

诺丽果原粉对绒山羊体外瘤胃发酵功能的影响

张清月 梁晓帅 李胤豪 马国强 郭晓宇 赵艳丽 闫素梅*

(内蒙古农业大学动物科学学院,内蒙古自治区动物营养与饲料科学重点实验室,呼和浩特 010018)

摘要: 本试验利用体外批次培养法,通过测定培养各时间点的瘤胃发酵参数并结合多项组合效应值(MFAEI),研究向底物中添加不同剂量的诺丽果原粉对绒山羊体外瘤胃发酵功能的影响,为绒山羊生产中新型替抗产品的开发及诺丽果资源的合理利用提供理论支撑。试验以2周岁内蒙古阿尔巴斯白绒山羊为瘤胃液供体动物,采用完全随机区组试验设计,分别向发酵底物中添加0、1.0%、2.0%、3.5%和5.0%的诺丽果原粉,并分别培养3、6、9、12和24 h。结果表明:不同添加剂量的诺丽果原粉均显著降低了体外瘤胃发酵pH、氨态氮($\text{NH}_3\text{-N}$)浓度、原虫数量和乙酸/丙酸($P<0.05$),显著提高了菌体蛋白(BCP)浓度、总挥发性脂肪酸(TVFA)浓度和MFAEI($P<0.05$),且添加剂量为3.5%时可较好地促进瘤胃发酵功能。由此可见,添加诺丽果原粉可促进绒山羊的体外瘤胃发酵功能,并能降低原虫数量,且均在剂添加量为3.5%时效果较好。

关键词: 诺丽果原粉;绒山羊;体外瘤胃发酵;产气量;多项组合效应值

中图分类号:S827

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2021)02-0869-08

内蒙古绒山羊作为世界著名的绒肉兼用型品种,其肉质细嫩、膻味小且营养价值高。但由于天然草场的营养物质季节性不平衡以及我国禁牧力度的不断加强,绒山羊的养殖逐渐由放牧转变为舍饲和半舍饲养殖。然而,集约化养殖易使绒山羊产生氧化应激,甚至引起营养代谢病,进而降低其生产性能。抗生素在解决上述问题时也带来了食品安全隐患,且饲料中的全面禁抗使得养殖产业中替抗产品的开发尤为需要。诺丽(*Morinda citrifolia* L.,药名海巴戟)在我国东南部地区种植广泛,其果实含有丰富的营养物质和生物学活性物质,主要为多酚类、糖苷类和生物碱等,具有抗菌、消炎和提高免疫力等多种功效^[1],极具开发为绿色饲料添加剂及新型替抗产品的前景。目前,国内外对于诺丽果的研究主要集中在其功能性成分的提取和分析上,以及以小鼠^[2]、鸡^[3]和犊牛^[4]为模型研究其药理作用,或是研究其工业废弃物对奶山羊体外发酵的影响^[5]。然而,将诺丽果作

为饲料添加剂应用于绒山羊等反刍动物养殖领域的研究目前还未见报道。瘤胃作为反刍动物最重要的消化器官,其功能对于营养物质和能量的获取具有重要意义。但活体试验动物数量大、试验周期长且成本高,研究工作常受到限制。而体外瘤胃发酵可在离体环境下模拟瘤胃内的消化过程,且更为省时省力。因此,本试验利用体外瘤胃发酵结合多项组合效应值(MFAEI),研究饲料中添加不同剂量的诺丽果原粉对绒山羊瘤胃发酵功能的调控作用,以期诺丽果资源在饲料领域的综合利用提供基础,也为绒山羊养殖中替抗产品的开发提供新思路。

1 材料与方法

1.1 试验原料

诺丽果风干片由海南省五指山市诺丽果基地提供,于65℃烘干,粉碎后过40目筛制成诺丽果原粉。

收稿日期:2020-07-07

基金项目:“十二五”农村领域国家科技计划课题(2012BAD12B09-3);自治区草原英才工程产业创新人才团队计划

作者简介:张清月(1993—),女,河南新乡人,博士研究生,从事反刍动物营养的研究。E-mail:alicezqy@126.com

*通信作者:闫素梅,教授,博士生导师,E-mail:yansimiau@163.com

1.2 试验动物和基础饲粮

选取 3 只体况相近、年龄为 2.5 岁的健康绒山羊羯羊(品系为内蒙古阿尔巴斯白绒山羊)作为瘤胃液供体羊。每天于 09:00 和 15:00 对供体羊进行饲喂,供体羊自由饮水,基础饲粮参照我国《肉羊饲养标准》(NY/T 816—2004)配制,基础饲粮组成及营养水平见表 1。

