

地顶孢霉培养物对奶牛瘤胃发酵、微生物区系及血液生化指标影响

张永根, 王一臻, 李洋, 张幸怡, 林聪, 张广宁

(东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 选择四头体重 600 kg 装有永久性瘤胃瘘管荷斯坦奶牛, 试验分为 4 组, 分别为基础日粮组及基础日粮+10、20 和 30 g 地顶孢霉培养物组(干物质基础)。采用 4×4 拉丁方试验设计, 共 4 期, 每期 15 d。日粮中添加地顶孢霉培养物可降低瘤胃液 pH, 提高瘤胃中 NH₃-N、TVFA、乙酸和丙酸浓度并调节瘤胃部分微生物相对菌群数量, 同时增加血液中血糖和球蛋白浓度, 降低 β-羟丁酸、非酯化脂肪酸和谷丙转氨酶浓度。地顶孢霉培养物可改善瘤胃发酵环境, 维持瘤胃代谢稳定, 对奶牛机体无不良影响。结果表明, 30 g·头⁻¹·d⁻¹ 为最适添加量。

关键词: 地顶孢霉培养物; 奶牛; 瘤胃发酵; 微生物区系; 血液生化参数

中图分类号: S816

文献标志码: A

文章编号: 1005-9369(2016)08-0060-07

张永根, 王一臻, 李洋, 等. 地顶孢霉培养物对奶牛瘤胃发酵和微生物区系及血液生化指标影响[J]. 东北农业大学学报, 2016, 47(8): 60-66.

Zhang Yonggen, Wang Yizhen, Li Yang, et al. Effect of *Acremonium terricola* culture on ruminal fermentation, microflora and blood biochemical parameters in dairy cows[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2016, 47(8): 60-66. (in Chinese with English abstract)

Effect of *Acremonium terricola* culture on ruminal fermentation, microflora and blood biochemical parameters in dairy cows/ZHANG Yonggen, WANG Yizhen, LI Yang, ZHANG Xingyi, LIN Cong, ZHANG Guangning(School of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Four ruminally cannulated multiparous Holstein cows averaging 600 kg of body weight were used in a 4×4 latin square design. Trials were basal diet group and basal diet +10, 20 and 30 g ACT (dry matter basis), each lasting 15 d, a total of four supplementation of ATC could reduce the rumen pH, improve concentration of NH₃-N, TVFA, acetate and propionate, and regulate relative population size of ruminal microorganism. Supplementation of ATC could improve the concentration of blood glucose and globulin, and reduce the concentration of beta hydroxybutyric acid, non-esterified fatty acid and alanine aminotransferase. The ATC could improve rumen fermentation and maintain stabilization of rumen metabolism, without adverse effects to dairy cow. In the present study, the optimal dose was 30 g·cow⁻¹·d⁻¹.

Key words: *Acremonium terricola* culture; dairy cow; ruminal fermentation; microflora; blood biochemical parameters

收稿日期: 2016-06-07

基金项目: 国家奶牛产业技术体系项目(CARS-37)

作者简介: 张永根(1962-), 男, 教授, 博士, 博士生导师, 研究方向为反刍动物生产。E-mail: zhangyonggen@sina.com

补充外源添加剂可调控瘤胃微生物区系生长,改善瘤胃发酵功能^[1]。抗生素类添加剂应用受限,非抗生素饲料添加剂开发受关注^[2]。因此,找到一种改善瘤胃发酵功能、调控瘤胃微生物作用的新型非抗生素饲料添加剂具有重要意义。

