

# 不同精粗比饲料中添加酵母培养物对牦牛瘤胃体外发酵参数的影响

曾 钰<sup>1,2</sup> 谢昕廷<sup>1</sup> 彭忠利<sup>1\*</sup> 高彦华<sup>1,2</sup> 苗建军<sup>1</sup> 柏 雪<sup>1,2</sup>

(1.西南民族大学生命科学与技术学院,成都 610041;2.青藏高原动物遗传资源保护与利用教育部重点实验室,成都 610041)

**摘要:** 本试验旨在探讨不同精粗比饲料中添加酵母培养物(YC)对牦牛瘤胃体外发酵参数的影响。采用3×6两因素交叉分组试验设计,在3个精粗比(40:60、50:50、60:40)饲料中分别添加6个水平(0、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%和2.5%)的YC,制备出18底物进行体外发酵。结果表明:1)饲料精粗比对产气量、干物质降解率(DMD)、粗蛋白质降解率(CPD)、酸性洗涤纤维降解率(ADFD)、中性洗涤纤维降解率(NDFD)有显著影响( $P<0.05$ ),50:50组和60:40组DMD、CPD、NDFD、ADFD显著高于40:60组( $P<0.05$ )。饲料YC添加水平对产气量、CPD、NDFD和ADFD有显著影响( $P<0.05$ ),0.5%组产气量和CPD显著高于其他各组( $P<0.05$ )。饲料精粗比和YC添加水平对CPD有显著的互作效应( $P<0.05$ )。2)饲料精粗比对pH及氨态氮( $\text{NH}_3\text{-N}$ )、微生物蛋白(MCP)含量有显著影响( $P<0.05$ )。40:60组pH显著高于50:50组和60:40组( $P<0.05$ ),60:40组 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量显著低于40:60组和50:50组( $P<0.05$ ),40:60组MCP含量显著低于50:50组和60:40组( $P<0.05$ )。饲料YC添加水平对 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和MCP含量有显著影响( $P<0.05$ ),0.5%组 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和MCP含量显著高于其他各组( $P<0.05$ )。3)饲料精粗比和YC添加水平对总挥发性脂肪酸(TVFA)含量和乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸比例及乙酸/丙酸均有显著影响和互作效应( $P<0.05$ )。60:40组TVFA含量和丁酸比例显著高于40:60组和50:50组( $P<0.05$ ),40:60组乙酸、异戊酸比例以及乙酸/丙酸显著高于60:40组和50:50组( $P<0.05$ ),50:50组异丁酸和戊酸比例显著高于40:60组和60:40组( $P<0.05$ )。1.0%组异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸比例显著高于其他各组( $P<0.05$ ),乙酸/丙酸显著低于其他各组( $P<0.05$ )。综上所述,在本试验条件下,饲料精粗比和YC添加水平对牦牛体外瘤胃发酵产气量、养分降解率和发酵参数有一定影响。饲料精粗比以50:50和60:40为宜,YC添加水平以0.5%和1.0%为宜。

**关键词:** 精粗比;酵母培养物;体外发酵;pH;氨态氮;挥发性脂肪酸

中图分类号:S823

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2019)12-5582-13

酵母培养物(yeast culture, YC)是酵母菌(酿酒酵母)在现代发酵工艺控制下采用液态、固态相结合,在培养基上发酵后制得的一种微生物生态制

剂<sup>[1]</sup>。YC含有丰富的氨基酸、免疫多糖(葡萄糖、甘露聚糖)、B族维生素、小肽和消化酶等功能性物质,已广泛应用于反刍动物的生产中,对维持瘤

收稿日期:2019-05-10

基金项目:四川省重点研发项目“牦牛低海拔舍饲育肥日粮配制技术的研究与示范”(2017NZ0042);四川省肉牛创新团队藏区肉牛(牦牛)产业技术研发与集成应用专项

作者简介:曾钰(1995—),男,重庆人,硕士研究生,动物营养与饲料科学专业。E-mail: 812193617@qq.com

\*通信作者:彭忠利,副教授,硕士生导师,E-mail: leo3131@163.com

胃健康和提高生产性能、免疫力和饲料转化率等方面都有促进作用<sup>[2-6]</sup>。体外产气法是在体外产气装置中添加培养液和饲料来模拟反刍动物瘤胃发酵,通过测定底物剩余量和发酵产物生成量来评价饲料营养价值的方法。自 Menke 等<sup>[7]</sup>发现饲料中营养成分在体外测定的消化率与反刍动物活体内测定的消化率呈高度正相关以来,被广泛应用于反刍动物饲料原料、饲料等营养价值的研究。饲料精粗比是决定反刍动物瘤胃发酵特征的主要因素之一<sup>[8]</sup>,对反刍动物瘤胃内环境和消化代谢都有重要影响<sup>[9]</sup>。过高的精料会引发反刍动物瘤胃酸中毒,而过高的粗料又不能满足反刍动物营养需要,因此,适宜的精粗比对反刍动物的生长发育至关重要。研究表明,YC 能有效地提高肉牛<sup>[1]</sup>、奶牛<sup>[2]</sup>、肉鸡<sup>[10]</sup>和育肥猪<sup>[11]</sup>的生产性能。黄文明等<sup>[1]</sup>在肉牛饲料中添加 150 g/d YC 提高了生长性能,改善了牛肉品质。陈作栋等<sup>[12]</sup>研究表明,在锦江黄牛饲料中添加 YC 不仅提高了饲料中养分消化率,还增加了生长期锦江黄牛的抗氧化能力和免疫性能。Williams 等<sup>[13]</sup>研究表明,在奶牛饲料中添加 YC 能有效地维持瘤胃内环境的稳定。目前,YC 的应用主要集中在奶牛上,未见国内外运用体外产气法研究不同精粗比饲料中

YC 添加水平的相关报道。因此,本试验采用体外产气法研究在不同精粗比饲料中添加不同水平 YC 对牦牛瘤胃体外发酵参数的影响,进一步探讨饲料精粗比与 YC 添加水平是否存在互作效应,以期找出适宜的饲料精粗比和 YC 添加水平,为 YC 在牦牛饲料中的合理应用和牦牛饲料的配制提供理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 YC

本试验所用 YC 由美国国际生物营养科技有限公司(Bio-Nutrition International, Inc)提供,为黄色流动性良好的细小颗粒,其营养成分如下:粗蛋白质含量 $\geq 18.0\%$ ,粗脂肪含量 $\geq 1.5\%$ ,粗纤维含量 $\leq 12.0\%$ ,水分含量 $\leq 12.0\%$ ,粗灰分含量 $\leq 6.0\%$ 。

#### 1.1.2 试验饲料

试验饲料由精料和粗料 2 部分组成,粗料为发酵酒糟和青贮玉米,配制前先将粗料 65 ℃烘干 48 h 后,过 40 目筛后与精料混合成不同精粗比的试验饲料。试验饲料组成及营养水平见表 1。

表 1 试验饲料组成及营养水平(干物质基础)

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

%

项目 Items	精粗比 Concentrate to forage ratio		
	40 :60	50 :50	60 :40
原料 Ingredients			
玉米 Corn	28.00	35.00	42.00
豆粕 Soybean meal	5.60	7.00	8.40
干酒糟及其可溶物 DDGS	3.76	4.70	5.64
磷脂粉 Phospholipid powder <sup>1)</sup>	0.60	0.75	0.90
碳酸钙 CaCO <sub>3</sub>	0.48	0.60	0.72
食盐 NaCl	0.40	0.50	0.60
碳酸氢钠 NaHCO <sub>3</sub>	0.40	0.50	0.60
预混料 Premix <sup>2)</sup>	0.76	0.95	1.14
玉米青贮 Corn silage	30.00	25.00	20.00
发酵酒糟 Fermented distillers' grains	30.00	25.00	20.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels <sup>3)</sup>			
干物质 DM	94.67	94.63	94.68
增重净能 NE <sub>g</sub> /(MJ/kg)	4.33	4.54	4.77
粗蛋白质 CP	13.71	14.12	14.49

续表 1

项目 Items	精粗比 Concentrate to forage ratio		
	40 :60	50 :50	60 :40
中性洗涤纤维 NDF	33.04	30.03	26.77
酸性洗涤纤维 ADF	21.84	19.67	17.33
钙 Ca	0.42	0.44	0.46
总磷 TP	0.49	0.47	0.45

<sup>1)</sup> 磷脂粉由大豆浓缩磷脂和膨化玉米粉为主要原料精制而成,主要成分为卵磷脂、脑磷脂、肌醇磷脂等,粗脂肪含量 $\geq 50\%$ ,粗蛋白质含量 $\geq 8\%$ 。Phospholipid powder was made from soybean concentrated phospholipid and expanded corn flour as main raw materials, the main components were lecithin, brain phospholipid, inositol phospholipid, etc., EE content $\geq 50\%$ , CP content $\geq 8\%$ .

