

富铜酵母对西门塔尔牛瘤胃发酵及尿嘌呤衍生物的影响

刘 强 王 聰 董宽虎 张延利 高文俊

(山西农业大学动物科技学院, 太谷 030801)

摘要: 本文旨在研究富铜酵母对瘤胃发酵和尿嘌呤衍生物浓度的影响。选用 4 头体重(420 ± 15.2) kg、年龄 2.5 岁、装有永久性瘤胃瘘管的中国西门塔尔牛阉牛, 采用 4×4 拉丁方设计, 对照组饲喂基础日粮, 处理 1、2、3 组分别在基础日粮干物质基础上添加富铜酵母(含铜 10%) 80、160 和 240 mg/kg。结果表明: 瘤胃 pH 和挥发性脂肪酸(VFA) 无显著差异($P > 0.05$); 160 和 240 mg/kg 组氨态氮(NH₃-N) 浓度显著低于对照组和 80 mg/kg 组($P < 0.05$)。玉米秸秆和豆粕的干物质(DM) 以及有机物(OM) 有效降解率无显著差异, 240 mg/kg 组玉米秸秆中性洗涤纤维(NDF) 和酸性洗涤纤维(ADF) 有效降解率显著降低($P < 0.05$), 160 和 240 mg/kg 组豆粕粗蛋白质(CP) 有效降解率显著降低($P < 0.05$)。尿酸含量无显著变化, 80 和 160 mg/kg 组尿囊素和尿嘌呤衍生物含量显著高于对照组和 240 mg/kg 组($P < 0.05$)。在本试验条件下, 富铜酵母添加量在每千克干物质 80~160 mg 时效果较好; 考虑在不同生产条件下, 基础日粮中的铜水平有所不同, 建议在以富铜酵母为日粮铜源时, 日粮铜水平不可超过每千克干物质 13.87 mg。

关键词: 西门塔尔牛阉牛; 富铜酵母; 瘤胃发酵; 尿嘌呤衍生物

铜是牛体内铜蓝蛋白、超氧化物歧化酶等多种酶的成分和激活剂, 参与血红蛋白的形成、骨骼的构成及被毛色素的沉着等。铜不足或过量均会引起体内代谢紊乱, 造成生产性能降低^[1-2]。目前在牛饲料中添加的铜源主要是硫酸铜, 在瘤胃内溶解为铜离子和硫酸根, 铜离子与饲料中的硫酸盐或含硫氨基酸经过瘤胃微生物作用转化产生的硫离子及饲料中钼形成的钼离子相互作用形成氧硫钼酸铜或硫代钼酸铜, 铜的利用率低下, 粪铜排泄多, 对环境造成污染^[3]。而富铜酵母等有机铜可避免与钼、硫互作形成难溶解的盐, 排除铜离子对瘤胃微生物抑制作用, 提高铜的生物学利用率, 减少对环境的污染^[4]。因此研究日粮添加富铜酵母对瘤胃发酵和尿嘌呤衍生物含量的影响有着重要意义。孙会等^[5]研究了酵母富集微量元素铜的条件及条件因素对富集的影响, 尚若峰等^[6]研究了富铜酵母的制作条件。到目前为止, 铜的研究多集中在硫酸铜与螯合铜对生产性能、瘤胃发酵等方面的研究^[7-8], 关于富铜酵母对瘤胃发酵和尿嘌呤衍生物的影响未见报道。本试验以劣质粗饲料玉米秸秆和混合精料为日粮, 研究富铜酵母

对西门塔尔牛瘤胃发酵和尿嘌呤衍生物的影响, 探讨反刍家畜日粮中富铜酵母的适宜添加量。

1 材料与方法

1.1 试验动物和试验设计

试验选用 4 头年龄 2.5 岁、体况良好、体重(420 ± 15.2) kg、装有永久性瘤胃瘘管的中国西门塔尔牛阉牛, 采用 4×4 拉丁方设计, 对照组饲喂基础日粮, 处理 1、2、3 组分别在基础日粮干物质基础上添加富铜酵母 80、160 和 240 mg/kg。富铜酵母为课题组采用生物发酵技术自行研制, 含铜 10%, 含有机铜 8%。试验分 4 个阶段, 每个阶段预试期 10 d, 正试期 10 d。