古尼虫草是寄生于土中的蝙蝠蛾科昆虫幼虫复合体^[3]。其药理成分与冬虫夏草相似,包括虫草多糖、蛋白质和氨基酸、D-甘露醇、虫草素、生物碱、抗菌活性物质、免疫抑制剂等^[4]。但价格昂贵限制其在动物生产中应用。地顶孢霉培养物是由古尼虫草提取的地顶孢霉菌SDAY培养基斜面培养后,经察氏培养基液体扩大培养和固体发酵室培养得到灭活的真菌饲料添加剂,由于功能性成分相似,可作为天然古尼虫草替代物质。魏建忠等研究表明,地顶孢霉培养物能加快仔猪生长速率并提高仔猪免疫能力^[5]。虫草素能促进机体产生特异性抗体,加强体液免疫应答,具有很强免疫调节功能^[6]。地顶孢霉培养物能提高蛋鸭体重、产蛋率、改善鸭蛋品质,显著增加蛋壳厚度^[7-8]。Joonmo等指出,虫草菌丝体(与地顶孢霉培养物成分相似)可改善奶牛瘤胃微生物发酵功能,提高产气量和瘤胃中挥发性脂肪酸(VFA)浓度,促进纤维素滤纸消化^[9],增加瘤胃微生物纤维分解菌和纤维素酶活性^[10]。国内研究多针对地顶孢霉培养物对仔猪及蛋鸭影响,反刍动物方面,特别是有关地顶孢霉培养物对瘤胃发酵和微生物区系影响研究相对较少。本试验旨在研究地顶孢霉培养物对奶牛瘤胃发酵、瘤胃微生物区系和血液生化指标影响,确定地顶孢霉培养物调控效果与适宜剂量,为地顶孢霉培养物在奶牛业应用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验动物和日粮组成

地顶孢霉培养物(*Acremonium terricola* culture, ATC)购自合肥迈可罗生物工程有限公司,是由古尼虫草中提取地顶孢霉菌经人工发酵得到灭活的真菌类添加剂,含有26.84%粗蛋白(CP),5.00%粗纤维(CF),3.06%粗脂肪(EE),4.04%粗灰分(Ash)和61.06%无氮浸出物(NFE),干物质基础。其中功能性成分含量为:虫草酸 $84.50\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,虫草多糖 $44.60\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,虫草素 $0.432\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,甾醇

$0.597\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,总氨基酸 $218.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

试验选用4头装有永久性瘤胃瘘管的健康荷兰斯坦奶牛,体重均在600 kg,拴饲。预试期与正式期日粮一致,玉米青贮,羊草及苜蓿作粗饲料。先粗后精,于每日早晚6:00准确饲喂日粮,全天自由饮水,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

Table 1 Ingredient and chemical composition of the diet

日粮组成 Composition of diets	比例 (%) Rate	营养成分 Nutrient levels	比例 (%) Rate
苜蓿 Alfalfa	2.41	泌乳净能**(MJ·kg ⁻¹) NEL	21.30
羊草 Chinese wildrye	27.21	蛋白(% ,DM) CP	15.31
青贮 Corn silage	20.47	中洗(% ,DM) NDF	52.96
干酒糟 Dried distillers grains	11.16	酸洗(% ,DM) ADF	26.55
麦麸 Wheat bran	4.68	干物质(kg) DM	12.40
玉米 Corn	22.95		
豆粕 Soybean meal	9.15		
磷酸氢钙 CaHPO ₄	0.24		
石灰石 Limestone	0.96		
盐 NaCl	0.16		
预混料 Premix*	0.32		
合计 Total	100		

注: *每千克预混料含有: VA 800 000 IU, VD 700 000 IU, VE 10 000 IU, Fe 1 600 mg, Cu 1 500 mg, Zn 10 000 mg, Mn 3 500 mg, Se 80 mg, I 120 mg, Co 50 mg。 **泌乳净能为计算值,其余为实测值。

Note: *Provided per kg of premix: VA 800 000 IU, VD 700 000 IU, VE 10 000 IU, Fe 1 600 mg, Cu 1 500 mg, Zn 10 000 mg, Mn 3 500 mg, Se 80 mg, I 120 mg, Co 50 mg. **NE_L is a calculated value and other nutrient levels are measured values.