表 1 基础饲粮组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
谷草 Millet straw	58.96
苜蓿草 Alfalfa hay	2.96
燕麦草 Tall oat grass	8.08
玉米 Corn	14.58
大豆粕 Soybean meal	5.30
干酒糟及其可溶物 DDGS	3.30
亚麻仁饼 Linseed cake	5.30
石粉 Limestone	0.12
磷酸氢钙 CaHPO ₄	0.12
预混料 Premix ¹⁾	0.50
食盐 NaCl	0.30
小苏打 NaHCO ₃	0.48
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾	
消化能 DE/(MJ/kg)	9.95
粗蛋白质 CP	10.04
粗脂肪 EE	2.24
钙 Ca	0.63
磷 P	0.29
中性洗涤纤维 NDF	54.71
酸性洗涤纤维 ADF	30.98

1) 每千克预混料含 One kilogram of the premix contained: Fe 8 g, Cu 1.6 g, Zn 10 g, Mn 6 g, I 60 mg, Se 60 mg, Co 50 mg, VA 1 200 000 IU, VD₃ 500 000 IU, VE 2 500 IU, VK₃ 360 mg, VB₁ 7 mg, VB₂ 1 700 mg, VB₆ 180 mg, 烟酸 nicotinic acid 4 400 mg, D-泛酸 D-pantothenic acid 3 400 mg, VB₁₂ 6 mg, 生物素 biotin 28 mg, 叶酸 folic acid 300 mg。

2) 消化能为计算值,参考《肉羊饲养标准》(NY/T 816—2004),其余均为实测值。DE was a calculated value which referred to Meat Sheep Breeding Standards of China (NY/T 816—2004), while the others were measured values.

1.3 试验设计

试验采用完全随机区组设计,设 5 个诺丽果原粉添加剂量,试验饲粮分别以 0(对照组,CON 组)、1.0%(NF1 组)、2.0%(NF2 组)、3.5%(NF3 组)和 5.0%(NF4 组)的诺丽果原粉等比例替代基础饲粮中的玉米;并设 5 个培养时间点,分别为 3、6、9、12 和 24 h;每个培养时间点设 6 个重复(即每个添加剂量有 30 个发酵瓶)。其中,CON 组的发酵底物为基础饲粮,营养水平与瘤胃液供体羊基础饲粮的营养水平相同;NF1~NF4 组试验饲粮的营养水平见表 2。

1.4 体外培养方法

参考 Menke 等^[7]的方法配制缓冲液,称取 1 g 发酵底物放入高压灭菌的发酵瓶中,于 39 ℃预热。于晨饲前经口腔采集 3 只绒山羊的瘤胃液,混合后经 1 层纱布过滤至已预热达 39 ℃并通有二氧化碳(CO₂)的保温瓶中。将瘤胃液与缓冲液按 1:2 的比例混合,并分装至上述玻璃瓶中,培养体系为 60 mL,该步骤全程通 CO₂ 进行。将发酵瓶密封后于 39 ℃气浴摇床培养,转速为 120 r/min。培养时间分别为 3、6、9、12 和 24 h,到达各时间点后,迅速将相应的培养瓶取出,冰浴终止发酵,并取样测定各项指标。

1.5 测定指标与方法

粗蛋白质(CP)含量的测定参照《饲料中粗蛋白的测定 凯氏定氮法》(GB/T 6432—2018);粗脂肪(EE)含量的测定参照《饲料中粗脂肪的测定》(GB/T 6433—2006);钙含量的测定参照《饲料中钙的测定》(GB/T 6436—2018),采用高锰酸钾法;磷含量的测定参照《饲料中总磷的测定 分光光度法》(GB/T 6437—2018);中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量的测定参考 Van Soest 等^[8]的方法,采用 ANKOM 纤维分析仪;pH 用 CT-6022 型手持便携式 pH 计测定;氨态氮(NH₃-N)浓度的测定采用比色法^[9];菌体蛋白(BCP)浓度的测定采用考马斯亮兰法^[10];原虫数量的测定参考冯仰廉^[11]的方法;挥发性脂肪酸(VFA)浓度的测定采用气相色谱法^[12],以二乙基丁酸为内标,并计算总挥发性脂肪酸(TVFA)浓度;产气量采用 ANKOM RFS 体外产气系统进行测定;参考卢德勋^[13]的计算方法,对单项组合效应值(SFAEI)及 MFAEI 进行计算,MFAEI 是不同组合(处理)的各指标 SFAEI 之和,SFAEI 的计算公式如下式:

$$SFAEI = \frac{\sum_{m=1}^n (A_{2m} - A_{1m}) / n}{A_{2m}}。$$

式中: m 为各培养时间点 ($m=1,2,3,4,5$); n 为培养时间点的个数 ($n=5$); A_{1m} 为组合前(对照

组)各单一指标不同培养时间点的数值; A_{2m} 为组合后(试验组)各单一指标不同培养时间点的数值。

表 2 NF1~NF4 组试验饲粮的营养水平(风干基础)