<sup>2)</sup> 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of diets: VA 1 500 IU, VD 550 IU, VE 10 IU, Fe (as ferrous sulfate) 20 mg, Mn (as manganese sulfate) 40 mg, Zn (as zinc sulfate) 30 mg, I (as potassium iodide) 0.50 mg, Se (as sodium selenite) 0.30 mg, Co (as cobalt chloride) 0.20 mg。

<sup>3)</sup> 增重净能参照《肉牛饲养标准》(NY/T 815—2004)<sup>[14]</sup> 计算,其他营养水平为实测值。NE<sub>g</sub> was calculated according to Chinese Feeding Standard of Beef Cattle (NY/T 815—2004)<sup>[14]</sup>, while the other nutrient levels were measured values.

### 1.1.3 瘤胃液

在青白江牦牛屠宰场选取 5 头体重 [ (200±10) kg ] 相近的健康麦注公牦牛,来源于川西北高原的放牧牦牛,屠宰前禁食禁水,待其屠宰后取瘤胃内容物,将 5 头牦牛的瘤胃液按 1:1:1:1 的比例混合后,用 4 层纱布过滤后立即装入保温瓶中通入 CO<sub>2</sub> 保持厌氧条件,迅速带回实验室进行体外发酵试验。

## 1.2 试验设计

本试验采用 3×6 两因素交叉分组试验设计,饲料精粗比和 YC 添加水平作为 2 个试验因素。精粗比分别为 40:60、50:50、60:40, YC 添加水平分别为 0、0.5%、1.0%、1.5%、2.0% 和 2.5%。试验共 18 个处理,每个处理 3 个重复。

### 1.3 体外产气

参照 Menke 等<sup>[7]</sup> 的方法准备缓冲液。微量元素溶液 (A 液): CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 13.2 g, MnCl<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O 10.0 g, CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O 1.0 g, FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O 8.0 g, 加蒸馏水至 100 mL; 缓冲液 (B 液): NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 4.0 g, NaHCO<sub>3</sub> 35.0 g, 加蒸馏水至 1 000 mL; 常量元素溶液 (C 液): Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12H<sub>2</sub>O 9.45 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 6.2 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.6 g, 加蒸馏水至 1 000 mL; 还原剂溶液 (D 液): 1 mol/L NaOH 4.0 mL, Na<sub>2</sub>S · 9H<sub>2</sub>O 625 mg, 定容至 100 mL, 现用现配。取 520.2 mL 蒸馏水, 加入 208.1 mL B 液、208.1 mL C 液和 62.4 mL D 液, 配制成缓冲液。将其置于 39.5 °C 恒温水浴锅中预热备用, 持续通

入 CO<sub>2</sub>。试验前准确称取 1 000 mg 试验饲料无损转移至 100 mL 具塞注射器底部, 在注射器活塞表面涂抹适量的凡士林, 然后吸入 50 mL 事先预热于 39.5 °C 恒温水浴锅中的混合培养液 [ 瘤胃液: 缓冲液 = 1:2 (体积比) ], 轻微振荡摇匀并排出气泡后置于 (39.0±0.5) °C 的恒温培养箱中培养 48 h。每个处理 3 个重复, 同时设置 1 个仅含有混合培养液空白管的; 每个重复设 3 个平行, 发酵结束后将同一处理的 3 个平行样品中的固相和液相分别混合后取样, 以保证剩余干物质含量可用于后续指标的测定。

发酵过程中, 分别记录 2、4、6、8、10、12、18、24、36、48 h 各时间点的产气量, 记录过程中每间隔 2 h 摇匀 1 次, 产气量超过 80 mL 后将产生的气体排出。体外培养结束后, 立即用冰水浴终止发酵, 并将一个处理 3 个平行样品中的培养液分别无损转移至 50 mL 离心管中。立即用 PHS-10 型便携式 pH 计测定其 pH。然后将离心管于 1 684×g (3 500 r/min) 下离心 15 min, 上清液分装于 3 个 15 mL 离心管中, 保存于 -20 °C 用于氨态氮 (NH<sub>3</sub>-N)、微生物蛋白 (MCP) 和挥发性脂肪酸 (volatile fatty acids, VFA) 含量的测定 [ Agilent 6890N 气相色谱仪, 用 2-乙基丁酸 (2EB) 作内标物, 采用内标校正定量方法计算结果, 标准品 (色谱纯) 均购于 Sigma 公司 ]。并用温水洗涤离心管底的固相残渣, 无损转移至预先恒重的铝盒中, 于 65 °C 烘箱中烘 48 h, 用于干物质降解率 (dry matter disappearance rate, DMD)、粗蛋白质降解率

(crude protein degradation rate, CPD)、中性洗涤纤维降解率(neutral detergent fiber degradation rate, NDFD)、酸性洗涤纤维降解率(aid detergent fiber degradation rate, ADFD)的测定。

DMD、DNFD、ADFD 和 CPD 计算公式如下:

$$\text{DMD}(\%) = [(\text{DM}_1 - \text{DM}_2) / \text{DM}_1] \times 100;$$

$$\text{NDFD}(\%) = [(\text{NDF}_{\text{前}} \times \text{DM}_1 - \text{NDF}_{\text{后}} \times \text{DM}_2) / (\text{NDF}_{\text{前}} \times \text{DM}_1)] \times 100。$$

式中:DM<sub>1</sub> 为发酵前样品干物质重;DM<sub>2</sub> 为发酵后残渣干物质重;DNF<sub>前</sub> 为发酵前中性洗涤纤维降含量;NDF<sub>后</sub> 为发酵后中性洗涤纤维降含量。ADFD 和 CPD 的计算方法与 NDFD 相同。

#### 1.4 测定指标和方法

饲料和培养液固相残留物中的干物质、粗蛋白质、钙和磷含量分别参照《饲料中水分的测定》(GB/T 6435—2014)、《饲料中粗蛋白的测定方法》(GB/T 6432—1994)、《饲料中钙的测定方法》(GB/T 6436—2002)和《饲料中总磷的测定 分光光度法》(GB/T 6437—2002)中的方法测定,中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维含量参照 Van Soest 等<sup>[15]</sup>采用滤袋法测定。发酵液中 NH<sub>3</sub>-N 含量使用 721 型分光光度计在 700 nm 波长下比色<sup>[16]</sup>测定,MCP 含量采用考马斯亮蓝法<sup>[17]</sup>在 595 nm 波长处比色,VFA 含量采用气象色谱法<sup>[18]</sup>测定。

其中 VFA 含量测定的色谱条件为:载气为氮气(N<sub>2</sub>),分流比 40:1,流量 2.0 mL/min,平均线速度 38 cm/s,柱压 11.3 psi (1 psi ≈ 6.89 kpa),采用程序升温,初始温度为 120 °C (3 min),以 10 °C/min 升温至 180 °C (1 min),氢焰检测器温度为 250 °C,氢气(H<sub>2</sub>)流量 40 mL/min,空气流量 450 mL/min,柱流量+尾吹气流量 45 mL/min,进样口温度为 210 °C,进样量为 0.6 μL。

#### 1.5 统计分析

试验数据采用 Excel 2010 处理后,用 SPSS 18.0 中一般线性模型(general linear models, GLM)进行两因素方差分析,采用 Duncan 氏法进行多重比较。结果以平均值±标准差表示, $P < 0.05$  代表差异显著。

## 2 结果

### 2.1 不同精粗比饲料中添加 YC 对体外发酵养分降解率和产气量的影响

由表 2 可知,饲料精粗比对产气量、DMD、CPD、NDFD、ADFD 有显著影响( $P < 0.05$ )。50:50

组和 60:40 组 DMD、CPD、NDFD、ADFD 显著高于 40:60 组( $P < 0.05$ ),但 50:50 组和 60:40 组之间差异不显著( $P > 0.05$ )。饲料 YC 添加水平对 CPD、NDFD 和 ADFD 有显著影响( $P < 0.05$ ),对 DMD 无显著影响( $P > 0.05$ ),其中,CPD 随 YC 添加水平的升高先升高后降低,0.5%组 CPD 最高,显著高于其他各组( $P < 0.05$ )。饲料中 YC 添加水平对产气量有显著影响( $P < 0.05$ ),0.5%组产气量最高,显著高于其他各组( $P < 0.05$ )。饲料精粗比和 YC 添加水平对 CPD 有显著的互作效应( $P < 0.05$ )。

