,4 ℃) 分离 MCP,测定发酵液中的 MCP 产量。

1.1.5 数据统计分析

试验数据采用 SAS 9.0 的广义线性模型 (GLM) 进行统计分析,试验结果均以效应的最小二乘平均值表示,按单因子试验设计进行方差分析和多重比较,对不同添加量复合酶制剂对体外发酵的影响采用线性和二次曲线比较,显著性水平定为 $P<0.05$,变化趋势范围固定在 $0.05 \leq P \leq 0.10$ 。

1.2 动物试验

1.2.1 试验动物与试验设计

本试验在北京三元绿荷奶牛养殖中心某养殖场进行,从全场 1 000 多头奶牛中,选择相近胎次经产荷斯坦奶牛 80 头,平均产奶量为 (49.77±5.43) kg,泌乳天数在 60~120 d 之间,按照完全随机区组设计,将相同胎次的牛随机分配到 4 组中,每组 20 头牛。其中对照组不添加复合酶制剂,另设 3 个试验组,分别饲喂 10、20 和 40 g/(头·d) 的复合酶制剂(材料同 1.1.1)。

1.2.2 试验饲料

试验全期采用 TMR,奶牛基础饲料组成及营养水平见表 2。预试期 14 d(2 周),饲喂基础饲料;试验期 56 d(8 周),按试验分组分别添加不同添加量的复合酶制剂产品。

表 2 奶牛基础饲料组成及营养水平(干物质基础)

| Table 2 Composition and nutrient levels of the basal diet for dairy cows (DM basis) | | % |
|---|------------|---|
| 项目 Items | 含量 Content | |
| 原料 Ingredients | | |
| 玉米秸青贮 Corn stover silage | 20.59 | |
| 苜蓿草粉 Alfalfa meal | 10.55 | |
| 羊草 Chinese wildrye | 2.19 | |
| 玉米 Corn | 17.77 | |
| 小麦 Wheat | 4.99 | |
| 次粉 Wheat middling | 2.78 | |
| 膨化大豆 Extruded soybean | 4.26 | |
| 大豆皮 Soybean hulls | 6.02 | |
| 豆粕 Soybean meal | 5.05 | |

续表 2

| 项目 Items | 含量 Content |
|--------------------------------------|------------|
| 菜籽粕 Rapeseed meal | 3.54 |
| 棉籽粕 Cottonseed meal | 1.46 |
| 棉籽 Cottonseed | 1.98 |
| 玉米干酒糟及其可溶物 Corn DDGS | 6.38 |
| 玉米胚芽粕 Corn germ meal | 3.58 |
| 苹果粕 Apple meal | 1.19 |
| 过瘤胃脂肪 Rumen bypass fat ¹⁾ | 2.09 |
| 小苏打 NaHCO ₃ | 0.11 |
| 预混料 Permixon ²⁾ | 3.24 |
| 合计 Total | 100.00 |
| 营养水平 Nutrient levels ³⁾ | |
| 干物质 DM | 54.20 |
| 有机物 OM | 93.26 |
| 粗蛋白质 CP | 16.68 |
| 粗脂肪 EE | 6.39 |
| 钙 Ca | 0.91 |
| 磷 P | 0.44 |
| 中性洗涤纤维 NDF | 35.50 |
| 酸性洗涤纤维 ADF | 21.28 |
| 产奶净能 NE _L /(MJ/kg) | 6.20 |

¹⁾ 购自马来西亚 VOLAC 公司。Brought from VOLAC Co., Malaysia.

²⁾ 预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of the diet:Ca 4.9 g,P 2.9 g,Na 1.8 g,Mg 1.69 g,K 3.86 g,I 1.38 mg,Co 19.53 mg,Se 0.06 mg,Zn 113.41 mg,Mn 64.74 mg,Cu 23.28 mg,Fe 157.41 mg,VA 12 000 IU,VD₃ 2 500 IU,VE 100 IU。

³⁾ 营养水平中产奶净能为计算值,其余为实测值。干物质含量指饲喂饲料的干物质比例,其余营养水平指在干物质基础上的营养物质含量。For nutrient levels, NE_L was a calculated value and the others were measured values. DM content was calculated based on diet as fed, and the other nutrient levels were the contents based on diet DM.