Table 2 Nutrient levels of experimental diets in NF1 to NF4 groups (air-dry basis) %

项目 Items	组别 Groups			
	NF1	NF2	NF3	NF4
消化能 DE/(MJ/kg)	9.97	9.98	10.00	10.02
粗蛋白质 CP	10.02	10.00	9.97	9.94
粗脂肪 EE	2.25	2.25	2.26	2.27
钙 Ca	0.63	0.64	0.65	0.66
磷 P	0.29	0.29	0.29	0.29
中性洗涤纤维 NDF	54.97	55.24	55.64	56.03
酸性洗涤纤维 ADF	31.25	31.51	31.90	32.30

消化能为计算值,参考《肉羊饲养标准》(NY/T 816—2004)和杨焱等^[6],其余均为实测值。
DE was a calculated value which referred to *Meat Sheep Breeding Standards of China* (NY/T 816—2004) and Yang et al^[6], while the others were measured values.

1.6 统计分析

使用 SAS 8.1 对数据进行统计分析,采用 MIXED 模型进行方差分析和回归分析,混合模型包括诺丽果原粉的添加剂量、培养时间、添加剂量×培养时间的交互作用以及发酵瓶的随机效应。 $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 诺丽果原粉对体外瘤胃发酵 pH、NH₃-N 浓度、BCP 浓度、原虫数量和产气量的影响

由表 3 可知,添加不同剂量的诺丽果原粉均显著降低了体外瘤胃发酵 pH、NH₃-N 浓度和原虫数量 ($P<0.05$);NF3 组 NH₃-N 浓度最低,显著低于其他各组 ($P<0.05$);NF3 组原虫数量也最低,显著低于 NF1 组 ($P<0.05$)。随诺丽果原粉添加剂量的增加,NH₃-N 浓度和原虫数量均呈显著的一次线性和二次曲线下降 ($P<0.05$),而 pH 也呈显著的一次线性和二次曲线下降 ($P<0.05$)。添加不同剂量的诺丽果原粉显著提高了 BCP 浓度 ($P<0.05$);其中,NF3 和 NF4 组 BCP 浓度显著高于 NF1 组 ($P<0.05$);NF3 组 BCP 浓度最高,显著高于 NF2 组 ($P<0.05$)。NF3 和 NF4 组产气量显著高于 CON 组 ($P<0.05$),且以 NF3 组最高。随诺丽果原粉添加剂量的增加,BCP 浓度和产气量均呈显著的一次线性升高 ($P<0.05$)。发酵时间对

pH、NH₃-N 浓度、BCP 浓度、原虫数量和产气量均有显著影响 ($P<0.05$)。随着培养时间的延长,pH 呈下降趋势;产气量呈上升趋势;NH₃-N 浓度、BCP 浓度和原虫数量则呈先升高再下降的趋势,并在培养 12 h 达最高值。添加剂量与培养时间的交互作用对原虫数量有显著影响 ($P<0.05$),培养 3 和 6 h 时各组原虫数量较少,培养 12 h 时 CON 组的原虫数量最多。

2.2 诺丽果原粉对瘤胃体外发酵 VFA 浓度的影响

由表 4 可知,NF2 和 NF3 组乙酸浓度显著高于 CON 组 ($P<0.05$),且以 NF3 组最高,显著高于 NF1 和 NF4 组 ($P<0.05$);NF1~NF4 组丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸和 TVFA 浓度显著高于 CON 组 ($P<0.05$),乙酸/丙酸显著低于 CON 组 ($P<0.05$)。NF3 组丁酸、戊酸和 TVFA 浓度最高,其中,NF3 组丁酸和 TVFA 浓度显著高于其他组 ($P<0.05$),而戊酸浓度显著高于 NF1 组 ($P<0.05$);NF2~NF4 组异戊酸浓度显著高于 CON 组 ($P<0.05$)。随着诺丽果原粉剂量的增加,乙酸和异丁酸浓度呈显著的二次曲线升高 ($P<0.05$),乙酸/丙酸呈显著的二次曲线下降 ($P<0.05$);戊酸和异戊酸浓度呈显著的一次线性升高 ($P<0.05$),而丙酸、丁酸和 TVFA 浓度呈显著的一次线性和二次曲线升高 ($P<0.05$)。发酵时间对乙酸、丙酸、丁酸、异