1.2 试验设计

试验采用4×4拉丁方试验设计,分为A组、B组、C组和D组。A组:基础日粮;B组:基础日粮+10 g地顶孢霉培养物(干物质基础)/天;C组:基础日粮+20 g地顶孢霉培养物/天;D组:基础日粮+30 g地顶孢霉培养物/天。预饲期晨饲前,将地顶孢霉培养物与100 g基础日粮混合,预饲奶牛,完全采食后继续饲喂其他基础日粮^[11],试验分4期,每期预饲期15 d,正式期3 d。

1.3 样品采集和指标测定

1.3.1 样品采集与保存

分别于正式期3 d内,晨饲后0、2、4、6、

8、10和12 h对试验牛取瘤胃液50 mL, 4层纱布过滤并当场测定瘤胃液pH, 离心后采集上清液存放于10 mL离心管, 加入25%偏磷酸1 mL固氮, 于-20 ℃冰箱保存, 待测瘤胃液VFA和NH₃-N浓度。

于正式期3 d内, 对所有牛颈静脉采血10 mL, 1次性真空采血管(规格: 无添加剂管)收集, 离心制得血浆, 5 mL离心管收集, -20 ℃冷冻保存, 待测血液生化指标。

1.3.2 瘤胃液pH测定

采样后立即测定pH, 仪器采用Sartorius Basic pH Meter PB-20型酸度计。

1.3.3 瘤胃液NH₃-N测定

瘤胃液NH₃-N采用冯宗慈等比色法测定^[12]。

1.3.4 瘤胃液VFA浓度测定

气相色谱仪(岛津GC-2010, 日本)测定瘤胃液中TVFA、乙酸、丙酸和丁酸含量^[13]。

1.3.5 血液生化指标测定

采用意大利Fully全自动生化分析仪测定血清生化指标: 谷丙转氨酶(ALT), 谷草转氨酶(AST), 甘油三酯(TG), 胆固醇(CHOL), 高密度脂蛋白(HDL), 低密度脂蛋白(LDL), 血清尿素氮(BUN)和血糖(GLU), 总蛋白(TP), 白蛋白(ALB), 球蛋白(GLB), 碱性磷酸酶(ALP), β-羟丁酸(BHBA), 非酯化脂肪酸(NEFA)。试剂盒均购自北京

中生北控生物科技股份有限公司, 具体方法参见试剂盒说明书。

1.3.6 瘤胃原虫数量和菌群测定

于正式期最后2 d, 晨饲后0、2、4、6、8、10和12 h采集瘤胃液, 检测瘤胃细菌数量。采用珠磨-十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法提取瘤胃液总DNA^[14]。风干后DNA溶于TE缓冲液, 于-20 ℃待测。紫外可见分光光度计测定所提取总DNA浓度和纯度, 确保OD₂₆₀与OD₂₈₀比值在1.6~1.8。通过荧光定量PCR方法检测瘤胃液总菌, 普雷沃氏菌(*Prevotella*), 黄色瘤胃球菌(*Ruminococcus flavefaciens*), 白色瘤胃球菌(*Ruminococcus albus*), 产琥珀酸丝状杆菌(*Fibrobacter succinogenes*), 牛链球菌(*Streptococcus bovis*), 溶纤维丁酸弧菌(*Butyrivibrio fibrisolvens*)和原虫(*Protozoal population*)相对含量, 引物参考文献[15], 全序列引物见表2。荧光定量所用仪器为ABI 7500型荧光定量PCR仪, Real-time PCR SYBR Green I RT-PCR试剂盒购自大连宝生物公司。Real-time PCR扩增反应参数包括95 ℃变性7 min, 55 ℃1 min, 72 ℃3 min, 35个循环; 72 ℃延伸7 min。