1.2.3 试验动物饲养管理

试验奶牛饲喂 TMR,每日饲喂 3 次,分别在早中晚 (06:00、14:00 和 19:30),自由采食,控制每天的饲喂量使剩料量在 5%~10%;每日挤奶 3 次,早晨和中午分别在喂料前挤奶,晚上在 21:00 挤奶。采用带有卧床的开放式散栏饲养,奶牛采食时利用颈夹固定,以保证更好的采食效果。水槽式自由饮水。

1.2.4 产奶量和乳成分测定

本试验场采用以色列阿菲金系统,每天挤奶

时可自动在线纪录产奶量并测定乳成分,包括水分、乳脂、乳蛋白、乳糖含量以及体细胞数(SCC)。预试期每天测定产奶量和乳成分,作为试验分组的基础数据。试验期每天测定并记录产奶量和乳成分数据。每月采集1次奶样,送至北京市奶牛中心进行DHI测定,并对阿菲金系统数据进行校正。

1.2.5 数据统计分析

试验期56 d,将每7 d数据的平均值作为1周的数据,试验期共8周。以胎次作为区组进行随机区组试验设计,试验数据采用SAS 9.0的Mix模型进行统计分析,将处理(饲料)作为固定效应,奶牛作为随机效应,以周为重复测量模型进行统计分析;对不同添加量复合酶制剂对产奶量和乳成分的影响采用线性和二次曲线比较,试验结果均以效应的最小二乘平均值表示,显著性水平定为 $P<0.05$,变化趋势范围定在 $0.05\leq P\leq 0.10$ 。

2 结果与分析

2.1 体外试验

2.1.1 复合酶制剂对体外发酵产气量和发酵参数的影响

由表3可以看出,底物中添加复合酶制剂对体外发酵培养48 h总产气量没有显著影响($P>0.05$),但显著影响发酵液的pH($P=0.04$),其中,0.5($P=0.01$)和1.0 g/kg组($P=0.03$)pH显著高

于对照组,随底物中复合酶制剂添加量的增加,pH呈二次曲线升高($P=0.02$)。

底物中添加复合酶制剂对体外发酵培养的TVFA浓度没有显著影响($P>0.05$),但随底物中复合酶制剂添加量的增加,TVFA浓度线性下降($P=0.04$)。各种VFA含量除异戊酸($P=0.02$)外,均不受复合酶制剂添加的影响($P>0.05$)。0.5($P=0.01$)和2.0 g/kg组($P<0.01$)的异戊酸含量显著低于对照组;随底物中复合酶制剂添加量的增加,乙酸含量在数值上呈线性增加的趋势($P=0.10$),丁酸含量在数值上呈线性下降的趋势($P=0.07$),戊酸($P=0.03$)和异戊酸含量($P=0.01$)呈现显著的线性下降。底物中添加复合酶制剂对体外发酵培养液的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度没有显著影响($P>0.05$)。

2.1.2 复合酶制剂对体外发酵DM和NDF降解率以及MCP产量的影响

由表4可以看出,底物中添加复合酶制剂对底物DM降解率没有显著影响($P>0.05$),但显著提高了底物NDF的降解率($P<0.01$),不同添加量的复合酶制剂组间NDF降解率没有显著差异($P>0.05$),但0.5 g/kg组在数值上最高。底物中添加复合酶制剂对MCP产量没有显著影响($P>0.05$),但随底物中复合酶制剂添加量的增加,MCP产量在数值上呈线性增加的趋势($P=0.07$)。