丁酸、戊酸、异戊酸、TVFA 浓度和乙酸/丙酸有显著影响 ($P<0.05$)。随培养时间的延长,除乙酸/丙酸呈先下降、再趋于平缓、之后再下降的趋势;其他指标均呈上升趋势。添加剂量与培养时间的交互作用对 TVFA 浓度有显著影响 ($P<0.05$),培养 24 h 时 NF3 组的 TVFA 浓度最高,培养 3 h 时各组的 TVFA 浓度较低。

表 3 诺丽果原粉对体外瘤胃发酵 pH、NH₃-N 浓度、BCP 浓度、原虫数量和产气量的影响
Table 3 Effects of noni fruit raw powder on pH, NH₃-N concentration, BCP concentration, protozoa number and gas production of rumen fermentation *in vitro*

项目 Items	pH	氨态氮 NH ₃ -N/ (mg/dL)	菌体蛋白 BCP/ (mg/dL)	原虫 Protozoa/ (10 ⁴ 个/mL)	产气量 Gas production/ mL
组别 Groups					
CON	6.63 ^a	9.94 ^a	22.88 ^d	6.95 ^a	56.12 ^b
NF1	6.58 ^b	9.30 ^b	26.67 ^c	4.90 ^b	58.94 ^{ab}
NF2	6.56 ^b	9.21 ^b	27.37 ^{bc}	4.50 ^{bc}	60.49 ^{ab}
NF3	6.55 ^b	8.83 ^c	30.08 ^a	3.92 ^c	63.49 ^a
NF4	6.56 ^b	9.20 ^b	29.71 ^{ab}	4.37 ^{bc}	61.41 ^a
培养时间 Culture time/h					
3	6.78 ^a	9.44 ^b	11.11 ^c	0.34 ^e	22.63 ^e
6	6.79 ^a	7.94 ^c	17.83 ^d	1.17 ^d	43.39 ^d
9	6.57 ^b	5.74 ^a	20.70 ^c	7.10 ^b	63.40 ^c
12	6.51 ^c	13.92 ^a	47.91 ^a	11.45 ^a	75.91 ^b
24	6.22 ^d	9.42 ^b	39.16 ^b	4.57 ^c	95.13 ^a
均值标准误 SEM	0.016	0.100	0.895	0.275	1.159
P 值 P-value					
添加剂量 Addition dose	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
线性 Linear	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
二次 Quadratic	0.005	<0.001	0.014	<0.001	0.015
培养时间 Culture time	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
添加剂量×培养时间 Addition dose×culture time	0.624	0.709	0.620	<0.001	0.584

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 ($P>0.05$)。表 4 同。
In the same column, 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 Table 4.

表 4 诺丽果原粉对瘤胃体外发酵 VFA 浓度的影响
Table 4 Effects of noni fruit raw powder on VFA concentrations of rumen fermentation *in vitro*

项目 Items	乙酸 Acetic acid/ (mmol/L)	丙酸 Propionic acid/ (mmol/L)	丁酸 Butyric acid/ (mmol/L)	异丁酸 Isobutyric acid/ (mmol/L)	戊酸 Valeric acid/ (mmol/L)	异戊酸 Isovaleric acid/ (mmol/L)	总挥发性 脂肪酸 TVFA/ (mmol/L)	乙酸/丙酸 Acetic acid/ propionic acid
组别 Groups								
CON	24.45 ^c	9.01 ^b	2.71 ^c	0.325 ^b	0.302 ^c	0.373 ^b	36.37 ^c	2.80 ^a
NF1	24.95 ^{bc}	9.49 ^a	2.87 ^b	0.338 ^a	0.314 ^b	0.382 ^{ab}	38.52 ^b	2.67 ^b
NF2	25.23 ^{ab}	9.66 ^a	2.88 ^b	0.342 ^a	0.321 ^{ab}	0.388 ^a	38.86 ^b	2.60 ^b
NF3	25.87 ^a	9.79 ^a	2.98 ^a	0.343 ^a	0.326 ^a	0.391 ^a	40.15 ^a	2.63 ^b
NF4	25.03 ^{cd}	9.60 ^a	2.89 ^b	0.337 ^a	0.321 ^{ab}	0.387 ^a	38.63 ^b	2.66 ^b