### 2.2 不同精粗比饲料中添加 YC 对体外发酵 pH 及 NH<sub>3</sub>-N、MCP 含量的影响

由表 3 可知,饲料精粗比对 pH 及 NH<sub>3</sub>-N、MCP 含量有显著影响( $P < 0.05$ )。40:60 组 pH 显著高于 50:50 组和 60:40 组( $P < 0.05$ ),60:40 组 NH<sub>3</sub>-N 含量显著低于 40:60 组和 50:50 组( $P < 0.05$ ),40:60 组 MCP 含量显著低于 50:50 组和 60:40 组( $P < 0.05$ )。饲料 YC 添加水平对 NH<sub>3</sub>-N 和 MCP 含量有显著影响( $P < 0.05$ ),对 pH 无显著影响( $P > 0.05$ )。0.5%组 NH<sub>3</sub>-N 和 MCP 含量显著高于其他各组( $P < 0.05$ )。饲料精粗比和 YC 添加水平对 pH 和 NH<sub>3</sub>-N、MCP 含量无显著的互作效应( $P > 0.05$ )。

### 2.3 不同精粗比饲料中添加 YC 对体外发酵 VFA 组成的影响

由表 4 可知,饲料精粗比对总挥发性脂肪酸(TVFA)含量和乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸比例以及乙酸/丙酸均有显著影响( $P < 0.05$ )。随着饲料精粗比的增加,乙酸、异戊酸比例和乙酸/丙酸显著降低( $P < 0.05$ ),丁酸比例显著增加( $P < 0.05$ );50:50 组异丁酸和戊酸比例显著高于 40:60 组和 60:40 组( $P < 0.05$ ),60:40 组 TVFA 含量显著高于 40:60 组和 50:50 组( $P < 0.05$ ),60:40 组和 50:50 组丙酸比例显著高于 40:60 组( $P < 0.05$ )。饲料 YC 添加水平对 TVFA 含量和乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸比例以及乙酸/丙酸均有显著影响( $P < 0.05$ )。其中,1.0%组丙酸比例最高,显著高于除 0.5%组的其他各组( $P < 0.05$ );1.0%组异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸比例最高,显著高于其他各组( $P < 0.05$ );1.0%组乙酸/丙酸最低,显著低于其他各组( $P < 0.05$ )。饲料精粗比和 YC 添加水平对 TVFA 含量和乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸比例以及乙酸/丙酸均有显著的互作效应( $P < 0.05$ )。

表 2 不同精粗比饲料中添加 YC 对体外发酵养分降解率和产气量的影响

Table 2 Effects of yeast culture supplementation in diet with different concentrate to forage ratios on nutrient degradation rates and gas production *in vitro* fermentation

项目 Items	产气量 GP/mL	干物质降解率 DMD/%	粗蛋白质降解率 CPD/%	中性洗涤纤维降解率 NDFD/%	酸性洗涤纤维降解率 ADFD/%
精粗比					
Concentrate to forage ratio					
40 : 60	225.83±9.00 <sup>c</sup>	65.39±3.22 <sup>b</sup>	22.22±6.14 <sup>b</sup>	46.17±2.74 <sup>b</sup>	44.06±2.44 <sup>b</sup>
50 : 50	250.50±9.10 <sup>b</sup>	74.11±3.14 <sup>a</sup>	24.41±5.97 <sup>a</sup>	48.12±4.30 <sup>a</sup>	46.30±4.11 <sup>a</sup>
60 : 40	276.78±7.40 <sup>a</sup>	75.17±2.61 <sup>a</sup>	24.82±7.10 <sup>a</sup>	49.38±3.07 <sup>a</sup>	47.73±3.14 <sup>a</sup>
YC 添加水平					
YC supplemental level/%					
0	231.00±6.20 <sup>c</sup>	71.56±6.23	38.40±2.45 <sup>b</sup>	51.69±4.11 <sup>a</sup>	50.14±4.25 <sup>a</sup>
0.5	280.33±3.39 <sup>a</sup>	71.11±5.56	39.96±2.23 <sup>a</sup>	48.31±3.40 <sup>bc</sup>	47.19±3.69 <sup>b</sup>
1.0	251.90±9.36 <sup>b</sup>	71.89±6.95	34.49±4.33 <sup>c</sup>	47.02±3.08 <sup>c</sup>	45.60±2.20 <sup>bc</sup>
1.5	244.56±6.28 <sup>b</sup>	72.44±5.34	13.85±1.21 <sup>d</sup>	49.96±1.45 <sup>ab</sup>	46.88±1.28 <sup>b</sup>
2.0	249.00±6.83 <sup>b</sup>	71.22±3.07	8.73±1.68 <sup>e</sup>	46.01±1.61 <sup>cd</sup>	43.53±1.92 <sup>cd</sup>
2.5	249.44±2.49 <sup>b</sup>	71.19±4.60	7.48±0.94 <sup>f</sup>	44.37±2.25 <sup>d</sup>	42.86±1.96 <sup>d</sup>
精粗比×YC 添加水平					
Concentrate to forage ratio×YC supplemental level					
40 : 60×0	203.33±4.93	64.67±4.04	35.40±0.37 <sup>f</sup>	46.54±0.81	44.85±1.19
40 : 60×0.5	257.67±1.40	62.00±1.00	37.10±0.18 <sup>de</sup>	49.12±1.27	46.97±1.27
40 : 60×1.0	220.33±8.50	63.00±1.00	29.21±1.54 <sup>g</sup>	45.74±1.21	43.91±1.64
40 : 60×1.5	220.67±3.05	65.00±1.73	13.50±0.87 <sup>i</sup>	49.01±0.37	45.51±1.04
40 : 60×2.0	227.00±9.54	69.33±1.16	10.08±1.41 <sup>j</sup>	44.61±1.94	42.19±2.94
40 : 60×2.5	226.00±1.35	68.33±1.53	8.06±0.11 <sup>kl</sup>	42.04±1.37	40.94±1.04
50 : 50×0	236.00±2.51	72.33±1.16	40.39±0.19 <sup>ab</sup>	53.94±1.86	52.50±2.16
50 : 50×0.5	274.67±5.03	73.67±2.08	41.52±0.31 <sup>a</sup>	44.69±3.50	44.87±6.48
50 : 50×1.0	253.67±3.42	77.67±3.06	38.47±0.15 <sup>cd</sup>	47.19±6.19	46.10±2.99
50 : 50×1.5	235.00±7.21	74.67±4.04	12.98±1.40 <sup>i</sup>	51.50±1.82	48.09±0.48
50 : 50×2.0	245.33±4.66	73.44±4.04	6.80±0.47 <sup>lm</sup>	46.97±0.41	43.71±0.12
50 : 50×2.5	258.33±1.24	73.00±3.00	6.27±0.14 <sup>m</sup>	44.53±1.76	42.55±0.81
60 : 40×0	253.67±8.56	77.67±3.06	39.40±1.36 <sup>bc</sup>	54.61±0.09	53.08±0.13
60 : 40×0.5	308.67±5.77	71.67±1.16	41.26±0.05 <sup>a</sup>	51.12±0.77	49.72±1.00
60 : 40×1.0	281.67±9.87	75.00±0.00	35.80±0.50 <sup>ef</sup>	48.13±1.35	46.78±1.88
60 : 40×1.5	278.00±5.57	74.67±1.16	15.07±0.10 <sup>b</sup>	49.49±0.76	47.04±0.43
60 : 40×2.0	274.67±1.13	74.00±1.00	9.31±1.36 <sup>h</sup>	46.45±1.72	44.71±1.85
60 : 40×2.5	264.00±1.90	78.00±1.73	8.11±0.12 <sup>kl</sup>	46.54±0.28	45.09±0.06

续表 2

项目 Items	产气量 GP/mL	干物质降解率 DMD/%	粗蛋白质降解率 CPD/%	中性洗涤纤维降解率 NDFD/%	酸性洗涤纤维降解率 ADFD/%
精粗比 Concentrate to forage ratio	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
YC 添加水平 YC supplemental level	<0.001	0.060	<0.001	<0.001	<0.001
精粗比×YC 添加水平 Concentrate to forage ratio×YC supplemental level	0.293	0.152	<0.001	0.061	0.238