表3 复合酶制剂对体外发酵产气量和发酵参数的影响

Table 3 Effects of compound enzyme preparation on *in vitro* fermentation gas production and fermentation parameters

| 项目 Items | 复合酶制剂 Compound enzyme preparation/(g/kg) | | | | SEM | P 值 P-value | 线性 Linear | 二次 Quadratic |
|--|---|-------------------|--------------------|--------------------|-------|----------------|--------------|-----------------|
| | 0 | 0.5 | 1.0 | 2.0 | | | | |
| 48 h 总产气量 Total gas production for 48 h/mL | 182.6 | 231.9 | 192.1 | 194.8 | 14.83 | 0.13 | 0.87 | 0.26 |
| pH | 6.17 ^b | 6.29 ^a | 6.27 ^{ab} | 6.25 ^{ab} | 0.03 | 0.04 | 0.21 | 0.02 |
| 总挥发性脂肪酸 TVFA/(mmol/L) | 131.7 | 95.7 | 103.5 | 84.5 | 12.02 | 0.11 | 0.04 | 0.40 |
| 乙酸 Acetate/% | 65.6 | 67.5 | 67.4 | 68.3 | 0.90 | 0.28 | 0.10 | 0.50 |
| 丙酸 Propionate/% | 16.4 | 16.9 | 16.2 | 16.3 | 0.63 | 0.88 | 0.77 | 0.90 |
| 丁酸 Butyrate/% | 11.2 | 10.2 | 10.1 | 10.1 | 0.33 | 0.11 | 0.07 | 0.10 |
| 异丁酸 Isobutyrate/% | 1.9 | 1.5 | 2.0 | 1.5 | 0.21 | 0.25 | 0.48 | 0.67 |
| 戊酸 Valerate/% | 2.0 | 1.8 | 1.8 | 1.7 | 0.08 | 0.08 | 0.03 | 0.54 |
| 异戊酸 Isovalerate/% | 2.8 ^a | 2.2 ^b | 2.5 ^{ab} | 2.1 ^b | 0.14 | 0.02 | 0.01 | 0.35 |
| 乙酸:丙酸 A:P | 4.0 | 4.0 | 4.2 | 4.2 | 0.20 | 0.83 | 0.49 | 0.76 |
| 氨态氮 $\text{NH}_3\text{-N}/(\text{mmol/L})$ | 11.7 | 10.7 | 10.8 | 10.9 | 0.94 | 0.86 | 0.64 | 0.56 |

同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著($P>0.05$),不同字母表示差异显著($P<0.05$)。下表同。

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

表 4 复合酶制剂对体外发酵 DM 和 NDF 降解率以及 MCP 产量的影响

| Table 4 Effects of compound enzyme preparation on <i>in vitro</i> degradation rates of DM and NDF, and MCP production | | | | | | | | |
|--|--|-------------------|-------------------|-------------------|------|-------------------------------|--------------|-----------------|
| 项目 Items | 复合酶制剂 Compound enzyme preparation/(g/kg) | | | | SEM | <i>P</i> 值 <i>P</i> -value | 线性 Linear | 二次 Quadratic |
| | 0 | 0.5 | 1.0 | 2.0 | | | | |
| 干物质降解率 DM degradation rate/% | 57.6 | 57.4 | 60.2 | 57.1 | 1.32 | 0.33 | 0.94 | 0.17 |
| 中性洗涤纤维降解率 NDF degradation rate/% | 32.8 ^b | 46.7 ^a | 42.8 ^a | 40.7 ^a | 2.08 | <0.01 | 0.07 | 0.56 |
| 微生物蛋白 MCP/(mg/mL ³) | 0.66 | 0.73 | 0.78 | 0.82 | 0.06 | 0.26 | 0.07 | 0.56 |

