

徐俊,丁健,侯玉洁,等. 稻草茎在奶牛瘤胃中的降解动态[J]. 江苏农业科学,2013,41(8):191-194.

稻草茎在奶牛瘤胃中的降解动态

徐俊¹, 丁健², 侯玉洁¹, 霍永久¹, 赵国琦¹, 苏衍菁³

(1. 扬州大学动物科学与技术学院, 江苏扬州 225009; 2. 中国饲料工业协会, 北京 100026; 3. 上海光明荷斯坦牧业有限公司, 上海 200443)

摘要:通过尼龙袋法并借助扫描电镜研究稻草茎在奶牛瘤胃中的动态降解,以便从植物组织形态学的角度深入了解稻草茎在瘤胃中的降解规律。试验结果:稻草茎表皮无法被微生物降解,茎的降解方向是从内层薄壁组织向外层表皮的单向模式;大维管束是伴随维管束鞘周围的薄壁组织降解后脱落,包裹在厚壁组织中的小维管束无法降解。在今后的研究过程中,应重点通过物理、化学或生物学的方法降低稻草茎厚壁组织的木质化和表皮的硅质化程度,使微生物能够侵入厚壁组织并破坏表皮结构,从而提高稻草在奶牛瘤胃中的降解率进而为动物体所利用。

关键词:稻草茎;扫描电镜;动态降解

中图分类号: S523.9⁺15 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)08-0191-04

对于许多盛产水稻的国家来说,稻草无疑成为反刍动物一种重要的粗饲料来源,对中国而言,每年的稻草产量高达 2 亿 t^[1]。稻草蛋白质含量低、纤维降解率不高的特点限制了在反刍动物中的高效利用。粗饲料在瘤胃中的降解率是决定其饲喂价值的关键因素^[2],对牧草而言,茎秆部分降解率高则显得尤为重要。植物形态结构^[3]、细胞壁组分^[2]、动物咀嚼^[4]和瘤胃内环境^[5]等因素都会影响纤维的降解,研究表明:通过组织形态学的方法可以深入了解牧草的组织结构进而确定其营养价值^[6],早期的研究主要集中在通过物理、化学或生物学处理提高稻草营养价值和消化率^[7-8],有关体内法研究稻草茎在瘤胃中的动态降解规律和不同组织结构的动态降解过程还鲜有报道。本研究拟通过尼龙袋法和扫描电镜研究稻草茎在瘤胃中的动态降解过程,为深入了解稻草茎在奶牛瘤胃中的降解规律及今后在提高稻草消化率的思路上提

供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验选用扬州大学试验牧场种植的晚季稻草,于黄熟期手工收割后摘除籽实,剥离出茎秆作为本试验材料,65℃下烘干,粉碎过 2 mm 筛,装样品瓶备用。

1.2 尼龙袋法测定稻草茎降解率

选用 3 头安装有永久性瘤胃瘘管的荷斯坦奶牛,饲喂以玉米青贮为基础的全混合日粮。准确称取 3.0 g 样品放入预先烘干并称重的尼龙袋(8 cm×12 cm,孔径为 300 目),每个时间点同一瘘管牛设 2 个重复。于晨饲前放入瘤胃中,分别在 2、6、12、24、36、48、72 h 后快速取出尼龙袋,放入冰水中终止发酵,然后用冷水冲洗直到水澄清为止,65℃下烘干至恒重,过 1 mm 筛,测定干物质(DM)和中性洗涤纤维(NDF)降解率。

1.3 电镜样品的制备与观察

1.3.1 稻草茎的组织降解 选取整株稻草,在茎秆第二节上缘节下 2 cm 处截取 3 cm 长片段,纵切为 6 份,分别放入特制尼龙袋(孔径为 300 目,内径为 4 cm×7 cm)中,为防止样品粘连,一个尼龙袋只放一段样品。然后将尼龙袋固定于塑料软管上,分别在瘤胃中降解 6、12、24、48、72 h 后取出,另 2 头

畜牧业提供理论依据。

参考文献:

- [1] 方热军,胡民强,邓光前. 山羊舍饲和放牧行为的观察[J]. 家畜生态,1997,18(1):13-16.
- [2] 张乃锋. 新编羊饲料配方 600 例[M]. 北京:化学工业出版社,2009:150-257.
- [3] NY/T 816—2004 肉羊饲养标准[S]. 北京:中国农业出版社,2005
- [4] 张作仁,熊金洲,闻群英,等. 马头山羊育肥效果比较试验[J]. 湖北畜牧兽医,2005(3):12-13.
- [5] 吴蕊汝,王海,吴仙,等. 贵州半细毛羊羔羊育肥试验[J]. 饲料研究,2011(8):34-35.