根据测得阈值循环(Ct), 计算目标菌的相对菌群数量(Relative population size, RPS)^[16]。

$$RPS(\%) = 2^{-(Ct_{\text{目标菌}} - Ct_{\text{总菌}})} \times 100\%$$

表2 荧光定量PCR引物

Table 2 Primers used for RT-PCR detection of microbial species

项目 Item	上游引物 Forward primer	下游引物 Reverse primer
总菌 Total bacterial	GAAGAGTTTGATCATGGCTCAG	CTGCTGCCTCCCGTAG
普雷沃氏菌 <i>Prevotella</i>	GCGAAAGTCGGATTAATGCTCTATG	CCCATCCTATAGCGGTAACCTTTG
黄色瘤胃球菌 <i>R. flavefaciens</i>	CGAACGGAGATAATTTGAGTTTACTTAGG	CGGTCTCTGTATGTTATGAGGTATTACC
白色瘤胃球菌 <i>R. albus</i>	CCCTAAAAGCAGTCTTAGTTCCG	CCTCCTTGCGGTTAGAACA
产琥珀酸丝状杆菌 <i>F. succinogenes</i>	GTTCCGAATTACTGGGCGTAAA	CGCCTGCCCTGAACTATC
牛链球菌 <i>S. bovis</i>	CGATACATAGCCGACCTGAG	TAGTTAGCCGTCCTTTCTG
溶纤维丁酸弧菌 <i>B. fibrisolvens</i>	GGAGCAAACAGGATTAGATACCC	TGACGACAACCATGCACCAC
原虫 <i>Protozoal population</i>	GCTTTCGWTGCTAGTGTATT	CTTCCCTCYAATCGTWCT

1.4 数据统计分析

按照4×4拉丁方试验设计, 采用SAS 9.1.2软件包中PROC MIXED程序作数据分析。

模型如下:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + C_k + E_{ijk}$$

其中, Y_{ijk} 为因变量值, μ 为总体平均值, T_i 为处理($i = 1-3$), P_j 为试验期($j = 1-3$), C_k 为试验牛($k = 1-3$), E_{ijk} 为残差值。

$P < 0.05$ 代表差异显著, 结果用平均值和标准误表示。

2 结果与分析

2.1 地顶孢霉培养物对奶牛瘤胃发酵影响

地顶孢霉培养物对奶牛瘤胃发酵影响见表3,与A组相比,B、C、D组极显著提高瘤胃中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度,C组和D组提高瘤胃液中总挥发酸(TVFA)和乙酸浓度且差异极显著($P<0.01$),其中D组极显著提高瘤胃液中丙酸浓度($P<0.01$)并显著降低瘤胃pH($P<0.05$)。丁酸浓度各组间无显著差异($P>0.05$)。

2.2 地顶孢霉培养物对奶牛瘤胃菌群影响

由表4可知,与A组相比,D组可显著提高瘤胃中原虫相对菌群数量($P<0.05$),其他各组差异不显著($P>0.05$)。试验组黄色瘤胃球菌、白色瘤胃球菌和溶纤维丁酸弧菌相对菌群数量极显著高于A组($P<0.01$),其中D组黄色瘤胃球菌相对数量极显著高于B组($P<0.01$),白色瘤胃球菌和溶纤维

丁酸弧菌各试验组间差异不显著($P>0.05$)。C组和D组普雷沃氏菌和牛链球菌相对数量极显著高于A组($P<0.01$)。但与A组相比,试验组产琥珀酸丝状杆菌相对数量极显著降低($P<0.01$)。

2.3 地顶孢霉培养物对奶牛血液生化指标影响

由表5可知,地顶孢霉培养物可极显著提高奶牛血液中血糖浓度($P<0.01$)。B组、C组和D组血糖浓度极显著高于A组($P<0.01$),其中C组和D组血液中球蛋白浓度极显著高于A组($P<0.01$),但B组和A组相比无显著差异。C组和D组显著降低血液中 β -羟丁酸浓度($P<0.05$),其中D组显著降低血液中非酯化脂肪酸和谷丙转氨酶浓度($P<0.05$)。此外,添加地顶孢霉培养物可提高血液中碱性磷酸酶浓度,但各组间差异不显著($P>0.05$)。

综合以上分析可知,地顶孢霉培养物最佳添加量为 $30\text{ g}\cdot\text{头}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

表3 地顶孢霉培养物对奶牛瘤胃发酵影响

Table 3 Effects of *Acremonium terricola* culture on ruminal fermentation in dairy cows

项目 Items	A组 A Group	B组 B Group	C组 C Group	D组 D Group	SEM	P值 P value
pH	6.82a	6.79ab	6.81a	6.76b	0.01	<0.05
$\text{NH}_3\text{-N}(\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1})$	12.63c	13.44b	13.66b	14.14a	0.15	<0.01
总酸($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) TVFA	90.08c	90.56c	95.14b	98.98a	1.07	<0.01
乙酸($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) Acetate	57.72b	57.49b	61.28a	62.94a	0.95	<0.01
丙酸($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) Propionate	21.13b	21.19b	21.75b	23.15a	0.34	<0.01
丁酸($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) Butyrate	8.87	9.39	9.61	10.24	0.49	0.3