相同项目下同列数据肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ), 相同或无字母表示差异不显著 ( $P>0.05$ )。下表同。

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

表 3 不同精粗比饲料中添加 YC 对体外发酵 pH 及  $\text{NH}_3\text{-N}$ 、MCP 含量的影响

Table 3 Effects of yeast supplementation in diet with different concentrate to forage ratios on pH and  $\text{NH}_3\text{-N}$ , MCP contents *in vitro* fermentation

项目 Items	pH	氨态氮 $\text{NH}_3\text{-N}/(\text{mg}/\text{dL})$	微生物蛋白 MCP/(g/L)
精粗比 Concentrate to forage ratio	40 : 60 50 : 50 60 : 40	6.28±0.04 <sup>a</sup> 6.26±0.04 <sup>b</sup> 6.21±0.06 <sup>b</sup>	26.52±5.14 <sup>a</sup> 24.91±4.74 <sup>a</sup> 22.35±4.23 <sup>b</sup>
YC 添加水平 YC supplemental level/%	0 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5	6.27±0.06 6.25±0.04 6.24±0.06 6.24±0.02 6.23±0.06 6.21±0.09	27.24±4.45 <sup>b</sup> 31.73±1.59 <sup>a</sup> 25.77±2.57 <sup>b</sup> 22.56±3.75 <sup>c</sup> 22.27±2.23 <sup>c</sup> 19.92±1.07 <sup>c</sup>
精粗比×YC 添加水平 Concentrate to forage ratio×YC supplemental level	40 : 60×0 40 : 60×0.5 40 : 60×1.0 40 : 60×1.5 40 : 60×2.0	6.31±0.04 6.28±0.03 6.29±0.05 6.27±0.04 6.28±0.07	32.31±0.14 31.08±3.81 28.06±2.29 23.89±6.00 23.93±2.07

续表 3

项目 Items	pH	氨态氮 NH <sub>3</sub> -N/(mg/dL)	微生物蛋白 MCP/(g/L)
40:60×2.5	6.28±0.03	19.86±1.06	0.34±0.69
50:50×0	6.31±0.04	32.62±1.91	0.50±0.24
50:50×0.5	6.26±0.03	27.76±2.36	0.63±0.04
50:50×1.0	6.23±0.04	26.25±1.23	0.53±0.05
50:50×1.5	6.27±0.04	24.40±1.04	0.51±0.17
50:50×2.0	6.23±0.01	23.16±0.56	0.52±0.05
50:50×2.5	6.26±0.03	21.01±0.02	0.46±0.02
60:40×0	6.20±0.06	30.24±1.55	0.55±1.01
60:40×0.5	6.23±0.04	22.99±3.27	0.62±0.03
60:40×1.0	6.19±0.05	22.86±1.77	0.52±0.16
60:40×1.5	6.26±0.01	19.39±1.74	0.47±0.58
60:40×2.0	6.19±0.07	19.72±1.68	0.52±0.12
60:40×2.5	6.16±0.08	18.89±0.17	0.50±0.74
精粗比	<0.001	<0.001	<0.001
Concentrate to forage ratio			
YC 添加水平	0.203	<0.001	<0.001
YC supplemental level			
精粗比×YC 添加水平			
Concentrate to forage ratio×YC supplemental level	0.523	0.700	0.760

表 4 不同精粗比饲料中添加 YC 对体外发酵 VFA 组成的影响

Table 4 Effects of yeast supplementation in diet with different concentrate to forage ratios on

VFA composition *in vitro* fermentation

项目 Items	总挥发性 脂肪酸 TVFA/(mmol/L)	乙酸 Acetate/%	丙酸 Propionate/%	异丁酸 Isobutyrate/%	丁酸 Butyrate/%	异戊酸 Isovalerate/%	戊酸 Valerate/%	乙酸/丙酸 Acetate/ propionate
精粗比								
40:60	115.89±4.11 <sup>b</sup>	50.40±1.59 <sup>a</sup>	25.86±1.54 <sup>b</sup>	0.50±0.02 <sup>b</sup>	21.58±0.99 <sup>c</sup>	0.95±0.08 <sup>a</sup>	0.70±0.04 <sup>b</sup>	1.96±0.17 <sup>a</sup>
Concentrate to forage ratio								
50:50	115.97±3.08 <sup>b</sup>	47.26±2.30 <sup>b</sup>	27.53±1.60 <sup>a</sup>	0.55±0.07 <sup>a</sup>	23.04±0.67 <sup>b</sup>	0.88±0.08 <sup>b</sup>	0.74±0.10 <sup>a</sup>	1.73±0.17 <sup>b</sup>
60:40	120.35±3.59 <sup>a</sup>	45.24±3.03 <sup>c</sup>	27.69±0.90 <sup>a</sup>	0.46±0.05 <sup>c</sup>	25.23±2.76 <sup>a</sup>	0.71±0.06 <sup>c</sup>	0.67±0.02 <sup>c</sup>	1.64±0.14 <sup>c</sup>