续表 4

项目 Items	乙酸 Acetic acid/ (mmol/L)	丙酸 Propionic acid/ (mmol/L)	丁酸 Butyric acid/ (mmol/L)	异丁酸 Isobutyric acid/ (mmol/L)	戊酸 Valeric acid/ (mmol/L)	异戊酸 Isovaleric acid/ (mmol/L)	总挥发性 脂肪酸 TVFA/ (mmol/L)	乙酸/丙酸 Acetic acid/ propionic acid
培养时间 Culture time/h								
3	16.19 ^e	5.61 ^d	1.01 ^c	0.157 ^d	0.146 ^d	0.120 ^c	23.23 ^c	2.92 ^a
6	21.76 ^d	8.08 ^c	2.24 ^d	0.164 ^d	0.168 ^c	0.134 ^d	32.57 ^d	2.68 ^b
9	27.29 ^c	10.30 ^b	3.28 ^c	0.316 ^c	0.326 ^b	0.293 ^c	41.16 ^c	2.62 ^b
12	28.66 ^b	10.59 ^b	3.39 ^b	0.473 ^b	0.441 ^a	0.566 ^b	43.96 ^b	2.67 ^b
24	31.65 ^a	12.97 ^a	4.41 ^a	0.575 ^a	0.503 ^a	0.809 ^a	51.61 ^a	2.47 ^c
均值标准误 SEM	0.295	0.119	0.024	0.004	0.003	0.004	0.280	0.034
P 值 P-value								
添加剂量 Addition dose	0.028	<0.001	<0.001	0.038	<0.001	0.019	<0.001	0.001
线性 Linear	0.041	0.001	<0.001	0.066	<0.001	0.008	<0.001	0.009
二次 Quadratic	0.013	0.001	<0.001	0.007	0.001	0.018	<0.001	0.001
培养时间 Culture time	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
添加剂量×培养时间 Addition dose×culture time	0.856	1.000	0.662	0.766	0.563	0.278	0.002	0.110

2.3 诺丽果原粉对瘤胃体外发酵 MFAEI 的影响

由表 5 可知,添加诺丽果原粉后,BCP 浓度、TVFA 浓度和产气量的 SFAEI 均显著升高 ($P<0.05$);且 NF3 和 NF4 组 BCP 浓度的 SFAEI 显著高于 NF1 和 NF2 组 ($P<0.05$);而 TVFA 浓度和产气量的 SFAEI 均以 NF3 组最高,且 NF3 组 TVFA 浓度的 SFAEI 显著高于其他各组 ($P<0.05$),而产气量的 SFAEI 显著高于 NF1 和 NF2 组 ($P<0.05$)。

BCP 浓度、TVFA 浓度和产气量的 SFAEI 均随诺丽果原粉添加剂量的增加呈显著的线性和二次曲线升高 ($P<0.05$)。并且,NF1~NF4 组的 MFAEI 显著升高;以 NF3 组最高,显著高于其他各组 ($P<0.05$);以 NF4 组次高,显著高于 NF1 和 NF2 组 ($P<0.05$)。MFAEI 随诺丽果原粉添加剂量的增加呈显著的一次线性和二次曲线升高 ($P<0.05$)。

表 5 诺丽果原粉对瘤胃体外发酵 MFAEI 的影响
Table 5 Effects of noni fruit raw powder on MFAEI of rumen fermentation *in vitro*

项目 Items	组别 Groups					均值 标准误 SEM	P 值 P-value		
	CON	NF1	NF2	NF3	NF4		处理 Treatment	线性 Linear	二次 Quadratic
单项组合效应值 SFAEI									
菌体蛋白浓度 BCP concentration	0.015 ^a	0.156 ^b	0.164 ^b	0.239 ^c	0.229 ^c	0.012	<0.001	<0.001	<0.001
总挥发性脂肪酸 TVFA concentration	0.005 ^a	0.056 ^b	0.064 ^b	0.094 ^c	0.058 ^b	0.006	<0.001	<0.001	<0.001
产气量 Gas production	0.013 ^a	0.068 ^b	0.088 ^b	0.127 ^c	0.098 ^{bc}	0.011	<0.001	<0.001	<0.001
多项组合效应值 MFAEI	0.033 ^a	0.282 ^b	0.316 ^b	0.460 ^d	0.385 ^c	0.017	<0.001	<0.001	<0.001

同行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 ($P>0.05$)。
In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$)。

3 讨 论

瘤胃液中的 BCP 浓度是综合评价蛋白质利用

效率及微生物种群数量的重要指标,而 $\text{NH}_3\text{-N}$ 是合成 BCP 的主要氮源。因而在一定范围内 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度的降低和 BCP 浓度的升高暗示着瘤胃内蛋白