注: A、B、C和D分别代表0, 10, 20, $30\text{ g}\cdot\text{头}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 4个不同处理组。同行不同小写字母代表差异显著($P<0.05$), 相同或无字母表示差异不显著($P>0.05$)。下同。

Note: 0, 10, 20 and $30\text{ g}\cdot\text{cow}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$ was replaced by A, B, C and D in four different treatment groups, respectively. Means within a row with different superscripts differ ($P<0.05$), and with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$). The same as below.

表4 地顶孢霉培养物对瘤胃微生物影响

Table 4 Effects of *Acremonium terricola* culture on ruminal microflora

项目 Item	A组 A Group	B组 B Group	C组 C Group	D组 D Group	SEM	P值 P value
目标菌相对菌群数量(%) Target bacterium, RPS						
原虫数量 Protozoal population	0.03b	0.03b	0.03b	0.04a	0.01	0.02
黄色瘤胃球菌 <i>R. flavefaciens</i>	5.03c	6.89b	7.36ab	7.93a	0.52	<0.01
白色瘤胃球菌 <i>R. albus</i>	3.78b	6.08a	6.25a	6.37a	0.64	<0.01
产琥珀酸丝状杆菌 <i>F. succinogenes</i>	0.46a	0.37bc	0.37c	0.28c	0.08	<0.01
普雷沃氏菌 <i>Prevotella</i>	3.81c	4.68bc	5.22b	6.32a	0.47	<0.01
牛链球菌 <i>S. bovis</i>	5.46c	7.31bc	9.38ab	9.81a	1.25	<0.01
溶纤维丁酸弧菌 <i>B. fibrisolvens</i>	4.86b	6.85a	6.81a	6.48a	0.45	<0.01

注: 相对菌群数量: 目标菌占总菌16S rRNA基因百分数。

Note: Relative population sizes: percentages of the 16S rRNA gene copy number of the total bacterial domain.

表5 地顶孢霉培养物对奶牛血液生化指标影响

Table 5 Effects of *Acremonium terricola* culture on the blood biochemical parameters of dairy cows

项目 Items	A组 A Group	B组 B Group	C组 C Group	D组 D Group	SEM	P值 P value
总蛋白 TP	81.67	80.67	77.5	82.75	0.20	0.30
球蛋白 GLB	11.50b	12.17b	14.00a	14.33a	0.40	<0.01
白蛋白 ALB	67.17	69.17	65.33	69.25	1.72	0.35
谷丙转氨酶 ALT	23.17a	22.17a	22.17ab	21.33b	0.48	0.01
谷草转氨酶 AST	48.17	51.67	55.08	50.92	3.10	0.49
碱性磷酸酶 ALP	24.67	32.33	35.00	34.42	2.86	0.07
甘油三酯 TG	0.35	0.32	0.29	0.34	0.03	0.62
胆固醇 CHOL	2.26	2.41	2.43	2.28	0.06	0.08
高密度脂蛋白 HDL	1.39	1.48	1.52	1.44	0.06	0.37
低密度脂蛋白 LDL	0.30	0.30	0.28	0.30	0.01	0.24
尿素氮 BUN	4.20	4.19	3.44	3.74	0.54	0.71
血糖 GLU	4.03b	4.28a	4.38a	4.42a	0.05	<0.01
β -羟丁酸 BHBA	0.44a	0.40ab	0.37b	0.35b	0.02	<0.05
非酯化脂肪酸 NEFA	530.50a	504.62a	450.09ab	413.12b	26.21	<0.05