续表 4

项目 Items	总挥发性 脂肪酸 TVFA/(mmol/L)	乙酸 Acetate/%	丙酸 Propionate/%	异丁酸 Isobutyrate/%	丁酸 Butyrate/%	异戊酸 Isovalerate/%	戊酸 Valerate/%	乙酸/丙酸 Acetate/ propionate
0	115.63±2.22 <sup>bc</sup>	48.60±2.21 <sup>b</sup>	26.70±0.87 <sup>b</sup>	0.48±0.02 <sup>b</sup>	22.74±1.63 <sup>c</sup>	0.81±0.13 <sup>c</sup>	0.67±0.02 <sup>d</sup>	1.82±0.14 <sup>b</sup>
YC 添加水平	116.24±3.80 <sup>bc</sup>	46.63±2.55 <sup>c</sup>	28.39±0.70 <sup>a</sup>	0.51±0.05 <sup>b</sup>	22.91±2.00 <sup>c</sup>	0.86±0.09 <sup>b</sup>	0.71±0.04 <sup>c</sup>	1.65±0.13 <sup>c</sup>
YC supplemental lev- el/%	115.29±6.71 <sup>c</sup>	44.05±3.24 <sup>d</sup>	28.72±1.37 <sup>a</sup>	0.55±0.09 <sup>a</sup>	24.98±3.21 <sup>a</sup>	0.93±0.12 <sup>a</sup>	0.77±0.09 <sup>a</sup>	1.54±0.16 <sup>d</sup>
1.5	118.53±3.34 <sup>ab</sup>	47.73±3.13 <sup>c</sup>	25.97±1.43 <sup>c</sup>	0.50±0.08 <sup>b</sup>	24.19±2.23 <sup>b</sup>	0.87±0.11 <sup>b</sup>	0.73±0.07 <sup>b</sup>	1.85±0.22 <sup>b</sup>
2.0	120.48±3.28 <sup>a</sup>	47.90±2.49 <sup>bc</sup>	26.42±1.50 <sup>bc</sup>	0.48±0.06 <sup>b</sup>	23.72±1.45 <sup>b</sup>	0.80±0.12 <sup>c</sup>	0.68±0.01 <sup>d</sup>	1.82±0.20 <sup>b</sup>
2.5	118.24±2.61 <sup>abc</sup>	50.89±1.18 <sup>a</sup>	25.95±1.06 <sup>c</sup>	0.50±0.06 <sup>b</sup>	21.17±1.23 <sup>d</sup>	0.81±0.17 <sup>c</sup>	0.68±0.07 <sup>d</sup>	1.96±0.11 <sup>a</sup>
40 :60×0	113.66±0.21 <sup>ghi</sup>	51.04±0.68 <sup>abc</sup>	25.91±0.27 <sup>fg</sup>	0.48±0.01 <sup>cd</sup>	21.10±0.37 <sup>hij</sup>	0.83±0.01 <sup>g</sup>	0.65±0.01 <sup>g</sup>	1.97±0.05 <sup>bcd</sup>
40 :60×0.5	111.74±0.71 <sup>hi</sup>	49.38±0.05 <sup>def</sup>	27.73±0.50 <sup>cde</sup>	0.48±0.00 <sup>cd</sup>	20.82±0.47 <sup>j</sup>	0.89±0.00 <sup>e</sup>	0.70±0.02 <sup>d</sup>	1.78±0.03 <sup>efg</sup>
40 :60×1.0	112.29±0.30 <sup>ghi</sup>	48.12±0.09 <sup>efg</sup>	27.71±0.06 <sup>cdef</sup>	0.50±0.01 <sup>cd</sup>	21.88±0.14 <sup>ghi</sup>	1.05±0.02 <sup>a</sup>	0.75±0.00 <sup>c</sup>	1.74±0.00 <sup>fgh</sup>
40 :60×1.5	118.05±0.86 <sup>abcdef</sup>	51.46±0.11 <sup>ab</sup>	24.15±0.13 <sup>j</sup>	0.49±0.01 <sup>cd</sup>	22.21±0.25 <sup>fgh</sup>	1.00±0.00 <sup>b</sup>	0.70±0.01 <sup>d</sup>	2.13±0.01 <sup>a</sup>
40 :60×2.0	121.70±4.97 <sup>abcd</sup>	50.24±2.18 <sup>bcd</sup>	24.60±1.06 <sup>ij</sup>	0.53±0.01 <sup>bc</sup>	23.01±1.10 <sup>fg</sup>	0.95±0.03 <sup>cd</sup>	0.66±0.01 <sup>ef</sup>	2.05±0.18 <sup>abc</sup>
40 :60×2.5	117.89±2.22 <sup>bcdef</sup>	52.19±0.73 <sup>b</sup>	25.06±0.63 <sup>hij</sup>	0.53±0.01 <sup>bc</sup>	20.46±0.07 <sup>j</sup>	0.99±0.03 <sup>bc</sup>	0.76±0.02 <sup>c</sup>	2.08±0.08 <sup>ab</sup>
50 :50×0	116.85±1.85 <sup>cdefgh</sup>	48.61±0.53 <sup>fgh</sup>	26.72±0.10 <sup>efg</sup>	0.49±0.04 <sup>cd</sup>	22.56±0.56 <sup>fg</sup>	0.94±0.02 <sup>d</sup>	0.68±0.01 <sup>def</sup>	1.82±0.01 <sup>ef</sup>
50 :50×0.5	116.85±0.43 <sup>cdefgh</sup>	46.80±0.15 <sup>hi</sup>	28.25±0.07 <sup>c</sup>	0.57±0.02 <sup>b</sup>	22.69±0.18 <sup>fg</sup>	0.93±0.01 <sup>d</sup>	0.76±0.01 <sup>c</sup>	1.66±0.00 <sup>gh</sup>
50 :50×1.0	110.19±0.71 <sup>i</sup>	42.86±0.25 <sup>m</sup>	30.45±0.41 <sup>a</sup>	0.66±0.01 <sup>a</sup>	24.19±0.16 <sup>de</sup>	0.96±0.00 <sup>cd</sup>	0.88±0.01 <sup>a</sup>	1.41±0.03 <sup>i</sup>
50 :50×1.5	115.10±0.79 <sup>efghi</sup>	47.22±0.03 <sup>ghi</sup>	27.11±0.12 <sup>dfe</sup>	0.59±0.02 <sup>ab</sup>	23.38±0.12 <sup>ef</sup>	0.87±0.03 <sup>ef</sup>	0.82±0.03 <sup>b</sup>	1.74±0.01 <sup>eigh</sup>
50 :50×2.0	117.40±0.07 <sup>bcdefg</sup>	48.26±0.60 <sup>fgh</sup>	27.10±0.20 <sup>def</sup>	0.49±0.01 <sup>cd</sup>	22.74±0.78 <sup>fg</sup>	0.74±0.01 <sup>hi</sup>	0.68±0.01 <sup>def</sup>	1.78±0.01 <sup>efg</sup>
50 :50×2.5	119.42±0.25 <sup>abcde</sup>	49.79±0.12 <sup>cde</sup>	25.56±0.09 <sup>hi</sup>	0.50±0.01 <sup>cd</sup>	22.70±0.02 <sup>fg</sup>	0.84±0.00 <sup>fg</sup>	0.62±0.00 <sup>g</sup>	1.95±0.01 <sup>cd</sup>
60 :40×0	116.37±3.08 <sup>defgh</sup>	46.17±0.23 <sup>j</sup>	27.47±1.11 <sup>cdef</sup>	0.48±0.02 <sup>cd</sup>	24.56±0.82 <sup>cd</sup>	0.65±0.02 <sup>j</sup>	0.68±0.02 <sup>def</sup>	1.68±0.08 <sup>gh</sup>
60 :40×0.5	120.14±0.06 <sup>abcde</sup>	43.70±0.44 <sup>lm</sup>	29.20±0.10 <sup>b</sup>	0.47±0.02 <sup>cde</sup>	25.22±0.54 <sup>cd</sup>	0.75±0.01 <sup>hi</sup>	0.66±0.00 <sup>ef</sup>	1.50±0.01 <sup>i</sup>
60 :40×1.0	123.38±4.82 <sup>a</sup>	41.18±0.35 <sup>n</sup>	27.99±0.41 <sup>cd</sup>	0.48±0.01 <sup>cd</sup>	28.89±0.72 <sup>a</sup>	0.78±0.02 <sup>h</sup>	0.68±0.02 <sup>def</sup>	1.47±0.01 <sup>i</sup>
60 :40×1.5	122.44±0.05 <sup>ab</sup>	44.50±0.19 <sup>kl</sup>	26.66±0.15 <sup>fg</sup>	0.43±0.01 <sup>de</sup>	26.99±0.32 <sup>b</sup>	0.74±0.01 <sup>hi</sup>	0.68±0.00 <sup>def</sup>	1.67±0.00 <sup>gh</sup>
60 :40×2.0	122.34±0.21 <sup>abc</sup>	45.21±0.24 <sup>kl</sup>	27.57±0.06 <sup>cdef</sup>	0.41±0.00 <sup>e</sup>	25.42±0.17 <sup>c</sup>	0.71±0.01 <sup>i</sup>	0.69±0.01 <sup>de</sup>	1.64±0.01 <sup>b</sup>
60 :40×2.5	117.42±4.98 <sup>bcdefg</sup>	50.70±0.74 <sup>bcd</sup>	27.24±0.06 <sup>cdef</sup>	0.47±0.11 <sup>cde</sup>	20.34±0.74 <sup>j</sup>	0.61±0.02 <sup>k</sup>	0.65±0.02 <sup>fg</sup>	1.86±0.03 <sup>de</sup>
精粗比	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Concentrate to forage ratio								
YC 添加水平	0.006	<0.001	<0.001	0.014	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
YC supplemental level								
精粗比×YC 添加水平								
Concentrate to forage ratio× YC supplemental level	0.004	<0.001	<0.001	0.010	<0.001	<0.001	<0.001	0.013

### 3 讨论

#### 3.1 不同精粗比饲料中添加 YC 对养分降解率和产气量的影响

反刍动物瘤胃内含有极为复杂的微生物体系,微生物在发酵饲料后会代谢产生大量 VFA 和氨气( $\text{NH}_3$ )、甲烷( $\text{CH}_4$ )、二氧化碳( $\text{CO}_2$ )和  $\text{H}_2$  等混合气体<sup>[19-20]</sup>。产气量可综合反映饲料本身的降解特性和微生物生长的情况<sup>[20]</sup>,是评价体外发酵效果的重要指标。本试验中,随着饲料精粗比的升高,可发酵碳水化合物增多,瘤胃微生物活性增强,产气量也随之升高。随着饲料 YC 添加水平的提高,产气量先升高后降低,与耿春银等<sup>[21]</sup>在饲料中添加 YC 可以增加瘤胃体外发酵产气量的研究结果一致。可能是 YC 富含矿物质、多糖、小肽和消化酶的物质,促进了瘤胃微生物的快速增殖,从而提高饲料的降解率所致,但 YC 添加水平超过 1.5% 也会降低产气量。

Fondevila 等<sup>[22]</sup>研究表明,提高饲料中精料的比例,绵羊瘤胃干物质和有机物的降解率升高。王吉峰等<sup>[23]</sup>采用尼龙袋法研究不同精粗比饲料的养分消化率,发现有机物、干物质和粗蛋白质的降解率随着饲料精粗比的升高而增加,但中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维的降解率无显著差异。张俊瑜等<sup>[24]</sup>以 2 头安装瘘管的荷斯坦奶牛为研究对象,采用尼龙袋法研究饲料的降解特性,结果表明,干物质和粗蛋白质的有效降解率随饲料精料水平的提高显著增加。本试验中,随着饲料精粗比的提高,DMD、CPD、NDFD、ADFD 也随之提高,与上述研究结果一致。Arambel 等<sup>[25]</sup>研究发现,在奶牛饲料中添加 YC 对粗蛋白质、中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维的表观消化率均无显著影响。Hristov 等<sup>[26]</sup>研究表明,YC 对养分表观消化率无显著影响。然而,Haddad 等<sup>[27]</sup>研究了在饲料中添加 YC 对羔羊养分表观消化率的影响,结果显示,YC 可显著提高羔羊干物质、有机物、粗蛋白质以及中性洗涤纤维的表观消化率。同时,白永平等<sup>[28]</sup>研究发现,在泌乳奶牛饲料中添加 300 g/d 的 YC 可显著提高中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维的表观消化率。本试验中,饲料 YC 添加水平对 DMD 无显著影响,降低了 CPD、NDFD、ADFD,与上述研究结果不完全一致。可能是 YC 对纤维降解菌、蛋白水解菌和淀粉分解菌的活性产生影响