2.2 动物试验——复合酶制剂对奶牛产奶量和乳成分的影响

统计分析表明,整个试验期,时间(周)×处理的互作效应不显著($P>0.05$)。由表 5 可以看出,与对照组相比,10、20 和 40 g/(头·d)组产奶量分别提高 0.1、0.3 和 1.4 kg/d,4%校正乳产量分别提高 1.8、0.4 和 2.6 kg/d,但差异均不显著($P>0.05$)。除非脂固形物率,饲料中添加复合酶制剂对各种乳成分含量以及产量均没有显著影响($P>0.05$),但 10、20 和 40 g/(头·d)组与对照组相比,乳脂率分别提高 0.25、0.02 和 0.19 个百分点,乳脂产量分别提高 0.12、0.02 和 0.14 kg/d;乳糖率分别提高 0.02、0.01 和 0.05 个百分点,乳糖产量

提高 0.01、0.03 和 0.09 kg/d;随饲料中复合酶制剂添加量的增加,乳脂产量($P=0.10$)和乳糖率($P=0.05$)在数值上呈线性增加的趋势;乳蛋白率只有 10 g/(头·d)组比对照组提高了 0.01 个百分点,乳蛋白产量 10、40 g/(头·d)组比对照组分别提高 0.01 kg/d 和 0.04 kg/d;与对照组相比,10 g/(头·d)组的非脂固形物率显著增加($P<0.01$),其他试验组在数值上略高但差异不显著($P>0.05$)。试验结果表明,饲喂 10 g/(头·d)复合酶制剂,奶牛乳脂率、乳蛋白率和非脂固形物率在数值上最高。各组的奶牛乳中体细胞数没有显著差异($P>0.05$),且通过对试验动物每日健康状况以及粪便的观察记录,各组间奶牛的健康状况没有明显差别。

表 5 复合酶制剂对奶牛产奶量和乳成分的影响

| Table 5 Effects of compound enzyme preparation on milk production and milk composition in dairy cows | | | | | | | | |
|---|--|-------------------|-------------------|-------------------|-------|-------------------------------|--------------|-----------------|
| 项目 Items | 复合酶制剂 Compound enzyme preparation/(g/kg) | | | | SEM | <i>P</i> 值 <i>P</i> -value | 线性 Linear | 二次 Quadratic |
| | 0 | 10 | 20 | 40 | | | | |
| | | | | | | | | |
| 产奶量 Milk production/(kg/d) | 47.7 | 47.8 | 48.0 | 49.1 | 1.02 | 0.76 | 0.31 | 0.74 |
| 4%校正乳产量 4% FCM production/(kg/d) | 42.0 | 43.8 | 42.4 | 44.6 | 1.00 | 0.21 | 0.10 | 0.87 |
| 乳成分 Milk composition | | | | | | | | |
| 乳脂率 Milk fat rate/% | 3.21 | 3.46 | 3.23 | 3.40 | 0.081 | 0.10 | 0.34 | 0.87 |
| 乳脂产量 Milk fat yield/(kg/d) | 1.53 | 1.65 | 1.55 | 1.67 | 0.048 | 0.10 | 0.10 | 0.96 |
| 乳蛋白率 Milk protein rate/% | 3.08 | 3.09 | 3.02 | 3.08 | 0.028 | 0.21 | 0.68 | 0.19 |
| 乳蛋白产量 Milk protein yield/(kg/d) | 1.47 | 1.48 | 1.45 | 1.51 | 0.031 | 0.55 | 0.38 | 0.38 |
| 乳糖率 Lactose rate/% | 5.00 | 5.02 | 5.03 | 5.05 | 0.021 | 0.28 | 0.05 | 0.87 |
| 乳糖产量 Lactose yield/(kg/d) | 2.39 | 2.40 | 2.42 | 2.48 | 0.051 | 0.56 | 0.16 | 0.77 |
| 非脂固形物率 SNF rate/% | 8.66 ^b | 8.80 ^a | 8.71 ^b | 8.74 ^b | 0.036 | 0.04 | 0.35 | 0.20 |
| 非脂固形物产量 SNF yield/(kg/d) | 4.15 | 4.23 | 4.21 | 4.31 | 0.094 | 0.69 | 0.26 | 0.93 |
| 体细胞数 SCC/(10 ³ · mL ⁻¹) | 184 | 246 | 144 | 266 | 91.4 | 0.77 | 0.64 | 0.67 |