1.2 试验日粮及饲养管理

饲粮的精粗比为 40:60, 以风干玉米秸秆为粗料, 基础日粮组成和营养成分见表 1。试验牛单槽饲养, 每日 07:00、15:00 和 23:00 饲喂, 自由饮水。添加富铜酵母时, 将其与精料混合均匀饲喂。

表1 基础日粮组成和营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of diets
(air-dry basis, %)

| 项目 Items | 含量 Content |
|---|------------|
| 日粮组成 Ingredient | |
| 玉米秸秆 Corn straw | 60.00 |
| 玉米 Corn | 20.80 |
| 麸皮 Wheat bran | 4.00 |
| 豆粕 Soybean meal | 6.60 |
| 棉粕 Cottonseed meal | 4.80 |
| 菜粕 Rapeseed meal | 2.00 |
| 石粉 Limestone | 0.50 |
| 食盐 NaCl | 0.40 |
| 磷酸氢钙 CaHPO ₄ | 0.35 |
| 预混料 Premix ¹⁾ | 0.55 |
| 合计 Total | 100.00 |
| 营养水平 Nutrient levels | |
| 综合净能 NE _{mf} (MJ/kg) ²⁾ | 6.54 |
| 粗蛋白质 CP | 10.74 |
| 中性洗涤纤维 NDF | 56.51 |
| 酸性洗涤纤维 ADF | 35.59 |
| 钙 Ca | 0.75 |
| 磷 P | 0.52 |
| 铜 Cu (mg/kg) | 5.87 |

¹⁾ 每千克预混料中含有 Provided per kilogram of premix: VA 150 000 IU; VD₃ 60 000 IU; VE 750 IU; Fe 1 500 mg; Zn 1 500 mg; Mn 2 000 mg; I 12.5 mg; Se 15 mg; Co 5 mg。

²⁾ 综合净能根据原料组成计算所得,其余为实测值。NE_{mf} is calculated value. Other nutrient levels are measured values.

1.3 样品采集与分析

1.3.1 瘤胃液的采集与分析

每阶段正试期的第9天、第10天,分别在饲喂前(0 h),饲喂后3、6、9 h采集瘤胃液,每次采集200 mL,用4层纱布过滤,立即测定pH,然后在-40℃冷冻保存;氨态氮(NH₃-N)采用氧化镁直接蒸馏法测定^[9];挥发性脂肪酸(VFA)采用GC102AF气相色谱仪测定。

1.3.2 瘤胃降解率测定

用瘤胃尼龙袋法分别测定玉米秸秆干物质(DM)、有机物质(OM)、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)和豆粕的DM、OM、CP的瘤胃降解率^[10]。准确称取3.0~4.0 g样品,装入孔径为35 mm的尼龙布制作的长×宽为14 cm×9 cm的

尼龙袋中,扎紧袋口,于晨饲前2 h投入瘤胃腹囊50 cm处,分别于4、8、12、24、36、48和72 h取出2袋(豆粕48 h结束),立即用水冲洗至水液完全澄清为止,在65℃烘至恒重,测定DM、OM、NDF、ADF和CP^[9,11]。待测饲料在瘤胃中不同时间DM、OM、NDF、ADF和CP消失率的计算公式如下:

$$A(\%) = (B - C) / B \times 100$$

式中:A为待测饲料的养分瘤胃消失率(%),B为待测饲料降解前养分含量(g),C为待测饲料降解后养分含量(g)。应用Frskov等^[12]提出的数学指数模型 $dp = a - b(1 - e^{-ct})$ 来确定降解常数(a, b 和 c),待测饲料养分的有效降解率(Effective Degradability)由公式: $P = a + [bc/(c+k)]$ 计算得出,公式中:a为快速降解部分,b为慢速降解部分,c为b的降解速率,k为待测饲料的瘤胃流通速度。