所导致<sup>[29-30]</sup>。本课题组前期研究发现,在牦牛饲料中添加 YC 会增加瘤胃中降解非纤维物质微生物的相对丰度,降低纤维降解菌的相对丰度,与本试验结果相呼应。研究表明,饲料精粗比也是影响 YC 对营养物质消化率的重要因素<sup>[31]</sup>。本试验中,饲料精粗比为 50:50 和 60:40 且 YC 添加水平超过 2.0% 时,纤维和蛋白质的降解有一定程度的降低;饲料精粗比为 50:50 和 60:40 且 YC 添加水平为 0.5%~1.0% 时,DMD、CPD、NDFD、ADFD 以及产气量较高。

#### 3.2 不同精粗比饲料中添加 YC 对体外发酵 pH 及 $\text{NH}_3\text{-N}$ 、MCP 含量的影响

瘤胃 pH 是瘤胃食糜中 VFA 和唾液中缓冲盐相互作用、瘤胃上皮对 VFA 吸收和瘤胃食糜排出等因素综合作用的结果<sup>[32]</sup>。瘤胃 pH 对瘤胃微生物区系、瘤胃发酵产物和瘤胃功能有重要影响,是评价瘤胃功能稳衡的重要指标,也是瘤胃生理状况的最直接表现<sup>[33]</sup>,且与饲料组成和营养成分的密切相关<sup>[34]</sup>,可综合反映瘤胃微生物、代谢产物和有机酸产生、吸收、排出及中和的状况<sup>[35]</sup>。Kononoff 等<sup>[36]</sup>的研究表明,精料比例的升高会降低瘤胃 pH。本试验条件下,随着精粗比的升高,pH 逐渐降低,与陈志龙等<sup>[37]</sup>和胡琳等<sup>[38]</sup>研究结果一致。可能是由于饲料精粗比的增加,非结构性碳水化合物的比例也随之增加,产生大量的 VFA 和乳酸等物质,使得瘤胃 pH 降低。本试验中,随着饲料 YC 添加水平的提高,pH 逐渐降低,但无显著差异,可能是由于本试验采用的体外产气装置不是连续型培养系统,所产生的 VFA 和乳酸等物质无法被动物机体吸收和排出,导致 pH 降低,同时,瘤胃 pH 下降会影响瘤胃微生物的生长繁殖,使降解纤维物质的微生物活性降低,增强淀粉降解菌的生长<sup>[39]</sup>。

$\text{NH}_3\text{-N}$  是瘤胃微生物利用饲料中的蛋白质合成的,是 MCP 合成的主要前体物,也是反映瘤胃发酵的一个重要指标。 $\text{NH}_3\text{-N}$  含量反映了瘤胃微生物分解含氮物质产生  $\text{NH}_3$  的速度及其对  $\text{NH}_3$  的摄取利用情况<sup>[40]</sup>。瘤胃中正常  $\text{NH}_3\text{-N}$  含量是瘤胃微生物合成 MCP 的关键。 $\text{NH}_3\text{-N}$  作为 MCP 合成的氮源,其适宜浓度为 10~50 mg/dL<sup>[41]</sup>,当  $\text{NH}_3\text{-N}$  浓度低于 20 mg/dL 时会降低反刍动物的采食量和消化率<sup>[37]</sup>。本试验中,各组  $\text{NH}_3\text{-N}$  浓度均在 19.92~32.62 mg/dL 变动,高于王斌星等<sup>[42]</sup>

和孙红梅等<sup>[43]</sup>在牦牛上测定的结果,可能是体外发酵过程中,代谢产物无法移除的缘故,导致氨在培养液中蓄积所致。整个发酵过程中, $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量随着饲料精粗比升高而降低,而 MCP 含量增加,与陈志龙等<sup>[37]</sup>的研究结果一致,可能是饲料精粗比的增加,非结构性碳水化合物含量增多,促进瘤胃微生物的增殖而提高  $\text{NH}_3\text{-N}$  的利用率<sup>[44]</sup>,促进了 MCP 的合成。瘤胃中 MCP 和  $\text{NH}_3\text{-N}$  含量可以反映出瘤胃的消化能力,但 YC 对瘤胃  $\text{NH}_3\text{-N}$  含量影响的结论并不一致。Richter 等<sup>[45]</sup>研究表明,在奶牛饲料中添加 YC 能够增加瘤胃  $\text{NH}_3\text{-N}$  含量。Hristov 等<sup>[26]</sup>研究表明,YC 对瘤胃  $\text{NH}_3\text{-N}$  含量无显著影响。王玲<sup>[44]</sup>研究发现,YC 可以提高奶牛瘤胃 MCP 含量。本试验中, $\text{NH}_3\text{-N}$  和 MCP 含量随饲料 YC 添加水平的增加先升高后降低,说明饲料中 YC 添加水平低于 1.5% 可以促进微生物的生长,同时,体外发酵不能完全模拟体内环境,随着发酵时间的延长,代谢产物的增加对瘤胃微生物产生不利影响,从而降低  $\text{NH}_3\text{-N}$  和 MCP 含量。

### 3.3 不同精粗比饲料中添加 YC 对体外发酵 VFA 组成的影响

反刍动物瘤胃发酵产生的 VFA 包括乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸等,可为机体提供 70%~80% 的能量,也是瘤胃微生物增殖碳架的主要来源<sup>[46-47]</sup>。乙酸、丙酸和丁酸占 TVFA 含量 95% 左右,乙酸是乳脂合成的主要前体,丙酸则通过糖异生作用合成机体所需的葡萄糖,因此丙酸发酵型可为机体提供更多的能量,有利于提高动物的生产性能和饲料利用率<sup>[48]</sup>。瘤胃发酵类型和 VFA 产量与饲料类型密切相关。Polyorach 等<sup>[49]</sup>和周航<sup>[50]</sup>研究发现,随着饲料精粗比的升高,丙酸比例提高而乙酸比例降低;丁耿芝<sup>[51]</sup>研究也表明,随着饲料精粗比的升高,瘤胃中乙酸的比例和乙酸/丙酸逐渐降低。本试验中,随着饲料精粗比的升高,乙酸、异戊酸比例和乙酸/丙酸降低,而丙酸、丁酸比例和 TVFA 含量升高,与上述研究结果一致。这表明在适宜的范围内提高精料的比例,瘤胃发酵类型会由乙酸型转变为丙酸型。在本试验条件下,饲料精粗比以 50:50 和 60:40 为宜。研究表明,饲料中添加 YC 能改变瘤胃 VFA 含量及其组成比例<sup>[52-53]</sup>。Harrison 等<sup>[54]</sup>和 Adams 等<sup>[55]</sup>在泌乳奶牛和小牛饲料中添加 YC,结果增加了瘤胃

丙酸比例,降低了乙酸、异戊酸比例和乙酸/丙酸。也有研究报道,在肉牛饲料中添加酿酒酵母对瘤胃 VFA 含量无显著影响<sup>[56]</sup>。本试验中,丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸和异戊酸比例随着饲料 YC 添加水平先升高后降低,而乙酸比例和乙酸/丙酸随着饲料 YC 添加水平先降低后升高,YC 添加水平在 1.0% 以下时,有利于丙酸和戊酸的生成,降低乙酸比例和乙酸/丙酸。这说明在饲料中添加 YC 有利于瘤胃发酵向丙酸发酵型转化,其中以 0.5% 和 1.0% 添加水平为宜。

## 4 结 论

① 随着饲料精粗比的升高,产气量、DMD、CPD、ADFD、NDFD 和 MCP 升高,pH 和  $\text{NH}_3\text{-N}$  含量降低,瘤胃发酵类型转变为丙酸发酵型,精粗比以 50:50 和 60:40 为宜。