4%校正乳产量=产奶量×(0.4+15×乳脂率)。
4% FCM production=milk production×(0.4 +15×milk fat rate)。

3 讨 论

奶牛饲料中应用外源性酶制剂对生产性能的影响结果很不一致,大多数的研究表明其对产奶量和乳成分没有显著影响^[7]。但一些研究报道了添加外源性酶制剂对产奶量和乳成分有正面影响,例如,Beauchemin 等^[8]报道奶牛饲料中添加酶制剂可使乳蛋白率增加 2%。类似地,Bowman 等^[9]以及 Eun 等^[10]也报道了酶制剂提高乳脂率和乳蛋白率的效果;另一些研究观察到了酶制剂的添加对产奶量的提高作用,例如,Yang 等^[2]发现在干草中添加 2 g/kg 的复合酶制剂(主要含纤维素酶和木聚糖酶),DM 消化率增加 12%,并提高了产奶量,且产奶量的提高幅度与酶的添加量有关,但对乳成分的影响较小。国内学者的研究也发现,奶牛饲料中添加含纤维素酶和木聚糖酶的复合酶制剂,与对照组相比,能不同程度地提高奶牛的产奶量、乳脂率、乳蛋白率和乳中 DM 含量,降低乳中体细胞数,但大多数的研究结果未达到显著水平^[11-15]。在本试验条件下,高产奶牛饲料中添加不同剂量的含纤维素酶和木聚糖酶的复合酶制剂,与对照组相比,在数值上提高了奶牛产奶量和 4% 校正乳产量,且随添加量的增加,产奶量在数值上也有所增加;同时,酶制剂的添加对乳成分也有一定程度的影响,但除非脂固形物率差异均不显著;其中,饲喂低剂量的复合酶制剂,乳脂率、乳蛋白率和非脂固形物的含量在数值上最高。由此表明,复合酶制剂对奶牛产奶量和乳成分的影响与复合酶制剂的添加量有关,这与前人的研究结果一致^[5]。若在奶牛生产中使用本试验研究的复合酶制剂产品,综合考虑生产和经济成本,推荐奶牛饲喂 10 g/(头·d)的低剂量的复合酶制剂。

前人在对酶制剂开展动物试验研究的同时,也开展了体外试验研究。Holtshausen 等^[5]在将纤维分解酶饲喂泌乳荷斯坦奶牛前,先进行了体外试验研究 5 种不同添加量纤维分解酶对瘤胃发酵的影响,并采用尼龙袋试验进行了进一步的评估,动物试验表明酶制剂提高了 4% 校正乳产量,并与添加量有关。类似地,Arriola 等^[4]在动物饲养试验前,通过尼龙袋试验对纤维分解酶的不同添加量进行了研究,结果表明在低精料饲料中添加酶制剂,与对照组和高精料饲料相比,提高了产奶

量。由此可见,在将酶制剂应用于奶牛饲料时,需考虑饲料的种类及酶制剂添加量。体外试验可以帮助筛选酶制剂合适的添加量并预测对于生产性能的影响,然而,对于同样的酶制剂,由于试验条件的变化,很难对动物达到一致性的应答。本研究在开展动物试验前也进行了不同添加量复合酶制剂的体外产气试验,研究其对瘤胃发酵、营养物质降解率以及 MCP 产量的影响。