1.3.3 瘤胃流通速度的测定

取重铬酸钠172 g溶于温水中,倒入1 000 g玉米秸或豆粕中,不断搅拌至棕黄色粥状,将该饲料转移到带盖搪瓷盘中,盖上盖,置于100℃烘箱中烘24 h取出,取出后放入底部有细筛网(200目)的桶中,冲洗至水清。将饲料悬于清水中,用VC将其pH调至4.0,搅拌后静置12 h,使pH达到4.0,最后放在65℃烘箱中24 h制备成铬标记饲料。在晨饲时与粗料一起饲喂,每头牛300 g,在饲喂后4、8、12、16、20、24、28、32、36、40、44、48、54、60、72、84、96、108和120 h直肠取粪,粪样65℃下烘干,粉碎通过1 mm筛,用比色法测其中铬含量^[10]。将粪样中铬浓度最大的时刻作为零时刻(C_0),不同时刻(t)的铬浓度为 C_t ,按公式 $C_t = C_0 e^{-kt}$ 进行最小二乘数据拟和,求出k值。玉米秸k值实测为0.025/h,豆粕为0.058/h。

1.3.4 尿样采集与尿中嘌呤衍生物测定

于试验最后5 d收集并记录每天的尿量,按总尿量的1%采集尿样,收集到装有10% H₂SO₄的800 mL磨口玻璃瓶中,使尿的pH小于3,混匀5 d采集的尿样,移取20 mL并稀释至100 mL制成次级尿样,装入塑料瓶内-40℃贮存,采用比色法测定尿酸和尿囊素含量^[13]。

1.4 数据处理及统计分析

瘤胃液pH、NH₃-N、VFA、营养物质有效降解率和尿嘌呤衍生物等数据应用SPSS 10.0统计分析软件的One-way-ANOVA进行方差分析及LSD多重比较。

2 结 果

2.1 富铜酵母对瘤胃液 pH、VFA 和 NH₃-N 的影响

由表 2 可见,添加富铜酵母后,瘤胃 pH 无显著变化,瘤胃乙酸、丙酸、丁酸和 TVFA 水平差异均不

显著,240 mg/kg 组乙酸/丙酸显著低于对照组和 80 mg/kg 组($P<0.05$),但与 160 mg/kg 组差异不显著;160 和 240 mg/kg 组 NH₃-N 浓度显著低于对照和 80 mg/kg 组($P<0.05$)。

表 2 富铜酵母对西门塔尔牛瘤胃液 pH、VFA、NH₃-N 浓度和乙酸/丙酸的影响

Table 2 Effects of copper-enriched yeast on ruminal pH, VFA, NH₃-N concentrations and the rate of acetate to propionate in Simmental steer

| 项目 Items | 每千克干物质中富铜酵母添加量 Supplemental copper-enriched yeast in per kilogram DM(mg) | | | |
|--------------------------------|---|------------------------|-------------------------|------------------------|
| | 0 | 80 | 160 | 240 |
| pH | 6.44±0.05 | 6.41±0.07 | 6.41±0.11 | 6.39±0.09 |
| 总酸 TVFA (mmol/L) | 70.66±4.26 | 73.87±3.52 | 73.65±6.22 | 70.18±4.45 |
| 乙酸 Acetate (mmol/L) | 49.85±3.04 | 52.03±5.97 | 51.17±6.58 | 48.25±1.95 |
| 丙酸 Propionate (mmol/L) | 15.50±0.75 | 16.12±1.41 | 16.63±1.68 | 16.38±0.91 |
| 丁酸 Butyrate (mmol/L) | 5.31±0.34 | 5.72±0.59 | 5.85±0.64 | 5.54±0.33 |
| 乙酸/丙酸 A/P | 3.22±0.13 ^a | 3.23±0.11 ^a | 3.08±0.12 ^{ab} | 2.95±0.11 ^b |
| 氨态氮 NH ₃ -N (mg/dL) | 8.81±0.77 ^a | 7.10±0.54 ^a | 6.25±0.92 ^b | 6.19±0.73 ^b |

同行肩注不同字母表示差异显著($P<0.05$)。下表同。

In the same row with different small letter superscripts are significantly different ($P<0.05$). The same as below.