3 讨论与结论

3.1 地顶孢霉培养物对瘤胃发酵影响

评价瘤胃发酵效率一般采用瘤胃 pH、VFA 和 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度及瘤胃菌群数量等指标^[17]。瘤胃微生物结构与数量是决定瘤胃发酵功能重要因素，瘤胃微生物对日粮蛋白质降解与自身合成速度直接影响 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度^[18]。研究表明，瘤胃微生物活性较强时产生相对较多 VFA^[17]。挥发酸产量则直接决定 pH。

pH 是评价瘤胃发酵状况综合性指标，主要受唾液、日粮组成、瘤胃中挥发性脂肪酸和可消化碳水化合物等因素影响。本试验中，乙酸浓度、黄色瘤胃球菌、白色瘤胃球菌与原虫相对菌群数量均显著升高，最大剂量组 pH 降低可能由于地顶孢霉培养物促进原虫和部分纤维分解菌增殖，提高日粮中纤维降解产生大量挥发酸所致。Krause 等指出，瘤胃中 VFA 浓度增加也可导致瘤胃 pH 下降^[19-20]。Yeo 等研究表明，具有与地顶孢霉培养物相同功能性成分的蛹虫草菌丝能增加瘤胃体外产气量和挥发酸产量，降低瘤胃 pH^[10]，与本试验结果一致。

$\text{NH}_3\text{-N}$ 是瘤胃微生物生长繁殖所需主要氮源之一，浓度反映瘤胃细菌微生物对 $\text{NH}_3\text{-N}$ 利用速度和日粮中氮降解速度平衡关系^[21]。本试验中，试

验组普雷沃氏菌和原虫数量高于对照组， $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度提高由于地顶孢霉培养物促进普雷沃氏菌和原虫增殖。研究表明，普雷沃氏菌在蛋白降解菌中数量最多^[22]。原虫也参与蛋白降解过程^[23]。因此，地顶孢霉培养物调节部分瘤胃微生物菌群数量改善日粮中蛋白质降解程度。另一方面，地顶孢霉培养物含有丰富蛋白质、氨基酸等重要功能性成分^[6]，日粮中添加地顶孢霉培养物可提高瘤胃中微生物可利用蛋白浓度，使更多蛋白质转化为 $\text{NH}_3\text{-N}$ ，提高瘤胃内 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度。

瘤胃发酵是反刍动物独特的营养生理功能，VFA 可直接评价瘤胃发酵功能^[17]。瘤胃内 VFA 产生菌代谢能力增强或数量增加可提高瘤胃 VFA 浓度，增加碳水化合物降解速率^[22]，改善瘤胃内环境。因此，本试验中，瘤胃 TVFA、乙酸和丙酸浓度提高可能与地顶孢霉培养物对原虫和部分纤维分解菌和非纤维分解菌相对数量增殖作用有关。黄色瘤胃球菌、白色瘤胃球菌、普雷沃氏菌和原虫在改善瘤胃发酵功能方面发挥重要作用，以上菌种相对数量显著提高改善瘤胃发酵功能，提高饲料营养物质瘤胃降解速率^[22]，产生大量乙酸、丙酸。Yeo 等通过体外发酵试验发现蛹虫草菌丝能显著提高体外产气量和挥发酸产量^[10]，这与本试验结果一致。

3.2 地顶孢霉培养物对奶牛瘤胃菌群影响

瘤胃内微生物主要包括原虫和瘤胃细菌、真菌等。对反刍动物而言,瘤胃微生物数量和结构与粗饲料消化利用关系密切。本试验结果表明,日粮中添加地顶孢霉培养物提高部分纤维分解菌和非纤维分解菌数量,但产琥珀酸丝状杆菌数量却有所降低。Ahn等指出,虫草素和虫草菌丝与某些次级代谢产物具有抑制产琥珀酸丝状杆菌生长作用^[24-25],证明地顶孢霉培养物可调节瘤胃菌群结构,改善瘤胃内环境。Yeo等通过体外发酵试验证明蛹虫草菌丝能增加瘤胃内总微生物数量,提高纤维分解菌数量和纤维酶活性^[10]。虫草类物质及功能性成分具有增加益生菌数量潜力^[26]。通过上述分析,可推断日粮中添加地顶孢霉培养物能提高奶牛瘤胃中部分纤维分解菌和非纤维分解菌数量,促进日粮中营养物质分解,提高日粮在瘤胃中发酵潜力,但作用机制尚待进一步研究。