本研究的体外试验中发酵液的 TVFA 浓度在各组间没有显著差异,除异戊酸外,各 VFA 的含量以及乙酸/丙酸在各组间也没有显著差异,表明培养底物中添加复合酶制剂没有明显改变体外瘤胃发酵模式。关于酶制剂对瘤胃发酵的影响,已有文献报道的结果并不一致。例如,Gado 等^[16]和 Beauchemin 等^[8]报道,添加纤维分解酶使瘤胃液中乙酸含量增加,而 Arriola 等^[4]报道,添加纤维分解酶使奶牛瘤胃液中 TVFA 浓度增加,乙酸/丙酸下降;Chung 等^[17]则发现添加纤维分解酶对瘤胃液中 TVFA 浓度、单个 VFA 含量以及 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度和 pH 都没有影响。在本试验的体外发酵培养条件下,培养底物中添加复合酶制剂,对 48 h 总产气量没有显著影响,但数值上有增加,发酵液的 pH 也有所升高,表明复合酶制剂的添加可以促进底物的发酵,这可能也是动物试验中复合酶制剂的应用能够一定程度上提高奶牛产奶量的一个原因。

本研究体外试验中添加复合酶制剂,对底物 DM 降解率没有显著影响,但底物 NDF 的降解率显著提高,表明复合酶制剂促进了 NDF 的降解。在已有的研究中,有学者认为瘤胃内存在大量的蛋白质分解菌,在饲料中添加外源酶会受到蛋白质分解菌的破坏而失活,很难使瘤胃内酶活提高。但 Álvarez 等^[18]在奶山羊饲料中添加纤维分解酶,结果发现提高了饲料 DM 和 CP 消化率,也提高了燕麦秸 NDF 和 ADF 的瘤胃降解率,他们认为酶破坏了植物细胞壁,使得瘤胃微生物更易作用于纤维部分,从而提高饲料消化率。也有研究证实,酶制剂可吸附在饲料上,从而免受瘤胃蛋白酶的降解,并延长了在瘤胃的停滞时间^[19]。Wang 等^[20]更早的研究已发现在 TMR 中添加外源性酶制剂,增加了饲料营养成分对瘤胃微生物的可利用性,表现在增加了瘤胃微生物在饲料上的附着和定植。本研究体外试验中添加复合酶制剂促进

了NDF的降解,表明该制剂具有促进饲料纤维消化的作用,并且低剂量组的NDF降解率在数值上最高,这也与动物试验中低剂量组的乳脂率、乳蛋白率和非脂固形物率在数值上最高的结果相吻合。

瘤胃微生物数量的增加被认为是外源性纤维分解酶增加饲料消化和提高动物生产性能的潜在作用模式^[21]。Nsereko等^[22]报道,高精料(52%饲料DM)饲料中添加酶制剂增加了细菌总数以及纤维利用菌的数量。Giraldo等^[23]报道,在绵羊的高粗料(70%饲料DM)饲料中添加酶制剂,增加了纤维分解菌的数量。Yang等^[2]报道,在泌乳牛饲料中添加纤维素酶和木聚糖酶,不但提高了有机物和NDF的消化率,而且MCP产量也相应增加。本研究体外试验中,发酵液MCP产量随底物中复合酶制剂添加量的增加在数值上有增加的趋势,表明复合酶制剂产品促进了MCP的合成,并且发酵液的NH₃-N浓度在数值上有所降低,推测微生物对NH₃-N的利用有所增加,这也进一步解释了动物试验中复合酶制剂的添加对奶牛产奶量有一定程度提高的原因。

4 结 论

① 在本试验研究条件下,添加含纤维素酶和木聚糖酶的不同剂量外源性复合酶制剂会在一定程度上影响体外瘤胃发酵,提高营养物质中NDF降解率并促进瘤胃MCP的合成,添加量为0.5 g/kg时,对NDF降解率的提高最为显著。

② 将外源性复合酶制剂应用于奶牛饲料中能潜在地提高奶牛的产奶量并影响乳成分,且随复合酶制剂添加量的增加,在数值上逐渐提高奶牛的产奶量,而饲喂10 g/(头·d)的低剂量复合酶制剂时,奶牛的乳脂率和乳蛋白率在数值上最高。

③ 综合考虑生产和经济成本,在奶牛生产中使用此复合酶制剂时,推荐饲喂量为10 g/(头·d)。

参考文献:

[1] 何立荣,李爱华.酶制剂在奶牛日粮中的研究与应用进展[J].农业科学研究,2010,31(3):59-64.
[2] YANG W Z, BEAUCHEMIN K A, RODE L M. Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows[J].