2.2 富铜酵母对营养物质瘤胃有效降解率的影响

由表 3 可见,玉米秸秆 DM 和 OM 的瘤胃有效降解率差异不显著($P>0.05$)。240 mg/kg 组 NDF 和 ADF 瘤胃有效降解率显著低于对照组和 80 mg/kg 组

($P<0.05$)。豆粕 DM 和 OM 瘤胃有效降解率差异不显著($P>0.05$),160 和 240 mg/kg 组 CP 瘤胃有效降解率显著低于对照组($P<0.05$),但与 80 mg/kg 组差异不显著($P>0.05$)。

表 3 富铜酵母对西门塔尔牛玉米秸秆和豆粕营养物质瘤胃有效降解率的影响

Table 3 Effects of copper-enriched yeast on corn straw and soybean meal nutrients effective degradability

in Simmenta steer (%)

| 项目 Items | 每千克干物质中富铜酵母添加量 Supplemental copper-enriched yeast in per kilogram DM(mg) | | | |
|-----------------|---|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | 0 | 80 | 160 | 240 |
| 玉米秸秆 Corn straw | | | | |
| 干物质 DM | 48.42±0.46 | 48.73±1.25 | 46.40±2.53 | 44.99±0.77 |
| 有机物 OM | 46.53±0.51 | 48.44±1.26 | 46.10±2.57 | 45.01±0.81 |
| 中性洗涤纤维 NDF | 40.27±1.04 ^a | 38.90±1.57 ^a | 37.38±1.68 ^{ab} | 35.68±0.96 ^b |
| 酸性洗涤纤维 ADF | 38.23±0.47 ^a | 39.85±1.24 ^a | 37.67±1.55 ^{ab} | 35.63±0.99 ^b |
| 豆粕 Soybean meal | | | | |
| 干物质 DM | 63.45±1.24 | 62.33±2.25 | 62.87±1.34 | 62.32±0.74 |
| 有机物 OM | 62.58±1.32 | 61.46±2.01 | 61.67±1.15 | 61.18±0.89 |
| 粗蛋白质 CP | 60.35±1.35 ^a | 59.11±0.83 ^{ab} | 57.45±0.53 ^b | 56.76±0.66 ^b |

2.3 富铜酵母对尿嘌呤衍生物含量的影响

由表 4 可见,添加富铜酵母后,尿酸含量无显著变

化,80 和 160 mg/kg 组尿囊素和尿嘌呤衍生物含量显著高于对照组和 240 mg/kg 组($P<0.05$)。

表4 富铜酵母对西门塔尔牛尿嘌呤衍生物浓度的影响
Table 4 Effects of copper-enriched yeast on purine derivatives of urine in Simmental steer (mmol/L)

| 项目 Items | 每千克干物质中富铜酵母添加量 Supplemental copper-enriched yeast in per kilogram DM(mg) | | | |
|------------------------------------|---|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | 0 | 80 | 160 | 240 |
| 尿囊素 Allantoin | 44.12 ± 2.81 ^b | 52.58 ± 3.95 ^a | 53.96 ± 13.00 ^a | 49.44 ± 8.96 ^b |
| 尿酸 Uric acid | 5.51 ± 0.66 | 5.39 ± 0.32 | 5.45 ± 0.43 | 5.61 ± 0.69 |
| 尿嘌呤衍生物 Purine derivatives of urine | 49.63 ± 2.75 ^b | 57.97 ± 3.69 ^a | 59.41 ± 13.16 ^a | 55.05 ± 8.69 ^b |

3 讨论

瘤胃 pH 的变动范围一般为 5.5~7.5, 纤维分解菌对 pH 非常敏感, 较低的 pH 不利于纤维性物质的降解, pH 低于 6.2 时, 纤维分解菌的活动就会受到抑制^[14]。日粮添加富铜酵母后, 瘤胃 pH 均在 6.2 以上, 说明适宜纤维分解菌的活动。但 240 mg/kg 组玉米秸秆 NDF 和 ADF 有效降解率显著降低, 说明纤维分解菌的活动被抑制, 因本试验没有测定瘤胃微生物数量, 这有待进一步研究。瘤胃氨态氮浓度反映瘤胃蛋白质降解与合成之间所达到的平衡状况, 添加富铜酵母后, 160 和 240 mg/kg 组瘤胃 NH₃-N 浓度显著降低, 是由于日粮中添加的富铜酵母促进了瘤胃微生物对 NH₃-N 利用的缘故, 这与本试验豆粕粗蛋白质有效降解率降低、尿嘌呤衍生物排出量增加的结果相一致。日粮添加富铜酵母, 瘤胃 VFA 无显著变化, 这与瘤胃 pH 变化一致; 但乙酸/丙酸比例逐渐下降, 240 mg/kg 组显著降低, 瘤胃发酵类型发生变化, 由乙酸发酵类型转向丙酸发酵^[15]。