② 随着饲料 YC 添加水平的增加,CPD、NDFD 和 ADFD 以及  $\text{NH}_3\text{-N}$  含量降低,YC 添加水平在 1% 以下时,可增加丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸和戊酸比例及 MCP 含量,降低乙酸比例和乙酸/丙酸,促进瘤胃发酵类型向丙酸型转化,但 YC 添加水平在 1.5% 以上时会产生负面影响,YC 添加水平以 0.5% 和 1.0% 为宜。

## 参考文献:

- [1] 黄文明,谭林,王芬,等.酵母培养物对育肥牛生长性能、屠宰性能及肉品质的影响[J].动物营养学报,2019,31(3):1317-1325.
- [2] DIAS A L G, FREITAS J A, MICAI B, et al. Effect of supplemental yeast culture and dietary starch content on rumen fermentation and digestion in dairy cows [J]. Journal of Dairy Science, 2018, 101(1): 201-221.
- [3] 闫碧川,李振乾,李胜利,等.不同酵母培养物对泌乳中后期奶牛生产性能、养分表观消化率以及血清指标的影响[J].动物营养学报,2018,30(7):2732-2740.
- [4] 周东年,姚琨,谢申猛,等.酿酒酵母培养物对泌乳奶牛生产性能、营养物质表观消化率及血清指标的影响[J].动物营养学报,2018,30(7):2741-2748.
- [5] WAGNER J J, ENGLE T E, BELKNAP C R, et al. Meta-analysis examining the effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on feedlot performance and carcass traits [J]. The Professional Animal Scientist, 2016, 32(2): 172-182.

- [ 6 ] POPPY G D, RABIEE A R, LEAN I J, et al. A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows [ J ]. *Journal of Dairy Science*, 2012, 95 ( 10 ) : 6027-6041.
- [ 7 ] MENKE K H, RAAB L, SALEWSKI A, et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro* [ J ]. *The Journal of Agricultural Science*, 1979, 93 ( 1 ) : 217-222.
- [ 8 ] 袁玖, 万欣杰, 平丽莹, 等. 不同精粗比和苜蓿水平对饲料组合效应的影响 [ J ]. *畜牧兽医学报*, 2018, 49 ( 2 ) : 449-458.
- [ 9 ] 王林, 赵臣, 曾燕霞, 等. 不同精粗比饲料中添加甘露寡糖对绵羊瘤胃养分降解率的影响 [ J ]. *动物营养学报*, 2017, 29 ( 7 ) : 2556-2564.
- [ 10 ] GAO J, ZHANG H J, YU S H, et al. Effects of yeast culture in broiler diets on performance and immunomodulatory functions [ J ]. *Poultry Science*, 2008, 87 ( 7 ) : 1377-1384.
- [ 11 ] 田书会, 李根来, 田文生, 等. 酵母培养物对夏季生育肥猪肠道菌群结构和发酵能力的影响 [ J ]. *南京农业大学学报*, 2013, 36 ( 4 ) : 91-98.
- [ 12 ] 陈作栋, 周珊, 赵向辉, 等. 酵母培养物对生长期锦江黄牛生产性能、抗氧化能力及免疫性能的影响 [ J ]. *动物营养学报*, 2017, 29 ( 5 ) : 1767-1773.
- [ 13 ] WILLIAMS P E, TAIT C A G, INNES G M, et al. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers [ J ]. *Journal of Animal Science*, 1991, 69 ( 7 ) : 3016-3026.
- [ 14 ] 中国农业科学院畜牧研究所, 中国农业大学. NY/T 815—2004 肉牛饲养标准 [ S ]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [ 15 ] VAN SOEST P J, ROBERTSON J B, LEWIS B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition [ J ]. *Journal of Dairy Science*, 1991, 74 ( 10 ) : 3583-3597.
- [ 16 ] 冯宗慈, 高民. 通过比色测定瘤胃液氨氮含量方法的改进 [ J ]. *畜牧与饲料科学*, 2010, 31 ( 4 ) : 40-41.
- [ 17 ] 高雨飞. 高精料日粮条件下烟酸对牛瘤胃微生物区系的影响 [ D ]. 硕士学位论文. 南昌: 江西农业大学, 2016.
- [ 18 ] CAO Y C, YANG H J. Ruminal digestibility and fermentation characteristics *in vitro* of fenugreek and alfalfa hay combination with or without the inoculation of *Neocallimastix* sp. YAK11 [ J ]. *Animal Feed Science and Technology*, 2011, 169 ( 1/2 ) : 53-60.
- [ 19 ] 陈光吉, 宋善丹, 彭忠利, 等. 体外产气法研究不同 NFC/NDF 底物条件下外源纤维素酶的适宜添加水平 [ J ]. *草业学报*, 2017, 26 ( 7 ) : 116-127.
- [ 20 ] 张婷, 张彬, 张佩华, 等. 不同能量水平及玉米加工饲料对瘤胃体外发酵参数的影响. *草业学报*, 2015, 24 ( 12 ) : 102-111.
- [ 21 ] 耿春银, 赵丽萍, 何立文, 等. 活性干酵母与酵母培养物对体外瘤胃发酵参数影响的比较 [ J ]. *中国畜牧兽医*, 2016, 43 ( 11 ) : 2931-2938.
- [ 22 ] FONDEVILA M, CASTRILLO C, GUADA J A, et al. Effect of ammonia treatment and carbohydrate supplementation of barley straw on rumen liquid characteristics and substrate degradation by sheep [ J ]. *Animal Feed Science and Technology*, 1994, 50 ( 1/2 ) : 137-155.
- [ 23 ] 王吉峰, 王加启, 李树聪, 等. 不同日粮对奶牛瘤胃发酵模式及泌乳性能的影响 [ J ]. *畜牧兽医学报*, 2005, 36 ( 6 ) : 569-573.
- [ 24 ] 张俊瑜, 王加启, 王晶, 等. 裹包全混合日粮瘤胃降解特性的研究 [ J ]. *草业科学*, 2010, 27 ( 3 ) : 136-143.
- [ 25 ] ARAMBEL M J, KENT B A. Effect of yeast culture on nutrient digestibility and milk yield response in early- to midlactation dairy cows [ J ]. *Journal of Dairy Science*, 1990, 73 ( 6 ) : 1560-1563.
- [ 26 ] HRISTOV A N, VARGA G, CASSIDY T, et al. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows [ J ]. *Journal of Dairy Science*, 2010, 93 ( 2 ) : 692-692.
- [ 27 ] HADDAD S G, GOUSSOUS S N. Effect of yeast culture supplementation on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs [ J ]. *Animal Feed Science and Technology*, 2005, 118 ( 3/4 ) : 343-348.
- [ 28 ] 白永平, 彭江红, 白利军, 等. 酵母培养物对泌乳早期奶牛泌乳性能和营养物质表观消化率的影响 [ J ]. *中国饲料*, 2019 ( 6 ) : 51-54.
- [ 29 ] HU Z H, WANG G, YU H Q. Anaerobic degradation of cellulose by rumen microorganisms at various pH values [ J ]. *Biochemical Engineering Journal*, 2004, 21 ( 1 ) : 59-62.
- [ 30 ] REILLY K, CARRUTHERS V R, ATTWOOD G T. Design and use of 16S ribosomal DNA-directed primers in competitive PCRs to enumerate proteolytic bacteria in the rumen [ J ]. *Microbial Ecology*, 2002, 43 ( 2 ) : 259-270.
- [ 31 ] MALEKKHAHI M, TAHMASBI A M, NASERIAN A A, et al. Effects of supplementation of active dried yeast and malate during sub-acute ruminal acidosis on rumen fermentation, microbial population, selected blood metabolites, and milk production in dairy cows [ J ]. *Animal Feed Science and Technology*, 2016,