3.3 地顶孢霉培养物对奶牛血液生化指标影响

GLU和NEFA、BHBA是衡量反刍动物能量状态重要指标。研究表明,血液中高浓度NEFA和BHBA属于酮病病理学特征^[27-28]。血液中NEFA和BHBA浓度升高是能量负平衡主要特征,同时血糖浓度降低,使奶牛免疫力下降,影响奶牛生产性能。李国鹏指出,低GLU会导致血液中NEFA和BHBA升高^[29]。迟景波发现,奶牛血液中GLU浓度与NEFA和BHBA浓度呈负相关^[30]。本试验结果表明,地顶孢霉培养物可显著降低血液中NEFA和BHBA浓度,可能是由于地顶孢霉培养物可改善奶牛机体能量负平衡状态。因此推测GLU升高是NEFA和BHBA浓度降低关键。NEFA为TG分解产物,虫草多糖能保持TG较低水平,并预防肝脏疾病和心血管疾病^[31]。本试验中,B、C、D3组TG含量降低,也可能由于地顶孢霉培养物对TG低水平维持作用导致其分解产物NEFA浓度相对降低。

正常情况下,血液中ALT和AST含量较低。血液中ALT和AST含量升高一般缘于贮藏于肝脏中ALT和AST释放作用^[32]。地顶孢霉培养物中虫草多糖等功能性成分是D组血浆中ALT浓度显著降低主要原因。余伯成等发现,虫草多糖能抑制ALT和AST释放,显著降低ALT和AST活力水平,使肝细胞存活率上升^[31],与本试验结果相似。

动物机体肝脏合成是血清中蛋白主要来源,

肝脏受损可能导致血清中蛋白含量降低,注射免疫抑制剂(环磷酰胺)会致使小鼠总蛋白、球蛋白、白蛋白降低^[33]。本试验结果显示,地顶孢霉培养物可提高奶牛血浆中球蛋白含量。余伯成等指出,蛹虫草多糖能显著降低环磷酰胺对小鼠免疫抑制作用,提高环磷酰胺所致免疫损伤小鼠血清蛋白含量,保护肝脏^[31],与本试验结果相似。

[参 考 文 献]

- [1] 祁茹,赵军,孙建凤,等.提高反刍动物粗饲料利用率的营养措施[J].中国奶牛,2011(13):33-37.
- [2] 王洪荣,陈旭伟,王梦芝.茶皂素和丝兰皂苷对山羊人工瘤胃发酵和瘤胃微生物的影响[J].中国农业科学,2011,44(8):1710-1719.
- [3] 中华人民共和国.中华人民共和国药典1963年版一部[M].北京:人民卫生出版社,1964.
- [4] 刘彦威,刘娜,刘利强.冬虫夏草有效成分的研究进展[J].动物医学进展,2004,25(3):51-53.
- [5] 魏建忠,张玮,李郁,等.地顶孢霉培养物对保育仔猪生产性能及免疫水平的影响[J].中国畜牧兽医,2009,36(2):33-35.
- [6] Wu W C, Hsiao J R, Lian Y Y, et al. The apoptotic effect of cordycepin on human OEC-M1 oral cancer cell line[J]. Cancer Chemotherapy & Pharmacology, 2007, 60(1): 103-111.
- [7] 姜明君.笼养蛋鸡钙代谢对蛋壳质量的影响及其机制研究[D].泰安:山东农业大学,2015.
- [8] 孙汉巨,李晓祥,丁琦,等.虫草饲料添加剂对蛋鸭生产性能及鸭蛋品质的影响[J].安徽农业科学,2011,39(6):3618-3620.
- [9] Joonmo Y, Shinja L, Sangmin L, et al. Effects of cordyceps militaris mycelia on *in vitro* rumen microbial fermentation[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2009, 22(2): 201-205.
- [10] Yeo J M, Lee S J, Shin S H, et al. Effects of cordyceps militaris mycelia on fibrolytic enzyme activities and microbial populations *in vitro*[J]. Asian Australasian Journal of Animal Sciences, 2011, 24(24): 364-368.
- [11] Sun P, Wang J Q, Deng L F. Effects of *Bacillus subtilis* natto on milk production, rumen fermentation and ruminal microbiome of dairy cows[J]. Animal An International Journal of Animal Bioscience, 2013, 7(2): 216-222.
- [12] 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(6):37-37.
- [13] Erwin S, Marco G J, Eemery E M. Volatile fatty acid analyses of