本试验中 240 mg/kg 组玉米秸秆的 NDF、ADF 以及 160 与 240 mg/kg 组豆粕的 CP 瘤胃有效降解率显著降低, 可能是由于铜水平增加对瘤胃微生物产生毒性作用减少了纤维分解菌的数量或抑制了纤维分解菌的活力^[16], 使玉米秸秆纤维性物质的降解率降低; 同样铜抑制了蛋白分解菌的活力, 从而使豆粕的降解率降低。

尿嘌呤衍生物(尿酸 + 尿囊素)含量与牛瘤胃微生物蛋白产量高度相关, 尿中嘌呤衍生物的含量反映了瘤胃微生物蛋白产量的多少^[13]。日粮中添加富铜酵母后, 尿酸含量无显著变化, 80 和 160 mg/kg 组尿囊素和尿嘌呤衍生物含量显著高于对照组和 240 mg/kg 组, 说明日粮添加 80~160 mg/kg 富铜酵母促进了微生物蛋白质的合成, 使尿中嘌呤衍生物的排出总量增加。

在本试验条件下, 日粮添加富铜酵母 80~

160 mg/kg 不会影响玉米秸秆纤维物质的消化, 并可提高尿囊素的排泄量; 添加富铜酵母 160 mg/kg 时瘤胃氨态氮浓度和豆粕 CP 有效降解率显著降低, 这反映添加富铜酵母 160 mg/kg 可以促进微生物蛋白质的合成和增加过瘤胃蛋白质; 添加富铜酵母 240 mg/kg 时, 玉米秸秆 NDF 和 ADF 有效降解率显著降低, 表明过量铜不利于纤维物质的消化, 是因为铜营养具有两面性, 牛对铜的需要有一个适宜范围, 低于适宜范围下限导致铜缺乏, 超过适宜范围上限会导致中毒, 虽然本试验日粮添加富铜酵母 240 mg/kg 未达到中毒剂量, 但根据报道, 铜过量时会抑制瘤胃微生物的活力^[17]。考虑在不同生产条件下, 基础日粮中的铜水平有所不同, 建议在以富铜酵母为日粮铜源时, 日粮铜水平不可超过每千克干物质 13.87 mg。

4 结论

① 日粮添加富铜酵母对瘤胃 pH 和 VFA 无显著影响, 瘤胃乙酸/丙酸比例呈下降趋势, 240 mg/kg 组显著降低, 瘤胃发酵类型由乙酸发酵变为丙酸发酵。

② 日粮添加富铜酵母后, 160 mg/kg 组瘤胃氨态氮浓度和豆粕 CP 有效降解率显著降低; 240 mg/kg 组玉米秸秆 NDF 和 ADF 瘤胃有效降解率显著降低, 尿囊素、尿嘌呤衍生物含量显著降低。

③ 考虑在不同生产条件下, 基础日粮中的铜水平有所不同, 建议在以富铜酵母为日粮铜源时, 日粮铜水平不可超过每千克干物质 13.87 mg。

参考文献:

- [1] 戴卓见. 反刍动物铜营养缺乏与代谢. 饲料营养杂志, 1995, (97): 84-99.
- [2] 贾文彬, 李建国, 赵世芳. 奶牛铜营养研究进展. 饲料研究, 2006, (2): 36-38.
- [3] 王 琰. 生命科学中的微量元素. 北京: 中国计量出版社, 1996:138-294.
- [4] 张政军. 铜在畜牧生产上的应用及发展趋势. 广东饲