Journal of Dairy Science,1999,82(2):391-403.
[3] KUNG L, Jr, TREACHER R J, NAUMAN G A, et al. The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows[J]. Journal of Dairy Science, 2000, 83(1):115-122.
[4] ARRIOLA K G, KIM S C, STAPLES C R, et al. Effect of fibrolytic enzyme application to low- and high-concentrate diets on the performance of lactating dairy cattle[J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94(2):832-841.
[5] HOLTSHAUSEN L, CHUNG Y H, GERARDO-CU-ERVO H, et al. Improved milk production efficiency in early lactation dairy cattle with dietary addition of a developmental fibrolytic enzyme additive[J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94(2):899-907.
[6] BEAUCHEMIN K A, HOLTSHAUSEN L. Developments in enzyme usage in ruminants[M]//BED-FORD M R, PARTRIDGE G G. Enzymes in farm animal nutrition. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2011:206-230.
[7] MEALE S J, BEAUCHEMIN K A, HRISTOV A N, et al. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve ruminant production[J]. Journal of Animal Science, 2014, 92(2):427-442.
[8] BEAUCHEMIN K A, RODE L M, MAEKAWA M, et al. Evaluation of a nonstarch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets[J]. Journal of Dairy Science, 2000, 83(3):543-553.
[9] BOWMAN G R, BEAUCHEMIN K A, SHELFORD J A. The proportion of the diet to which fibrolytic enzymes are added affects nutrient digestion by lactating dairy cows[J]. Journal of Dairy Science, 2002, 85(12):3420-3429.
[10] EUN J S, BEAUCHEMIN K A. Effects of a proteolytic feed enzyme on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production[J]. Journal of Dairy Science, 2005, 88(6):2140-2153.
[11] 韩兆玉,段智勇,丁立人,等.酶制剂对奶牛产奶量和乳品质的影响[J].粮食与饲料工业,2008(8):39-40.
[12] 刘瑞玲,李克广.活性复合酶制剂在奶牛生产中的应用[J].畜牧兽医杂志,2012,31(4):51-53.
[13] 植福华.酶制剂对泌乳前期奶牛产奶量和乳成分的影响[J].中国奶牛,2012(13):71-73.
[14] 刘文杰,孙龙曙,王军.酶制剂对奶牛产奶量和乳成

- 分的影响[J].畜牧与兽医,2012,44(1):32-33.
- [15] 扈添琴,韩兆玉,王群,等.酶制剂和植物甾醇复合物对泌乳奶牛生产性能和血清指标的影响[J].动物营养学报,2014,26(1):236-244.
- [16] GADO H M,SALEM A Z M,ROBINSON P H,et al. Influence of exogenous enzymes on nutrient digestibility,extent of ruminal fermentation as well as milk production and composition in dairy cows [J]. Animal Feed Science and Technology,2009,154(1/2):36-46.
- [17] CHUNG Y H,ZHOU M,HOLTSHAUSEN L,et al. A fibrolytic enzyme additive for lactating Holstein cow diets: ruminal fermentation, rumen microbial populations, and enteric methane emissions [J]. Journal of Dairy Science,2012,95(3):1419-1427.
- [18] ÁLVAREZA G,PINOS-RODRÍGUEZA J M,HERRERAC J G,et al. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal digestibility in steers fed high fiber rations[J]. Livestock Science,2009,121(2/3):150-154.
- [19] MOHAMED M I,MAARECKA Y A,ABDELMAGID S S,et al. Feed intake, digestibility, rumen fermentation and growth performance of camels fed diets supplemented with a yeast culture or zinc bacitracin[J]. Animal Feed Science and Technology,2009,149(3/4):341-345.
- [20] WANG Y,MCALLISTER T A,RODE L M,et al. Effects of an exogenous enzyme preparation on microbial protein synthesis,enzyme activity and attachment to feed in the Rumen Simulation Technique (Rusitec) [J]. British Journal of Nutrition,2001,85(3):325-332.
- [21] BEAUCHEMIN K A,COLOMBATTO D,MORGAVI D P,et al. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants [J]. Journal of Animal Science,2003,81(Suppl. E):E37-E47.
- [22] NSEREKO V L,BEAUCHEMIN K A,MORGAVI D P,et al. Effect of a fibrolytic enzyme preparation from *Trichoderma longibrachiatum* on the rumen microbial population of dairy cows[J]. Canadian Journal of Microbiology,2002,48(1):14-20.
- [23] GIRALDO L A,TEJIDO M L,RANILLA M J,et al. Influence of direct-fed fibrolytic enzymes on diet digestibility and ruminal activity in sheep fed a grass hay-based diet[J]. Journal of Animal Science,2008,86(7):1617-1623.