质合成效率的提高。所以,原虫的存在增加了氮在瘤胃内的周转和消耗,去原虫更有利于提高反刍动物的氮利用效率^[14]。合成优质 BCP 也需要适宜的 pH 维持瘤胃发酵稳态, pH 在 6.0~7.0 之间利于 BCP 的合成^[15]。在本试验中,添加诺丽果原粉后 pH 虽下降,但仍在 BCP 合成的适宜范围内;而 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度和原虫数量的下降以及 BCP 浓度的增加,则表明添加诺丽果原粉可以促进体外瘤胃发酵的氮降解并提高机体对氮的利用效率。关于本试验中诺丽果原粉的降原虫数量功能,有研究表明每 100 g 成熟诺丽果中的皂苷含量约为 236.0 mg^[16],且皂苷类物质可通过破坏原虫细胞膜杀死原虫^[17],因而诺丽果原粉的降原虫作用可能与其含有皂苷类物质有关。

产气量是间接评定饲料样品营养价值及其在瘤胃内发酵状况的指标^[18];而 VFA 是反刍动物的主要能量来源,也是瘤胃微生物重要的碳架来源,其浓度与组成是反映瘤胃消化及其代谢能力的重要指标^[19]。本试验中,产气量和 VFA 浓度显著升高,说明添加诺丽果原粉可显著促进饲料样品体外瘤胃发酵及其营养物质代谢;而乙酸/丙酸显著下降,则说明诺丽果原粉可优化 VFA 组成,提高能量利用效率,为 BCP 合成提供充足碳源。分析本试验中 pH 降低的原因,可能与诺丽果原粉中有机酸含量较高^[20]或培养液中 VFA 浓度增加有关;也可能是因为培养液中原虫数量的减少,致使原虫因储存淀粉而稳定 pH 的作用减弱^[21],进而导致体外发酵 pH 的下降。诺丽果促进瘤胃发酵的机理尚不清楚,这可能与诺丽果中含有多糖、酚类等活性物质有关^[22]。目前尚未见这方面的研究报道,但关于其他多糖的体内外研究表明,黄芪多糖^[23]、苦瓜多糖^[24]、香菇多糖或木聚糖^[25]等均可促进瘤胃发酵。因而,可能是诺丽果多糖调控了瘤胃微生物多样性及其代谢产物,进而影响了瘤胃发酵,需要进一步研究探讨。

MFAEI 可反映饲料间的整体互作,其数值越大,对应的饲料组合越有利于瘤胃发酵以及营养组分的利用。因此,可利用 MFAEI 判断饲料的适宜配比。本试验的各指标回归分析结果表明,随诺丽果原粉添加剂量的增加, pH、BCP 浓度、产气量和异戊酸浓度呈显著的一次线性变化趋势,其他指标呈显著的二次曲线剂量依赖效应,且极值均出现在 NF3 组。虽然 MFAEI 的一次线性和二

次曲线升高趋势均显著,但以 NF3 组最高, NF4 组次高,且二者差异显著。这说明诺丽果原粉的添加剂量为 3.5% 时,促进瘤胃发酵的效果较好,而当添加剂量增至 5.0% 时,促进瘤胃发酵的效果减弱。MFAEI 对诺丽果添加剂量的二次曲线响应是可以预见的,因为高剂量的诺丽果所具有的抗菌性更强,因而可能会使其促瘤胃发酵作用减弱。类似的,无籽诺丽果渣在体外发酵中促 TVFA 生成的作用与其添加剂量呈显著的二次曲线升高趋势,最佳添加剂量为 10%~15%,而添加 20%~25% 时 TVFA 浓度与对照组无显著差异^[5]。饲料中添加沙棘果渣可促进体外瘤胃发酵,但添加 24% 时的 TVFA 浓度显著低于添加 16% 时^[26]。目前,关于诺丽果促进瘤胃发酵的机理尚不清楚,今后需进一步从其多糖、酚类物质等方面,研究诺丽果促瘤胃发酵的增效物质,并结合微生物多样性等多组学联合分析技术深入探究诺丽果促瘤胃发酵的机理。

4 结 论

饲料中添加诺丽果原粉可促进阿尔巴斯白绒山羊的体外瘤胃发酵功能,并降低原虫数量,且均在添加剂量为 3.5% 时效果较好。

参考文献:

- [1] 晏永球,童应鹏,陆雨,等.诺丽的化学成分及药理活性研究进展[J].中草药,2017,48(9):1888-1905.
YAN Y Q, TONG Y P, LU Y, et al. Research progress on chemical constituents of *Morinda citrifolia* and their pharmacological activities[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2017, 48(9): 1888-1905. (in Chinese)
- [2] JIN M Y, WANG Y X, YANG X B, et al. Structure characterization of a polysaccharide extracted from noni (*Morinda citrifolia* L.) and its protective effect against DSS-induced bowel disease in mice[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 90: 189-197.
- [3] FLEES J, RAJAEI-SHARIFABADI H, GREENE E, et al. Effect of *Morinda citrifolia* (noni)-enriched diet on hepatic heat shock protein and lipid metabolism-related genes in heat stressed broiler chickens[J]. Frontiers in Physiology, 2017, 8: 919.
- [4] ANANTHARAJ A, JEYAKUMAR S, SATHYA M M, et al. Biochemical and antioxidant effects in cross-bred calves fed with *Morinda citrifolia*[J]. Journal of Applied Animal Research, 2017, 45(1): 252-255.

- [5] EVVYERNIE D, HANDAYANI M, PERMANA I G, et al. *In vitro* fermentability and digestibility of seedless noni waste (*Morinda citrifolia* L.) as a concentrate substitute in lactating dairy goat diet [J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2019, 230: 012028.
- [6] 杨焱, 杨朴丽, 徐荣, 等. 不同诺丽种质外观性状与营养成分的分析及评价 [J]. 热带作物学报, 2017, 38 (1): 53-58.
- YANG Y, YANG P L, XU R, et al. The analysis and evaluation of appearance character and nutritive content in different *morinda citrifolia* L. germplasms [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2017, 38 (1): 53-58. (in Chinese)
- [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] 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.
- [9] 冯宗慈, 高民. 通过比色测定瘤胃液氨氮含量方法的改进 [J]. 内蒙古畜牧科学, 1993 (4): 40-41.
- FENG Z C, GAO M. Improvement of the method of measuring ammonia nitrogen content in rumen liquid by colorimetry [J]. Inner Mongolian Journal of Animal Sciences and Production, 1993 (4): 40-41. (in Chinese)
- [10] 宋晓伟, 康健, 林滢. 改良的考马斯亮兰 G-250 染色法简便快速测定微量蛋白浓度 [J]. 洛阳医专学报, 1997, 16 (3): 150-152.
- SONG X W, KANG J, LIN Y. A simple and rapid method for the quantitation of microgram concentrations of protein utilizing the principle of Commas' dye binding to protein [J]. Journal of Luoyang Medical College, 1997, 16 (3): 150-152. (in Chinese)
- [11] 冯仰廉. 反刍动物营养学 [M]. 北京: 北京科技出版社, 2004.
- FENG Y L. Ruminant nutrition [M]. Beijing: Beijing Science and Technology Press, 2004. (in Chinese)
- [12] 李敏. 瘤胃纤维素降解细菌和真菌的互作对纤维物质降解的影响 [D]. 硕士学位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2015.
- LI M. Interaction of the ruminal cellulose-degrading bacteria and fungi with fiber degradation [D]. Master's Thesis. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2015. (in Chinese)
- [13] 卢德勋. 系统动物营养学导论 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- LU D X. Introduction to system animal nutrition [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2004. (in Chinese)
- [14] 经语佳, 高健, 王梦芝, 等. 体外培养条件下不同长链脂肪酸对山羊瘤胃原虫群体结构和原虫吞噬细菌循环的影响 [J]. 动物营养学报, 2017, 29 (8): 2707-2715.
- JING Y J, GAO J, WANG M Z, et al. Effects of different long-chain fatty acids on protozoal community structure and bacterial recycling due to protozoa engulfment of goat rumen *in vitro* [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2017, 29 (8): 2707-2715. (in Chinese)
- [15] BUSQUET M, CALSAMIGLIA S, FERRET A, et al. Screening for effects of plant extracts and active compounds of plants on dairy cattle rumen microbial fermentation in a continuous culture system [J]. Animal Feed Science and Technology, 2005, 124: 597-613.
- [16] SINGH D R, SINGH S. Phytochemicals in plant parts of noni (*Morinda citrifolia* L.) with special reference to fatty acid profiles of seeds [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 2013, 83 (3): 471-478.
- [17] WALLACE R J, MCEWAN N R, MCINTOSH F M, et al. Natural products as manipulators of rumen fermentation [J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2002, 15 (10): 1458-1468.
- [18] 李喜艳, 王加启, 魏宏阳, 等. 瘤胃发酵体外模拟方法及其应用 [J]. 中国饲料, 2009 (21): 4-7.
- LI X Y, WANG J Q, WEI H Y, et al. Application of rumen fermentation simulation technique *in vitro* [J]. China Feed, 2009 (21): 4-7. (in Chinese)
- [19] CONE J W, BECKER P M. Fermentation kinetics and production of volatile fatty acids and microbial protein by starchy feedstuffs [J]. Animal Feed Science and Technology, 2012, 172 (1/2): 34-41.
- [20] 沈宋利, 林智威, 陈梅兰. 离子色谱法测定诺丽果粉中常见有机酸和阴离子含量 [J]. 食品工业科技, 2017, 38 (3): 305-308, 313.
- SHEN S L, LIN Z W, CHEN M L. Determination of organic acid and anion in noni powder by ion chromatography [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38 (3): 305-308, 313. (in Chinese)
- [21] 彭宏刚, 陈翔宇, 刘艳丰, 等. 瘤胃原虫在瘤胃内建立及其研究进展 [J]. 草食家畜, 2017 (5): 9-13.
- PENG H G, CHEN X Y, LIU Y F, et al. Research progress of rumen protozoan colonization [J]. Grass-Feeding Livestock, 2017 (5): 9-13. (in Chinese)
- [22] ALMEIDA É S, DE OLIVEIRA D, HOTZA D. Properties and applications of *Morinda citrifolia* (noni): a review [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2019, 18 (4): 883-909.
- [23] ZHONG R Z, YU M, LIU H W, et al. Effects of dietary