- 料, 2006, 15(1): 26-28.
- [5] 孙会, 钱爱东, 王伟利, 林雁春. 条件因素对酵母富集铜影响的研究. 饲料工业, 2004, 25(5): 52-53.
- [6] 尚若锋, 胡振英, 张新国, 罗永江, 史彦斌, 罗超应. 富铜酵母的研制. 中兽医医药杂志, 2005, 24(5): 29-30.
- [7] 张素华, 王加启, 龚月生. 有机铜在反刍动物营养中的应用研究. 饲料工业, 2002, 23(8): 17-19.
- [8] Du Z, Hempken R, Jackson J, Trammell D. Utilization of copper in copper proteinate, copper lysine and cupric sulfate using the rat as an experimental model. *Journal of Animal Science*, 1996, 74: 1657- 1663.
- [9] 杨胜. 饲料分析及饲料质量检测技术. 北京: 北京农业大学出版社, 1996: 171-172.
- [10] 冯仰廉. 反刍动物营养学. 北京: 科学出版社, 2004: 575-576.
- [11] Van Soest P J, Robertson J B, Lewis B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 1991, 74 (6): 3583-3597.
- [12] Ørskov E R, McDonald I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 1979, 92: 499-503.
- [13] Chen X B, Mayuszewski W, Kowalczyk J. Determination of allantoin in biological cosmetic and pharmaceutical samples. *Journal of AOAC International*, 1996, 79(3): 628-635.
- [14] 冀一伦. 实用养牛科学. 北京: 中国农业出版社, 2001: 156-159.
- [15] Williams A G, Coleman G S. *The rumen protozoa*. Springer-verlag New York Inc, 1991.
- [16] Saxena K K, Srivastava R V N, Srivastava S K, Ranjan S K. Effect of cobalt and copper supplementation on the ruminal volatile fatty acids concentration and microbial population in Hariana calves. *Indian Journal of Animal Science*, 1980, 50 (6): 471-475.
- [17] 王聪. 不同铜源对西门塔尔牛发情周期生殖激素分泌及营养物质代谢的影响. 博士学位论文. 太谷: 山西农业大学, 2006: 80-92.

Effects of Copper-enriched Yeast on Rumen Fermentation and Purine Derivatives in Urine of Simmental Steers

LIU Qiang WANG Cong DONG Kuan-hu ZHANG Yan-li GAO Wen-jun

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: The objective was to explore the effects of copper-enriched yeast on rumen fermentation and urinary excretion of purine derivatives of Simmental steers. Four healthy Simmental steers, with permanent ruminal cannulas and similar body weights of (420 ± 15.2) kg, at the age of 2.5 years, were used in a 4×4 Latin square experiment. There were the control group without copper-enriched yeast, treatment one, two and three supplemented with 80, 160 and 240 mg/kg of copper-enriched yeast (10% of copper) per steer per day, respectively. The results showed that ruminal pH and VFA were not affected by supplemental copper-enriched yeast significantly ($P > 0.05$). $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration in 160 and 240 mg/kg groups were lower than that in control and 80 mg/kg groups significantly ($P < 0.05$). The ratio of acetic acid to propionic acid in 240 mg/kg group was lower than that in control and 80 mg/kg groups significantly ($P < 0.05$). DM and OM effective degradability of corn straw and soybean were not significantly affected ($P > 0.05$). NDF and ADF effective degradability of corn straw in 240 mg/kg group was decreased significantly ($P < 0.05$). CP effective degradability of soybean in 160 and 240 mg/kg groups were decreased significantly ($P < 0.05$). The content of urine acid was not significantly affected. Allantoin and urinary excretion of purine derivatives in 80 mg/kg and 160 mg/kg groups were higher than those in control and 240 mg/kg groups significantly ($P < 0.05$). In this experiment, the optimal dose of copper-enriched yeast was 80~160 mg in per kilogram DM, but considering that the copper level in basal diet should be different with different production conditions, it is suggested that the copper level should not be more than 13.87 mg in per kilogram DM when copper is supplemented as copper-enriched yeast. [Chinese Journal of Animal Nutrition, 2008, 20(3): 318-322]

Key words: Simmental steer; Copper-enriched yeast; Rumen fermentation; Purine derivative