- 213:29-43.
- [32] 冯仰廉.反刍动物营养学[M].北京:科学出版社,2004.
- [33] NAGARAJA T G, TITGEMEYER E C. Ruminant acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook [J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90(Suppl.1):E17-E38.
- [34] 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.
- [35] 嘎尔迪, 齐智利, 张润厚, 等. 玉米的不同加工处理对绵羊瘤胃内 pH、NH<sub>3</sub>-N 和 VFA 浓度的影响 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2002(9):18-20.
- [36] KONONOFF P J, HEINRICH A J. The effect of corn silage particle size and cottonseed hulls on cows in early lactation [J]. *Journal of Dairy Science*, 2003, 86(7):2438-2451.
- [37] 陈志龙, 曾燕霞, 王林, 等. 不同精粗比饲粮中添加甘露寡糖对绵羊体外瘤胃发酵的影响 [J]. *动物营养学报*, 2016, 28(10):3292-3300.
- [38] 胡琳, 王定发, 李韦, 等. 不同精粗比对木薯茎叶型全混合日粮山羊瘤胃降解率的影响 [J]. *中国畜牧兽医*, 2016, 43(11):2914-2921.
- [39] YOON I K, GARRETT J E, COX D J. Effect of yeast culture supplementation to alfalfa-grass hay diet on microbial fermentation in continuous culture of rumen contents [J]. *Animal Science*, 1997, 75(Suppl.1):91-98.
- [40] 刘宗柱, 王金宝, 徐德武, 等. 人工瘤胃中半胱胺的稳定性及其对瘤胃发酵的影响 [J]. *畜牧兽医学报*, 1998, 29(6):513-516.
- [41] 韩正康, 陈杰. 反刍动物瘤胃的消化和代谢 [M]. 北京:科学出版社, 1988.
- [42] 王斌星, 陈光吉, 郭春华, 等. 能量水平对舍饲育肥牦牛生长性能、屠宰性能、瘤胃发酵参数和瘤胃微生物数量的影响 [J]. *中国畜牧兽医*, 2017, 44(2):469-475.
- [43] 孙红梅, 郝力壮, 冯宇哲, 等. 青蒿提取物对牦牛瘤胃发酵及甲烷产量的影响 [J]. *家畜生态学报*, 2015, 36(8):34-40.
- [44] MICHALSKI J P, CZAUDERNA M, LITWIN W, et al. Incorporation of endogenous urea nitrogen into amino acids of milk in goats fed diets with various protein levels [J]. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 2014, 23(3):212-216.
- [45] RICHTER G, FLACHOWSKY G. Zum einatz leistungssreigerder substanzen in the wiederkauerenahrung-isisauren und pansenfermoregulatoren monatschr [J]. *Veterinary Medicine*, 1989, 44:819-825.
- [46] 王玲. 半胱胺和酵母培养物对奶牛瘤胃微生物蛋白产量、产奶性能和氮排泄的影响 [D]. 硕士学位论文. 青岛:青岛农业大学, 2016.
- [47] SPEARS J W, SCHLEGEL P, SEAL M C, et al. Bioavailability of zinc from zinc sulfate and different organic zinc sources and their effects on ruminal volatile fatty acid proportions [J]. *Livestock Production Science*, 2004, 90(2/3):211-217.
- [48] 李满双, 薛树媛, 王超, 等. 体外产气法研究沙柳混合发酵饲料对绵羊瘤胃内环境参数的影响 [J]. *动物营养学报*, 2015, 27(6):1943-1953.
- [49] POLYORACH S, WANAPAT M, CHERDTHONG A. Influence of yeast fermented cassava chip protein (YEFECAP) and roughage to concentrate ratio on ruminal fermentation and microorganisms using *in vitro* gas production technique [J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2014, 27(1):36-45.
- [50] 周航. 不同精粗比日粮对延边黄牛消化发酵和瘤胃微生物多样性的影响 [D]. 硕士学位论文. 延吉:延边大学, 2014.
- [51] 丁耿芝. 酵母菌添加对饲喂不同精粗比饲粮肉牛瘤胃发酵、养分降解和血浆代谢组的影响 [D]. 博士学位论文. 北京:中国农业大学, 2014.
- [52] VOHRA A, SYAL P, MADAN A. Probiotic yeasts in livestock sector [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2016, 219:31-47.
- [53] HELAL F I S, ABDEL-RAHMAN K A. Productive performance of lactating ewes fed diets supplementing with dry yeast and/or Bentonite as feed additives [J]. *World Journal of Agricultural Sciences*, 2010, 6(5):489-498.
- [54] HARRISON G A, HEMKEN R W, DAWSON K A, et al. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations [J]. *Journal of Dairy Science*, 1988, 71(11):2967-2975.
- [55] ADAMS D C, GALYEAN M L, KIESLING H E, et al. Influence of viable yeast culture, sodium bicarbonate and monensin on liquid dilution rate, rumen fermentation and feedlot performance of growing steers and digestibility in lambs [J]. *Journal of Animal Science*, 1981, 53(1):780-789.
- [56] LEHLOENYA K V, KREHBIEL C R, MERTZ K J, et al. Effects of propionibacteria and yeast culture fed to steers on nutrient intake and site and extent of digestion [J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91(2):653-662.

# Effects of Yeast Culture Supplementation in Diet with Different Concentrate to Forage Ratios on *in Vitro* Rumen Fermentation Parameters of Yaks

ZENG Yu<sup>1,2</sup> XIE Xinting<sup>1</sup> PNEG Zhongli<sup>1\*</sup> GAO Yanhua<sup>1,2</sup> MIAO Jianjun<sup>1</sup> BAI Xue<sup>1,2</sup>

(1. College of Life Science and Technology, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China; 2. Key Laboratory of Qinghai-Tibetan Plateau Animal Genetic Resource Reservation and Utilization, Ministry of Education, Chengdu 610041, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to investigate the effects of yeast culture (YC) supplementation in diet with different concentrate to forage ratios on *in vitro* rumen fermentation parameters of yaks. Five levels (0, 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0% and 2.5%) of YC were supplemented in diet with three concentrate to forage ratios (40:60, 50:50 and 60:40) to formulate 18 kinds of substrates using 3×6 two factors cross group experiment design. The result showed as follows: 1) dietary concentrate to forage ratio had significant effects on gas production, dry matter degradation rate (DMD), crude protein degradation rate (CPD), acid detergent fiber degradation rate (ADFD) and neutral detergent fiber degradation rate (NDFD) ( $P<0.05$ ), and the DMD, CPD, NDFD and ADFD of 50:50 group and 60:40 group were significantly higher than those of 40:60 group ( $P<0.05$ ). Dietary YC supplemental level had significant effects on gas production, CPD, NDFD and ADFD ( $P<0.05$ ), and the gas production and CPD of 0.5% group were significantly higher than those of other groups ( $P<0.05$ ). Dietary concentrate to forage ratio and YC supplemental level had significant interaction on CPD ( $P<0.05$ ). 2) Dietary concentrate to forage ratio had significant effects on pH and ammonia nitrogen ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) and microbial protein (MCP) contents ( $P<0.05$ ). The pH of 40:60 group was significantly higher than that of 50:50 group and 60:40 group ( $P<0.05$ ), the  $\text{NH}_3\text{-N}$  content of 60:40 group was significantly lower than that of 40:60 group and 50:50 group ( $P<0.05$ ), and the MCP content of 40:60 group was significantly lower than that of 60:40 group and 50:50 group ( $P<0.05$ ). Dietary YC supplemental level had significant effects on  $\text{NH}_3\text{-N}$  and MCP contents ( $P<0.05$ ), and the  $\text{NH}_3\text{-N}$  and MCP contents of 0.5% group were significantly higher than those of other groups ( $P<0.05$ ). 3) Dietary concentrate to forage ratio and YC supplemental level had significant effects and significant interaction on total volatile fatty acid (TVFA) content and percentages of acetate, propionate, isobutyrate, butyrate, isovalerate and valerate and acetate/propionate ( $P<0.05$ ). The TVFA content and butyrate percentage of 60:40 group were significantly higher than those of 40:60 group and 50:50 group ( $P<0.05$ ), the acetate and isovalerate percentages and acetate/propionate of 40:60 group were significantly higher than those of 60:40 group and 50:50 group ( $P<0.05$ ), and the butyrate and valerate percentages of 50:50 group were significantly higher than those of 40:60 group and 60:40 group ( $P<0.05$ ). The isobutyrate, butyrate, isovalerate and valerate percentages of 1.0% group were significantly higher than those of other groups ( $P<0.05$ ), and the acetate/propionate was significantly lower than that of other groups ( $P<0.05$ ). In conclusion, under the conditions of this experiment, dietary concentrate to forage ratio and YC supplemental level have effects on gas production, nutrient degradation rates and fermentation parameters *in vitro* fermentation. The optimal concentrate to forage ratios are 50:50 and 60:40, and the optimal YC levels are 0.5% and 1.0%. [Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(12):5582-5594]

**Key words:** concentrate to forage ratio; yeast culture; *in vitro* fermentation; pH;  $\text{NH}_3\text{-N}$ ; volatile fatty acid