- ry *Astragalus* polysaccharide and *Astragalus membranaceus* root supplementation on growth performance, rumen fermentation, immune responses, and antioxidant status of lambs [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2012, 174(1/2) : 60–67.
- [24] KANG J H, ZENG B, TANG S X, et al. Effects of *Momordica charantia* polysaccharide on *in vitro* ruminal fermentation and cellulolytic bacteria [J]. *Italian Journal of Animal Science*, 2017, 16(2) : 226–233.
- [25] LI Z J, BAI H X, ZHENG L X, et al. Bioactive polysaccharides and oligosaccharides as possible feed additives to manipulate rumen fermentation in Rusitec fermenters[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 109 : 1088–1094.
- [26] 刁小高, 郝小燕, 赵俊星, 等. 饲料中添加沙棘果渣对体外瘤胃发酵参数和营养物质有效降解率的影响 [J]. *动物营养学报*, 2019, 31(5) : 2423–2430.
- DIAO X G, HAO X Y, ZHAO J X, et al. Effects of dietary sea buckthorn pomace on rumen fermentation parameters *in vitro* and effective degradability of nutrients[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(5) : 2423–2430. (in Chinese)

Effects of Noni Fruit Raw Powder on *in Vitro* Rumen Fermentation Function of Cashmere Goats

ZHANG Qingyue LIANG Xiaoshuai LI Yinhao MA Guoqiang
GUO Xiaoyu ZHAO Yanli YAN Sumei*

(Inner Mongolia Autonomous Region Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science, Collage of Animal Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: The objective of this study was to evaluate the effect of different levels of noni fruit raw powder (*Morinda citrifolia* L.) on *in vitro* rumen fermentation function of cashmere goats through *in vitro* batch culture method and by determining the parameters of rumen fermentation in different culture time combined with multiple forages associative effect indicator (MFAEI). The results of this study could provide theoretical support for the development of new alternative antibiotic products in the production of cashmere goats and the rational utilization of noni fruit resources. The 2-year-old Inner Mongolia Albas white cashmere goats was used as rumen fluid donor animals. Five doses of noni fruit raw powder (0, 1.0%, 2.0%, 3.5% and 5.0%) was added in the substrate cultured for 3, 6, 9, 12 and 24 h with randomized complete block design. The results showed that different addition doses of noni fruit raw powder significantly decreased the pH, ammonia nitrogen (NH₃-N) concentration, protozoa number and acetate acid/propionic acid of rumen fermentation *in vitro* ($P<0.05$), and significantly increased the bacterial protein (BCP) concentration, total volatile fatty acid (TVFA) concentration and MFAEI ($P<0.05$), and the addition dose of 3.5% could better promote rumen fermentation function. It is concluded that the addition of noni fruit raw powder can promote the *in vitro* rumen fermentation of cashmere goats, decrease the protozoa number, and the above effects are better when the addition dose is 3.5%. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(2) : 869-876]

Key words: noni fruit raw powder; cashmere goats; *in vitro* rumen fermentation; gas production; multiple forages associative effect indicator

* Corresponding author, professor, E-mail: yansmimau@163.com