- blood and rumen fluid by gas chromatography[J]. *Journal of Dairy Science*, 1961, 44(9): 1768–1771.
- [14] Zhong T Y, Mark M. Improved extraction of PCR-quality community DNA from digesta and fecal samples[J]. *Biotechniques*, 2004, 36(5): 808–812.
- [15] Ehsan K, Shoucong L, Plaizier J C, et al. Rumen microbiome composition determined using two nutritional models of subacute ruminal acidosis[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2009, 75(22): 7115–7124.
- [16] 辛杭书, 段春宇, 张永根, 等. 饲料中添加海南霉素对奶牛瘤胃微生物区系的影响[J]. *动物营养学报*, 2012, 24(11): 2249–2256.
- [17] 王洪荣, 秦韬, 王超. 青蒿素对山羊瘤胃发酵和微生物氮素微循环的影响[J]. *中国农业科学*, 2014, 47(24): 4904–4914.
- [18] 刘彩娟, 孙满吉, 孙金艳, 等. 饲料中添加复合益生菌对奶牛瘤胃发酵及纤维素酶活的影响[J]. *动物营养学报*, 2011, 23(5): 821–827.
- [19] Krause K M, Oerzel G R. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: a review[J]. *Animal Feed Science & Technology*, 2006, 126(3): 215–236.
- [20] Khafipour, Krause D O, Plaizier J C. A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation[J]. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92(3): 1060–1070.
- [21] Devant M, Ferret A, Gaea J, et al. Effects of protein concentration and degradability on performance, ruminal fermentation, and nitrogen metabolism in rapidly growing heifers fed high-concentrate diets from 100 to 230 kg body weight[J]. *Journal of Animal Science*, 2000, 78(78): 1667–1676.
- [22] 冯仰廉. 反刍动物营养学[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [23] Nolan J V. Implications of protozoa and fungi for the protein nutrition of ruminants—invited review[C]// Australia : Oecd/une International Symposium. 1989: 211–221
- [24] Ahn Y J, Park S J, Lee S G, et al. Cordycepin: selective growth inhibitor derived from liquid culture of *Cordyceps militaris* against *Clostridium* spp.[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2000, 48(7): 2744–2748.
- [25] Yeon S H, Kim J R, Ahn Y J. Comparison of growth-inhibiting activities of *Cordyceps militaris* and *Paecilomyces japonica* cultured on *Bombyx mori* pupae towards human gastrointestinal bacteria[J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 2006, 87(1): 54–59.
- [26] Koh J H, Suh H J, Ahn T S. Hot-water extract from mycelia of *Cordyceps sinensis* as a substitute for antibiotic growth promoters[J]. *Biotechnology Letters*, 2003, 25(7): 585–590.
- [27] 张玉明. NEFAs 和 BHBA 对奶牛中性粒细胞 TLR2/4-NF- κ B 信号通路的影响[D]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [28] Roche J R, Sheahan A J, Chagas L M, et al. Short communication: change in plasma ghrelin in dairy cows following an intravenous glucose challenge[J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91(91): 1005–1010.
- [29] 李国鹏. 围产期奶牛低血糖症、高酮血症、亚临床低钙血症血液生化指标的监测[D]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [30] 迟景波. 围产期酮病、脂肪肝奶牛血液生化指标的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2007.
- [31] 余伯成, 唐亮, 茅孝先, 等. 虫草多糖药理学研究进展[J]. *世界科学技术: 中医药现代化*, 2011, 13(3): 585–590.
- [32] 李洋. 湿玉米纤维饲料对奶牛瘤胃代谢特性和血液生化指标的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- [33] 江南, 刘翠霞, 但汉雄, 等. 甘草酸二铵对大鼠环磷酰胺损伤的保护作用[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(3): 326–328.