Effects of Exogenous Compound Enzyme Preparation on *in Vitro* Rumen Fermentation and Milking Performance of Dairy Cows

LI Yanling¹ ZHANG Min² CHAI Jianmin³ DIAO Qiyu^{3*}

(1. Beijing Key Laboratory of Dairy Cow Nutrition, Animal Science and Technology College, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China; 2. Hunan Youtell Biochemical Co. Ltd., Shanghai Branch, Shanghai 201201, China; 3. Key laboratory of Feed Biotechnology of Ministry of Agriculture, Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: The object of this experiment was to study the effect of adding different doses of exogenous compound enzyme preparation on *in vitro* rumen fermentation and milking performance of dairy cows. In the *in vitro* test, *in vitro* gas production method was applied, different doses of compound enzyme preparation with 0 (control), 0.5, 1.0 and 2.0 g/kg were added in substrate for 48 h simulate rumen fermentation *in vitro*, and the digestibility of nutrients in substrate, microbial protein (MCP) production and *in vitro* fermentation parameters were determined. In the animal test, eighty high-yielding Holstein multiparous dairy cows with similar milk production and days in lactation were selected and randomly assigned to each of the four groups according to randomized block design, and cows were fed compound enzyme preparation with 0 (control), 10, 20 and 40 g/(head · d) for 56 days, respectively. The *In vitro* test results showed that adding compound enzyme preparation in substrate had no significant effects on total gas production for 48 h, total volatile fatty acid (VFA) concentration and the contents of individual VFA (except isovalerate) ($P>0.05$), but significantly affected pH of fermentation fluid ($P=0.04$). With the increasing of adding dose of compound enzyme preparation, acetate content tended to increase linearly ($P=0.10$), and butyrate content tended to decrease linearly ($P=0.07$). Adding compound enzyme preparation significantly increased degradation rate of neutral detergent fiber (NDF) ($P<0.01$), and with the increasing of adding dose, the production of MCP tended to increase ($P=0.07$). The animal test results showed that adding compound enzyme preparation had no significant effect on milk production ($P>0.05$), but milk production and 4% fat correction milk (FCM) production in 40 g/(head · d) group were the highest numerically, and were 1.4 and 2.6 kg/(head · d) higher than those in control group, respectively. Adding compound enzyme preparation had no significant effects on milk composition rate and yield except solid no fat (SNF) rate ($P>0.05$), but the rates of milk fat and milk protein in 10 g/(head · d) group were the highest numerically, and were 0.25 and 0.01 percentage point higher than those in control group, and SNF rate in 10 g/(head · d) group was significantly higher than that of the other groups ($P=0.04$). The above results indicate that adding exogenous compound enzyme preparation can affect *in vitro* rumen fermentation and nutrient digestion, and potentially affect milk production and milk composition rate in dairy cows, and the effects are dose dependent. Generally speaking, the recommended dose is 10 g/(head · d). [Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(9):2911-2919]

Key words: enzyme preparation; *in vitro* rumen fermentation; milking performance; dairy cow

* Corresponding author, professor, E-mail: diaoqiyu@caas.cn