收稿日期:2013-04-10

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2011BAD17B03);江苏省研究生科研创新计划(编号:CXLX12_0933)。

作者简介:徐俊(1986—),男,江西南昌人,博士研究生,研究方向为反刍动物营养与牧草资源利用。E-mail: xujun0125@yahoo.com.cn。

通信作者:赵国琦,教授,博士生导师,主要研究方向为反刍动物营养和牧草资源高效利用。E-mail: gqzhao@yzu.edu.cn。

重和料重比双重因素考察,舍饲组 6 月龄、周岁、成年羊的日补精料分别以 0.1、0.2、0.25 kg 为宜,平均日增重分别为 50.32、59.94、67.74 g/(d·只),分别比对照组增加了 77.62%、162.59%、150.89%,舍饲组的日增重显著($P < 0.05$)或极显著高于放牧组($P < 0.01$),增重效果好。

通过贵州黑山羊舍饲与放牧的对比试验发现,其生理常数与正常值无差异,虽然舍饲组角膜炎、内科病的发病率呈现 6 月龄羊 > 周岁羊 > 成年羊的趋势,但通过改造圈舍、加强羊的运动和舍内通风换气,可降低发病率。补饲试验表明,舍饲的增重效果显著高于放牧。综合本研究的结果认为,贵州黑山羊进行舍饲是可行的;此外,推广种草养羊可以促进养羊与生态的平衡发展和喀斯特山区石漠化治理,为发展草地生态

瘦管牛重复上述操作。取出后的尼龙袋放在自来水中轻柔冲洗 15 min 左右,直到流出的水澄清为止,然后按电子显微镜观测要求制备样品。未放入瘤胃降解的稻草茎放入自来水中浸泡 12 h 作为对照样。

1.3.2 电镜样品的制备 在制备扫描电镜样品时,先切除样品两端 1 mm 左右片段,消除边缘效应,然后截取 2 个 1 mm 大小的片段,放入 2.5% 的戊二醛溶液中固定 24 h,次日倒掉戊二醛固定液,用磷酸缓冲液冲洗 3 次,各级乙醇脱水,在 1:1 的醋酸异戊酯与乙醇混合液中处理 30 min,再用纯的醋酸异戊酯处理 1 h,经临界点干燥,最后放样品台喷金,用 PHILIPS XL-30ESEM(荷兰)扫描电镜观察,照相。

1.4 统计分析

试验数据通过 Excel 软件整理,统计分析采用 SPSS 17.0 进行方差分析,并用 Duncan's 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 稻草茎干物质和中性洗涤纤维降解率

稻草茎干物质和中性洗涤纤维在奶牛瘤胃中的降解率如图 1 所示,随稻草茎在瘤胃中降解时间的延长,干物质和中性洗涤纤维降解率均逐渐提高,干物质和中性洗涤纤维降解率在 48 h 内各时间点间存在显著差异,48 h 后基本已达峰值。干物质降解率在 12~48 h 时间段内的降解幅度最高;中性洗涤纤维降解率在 12~24 h 内的降解幅度最高,前 12 h 降解率非常低。

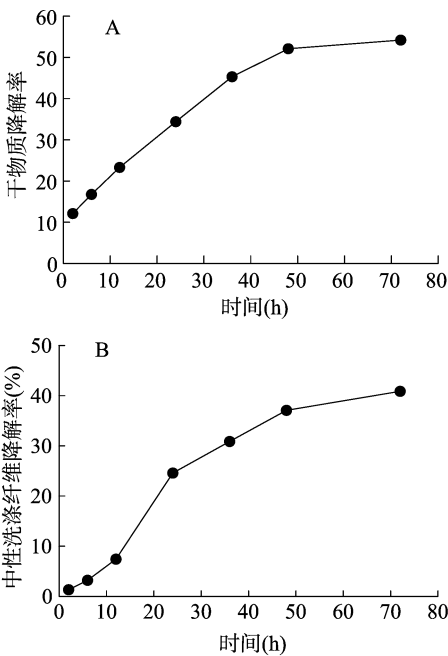
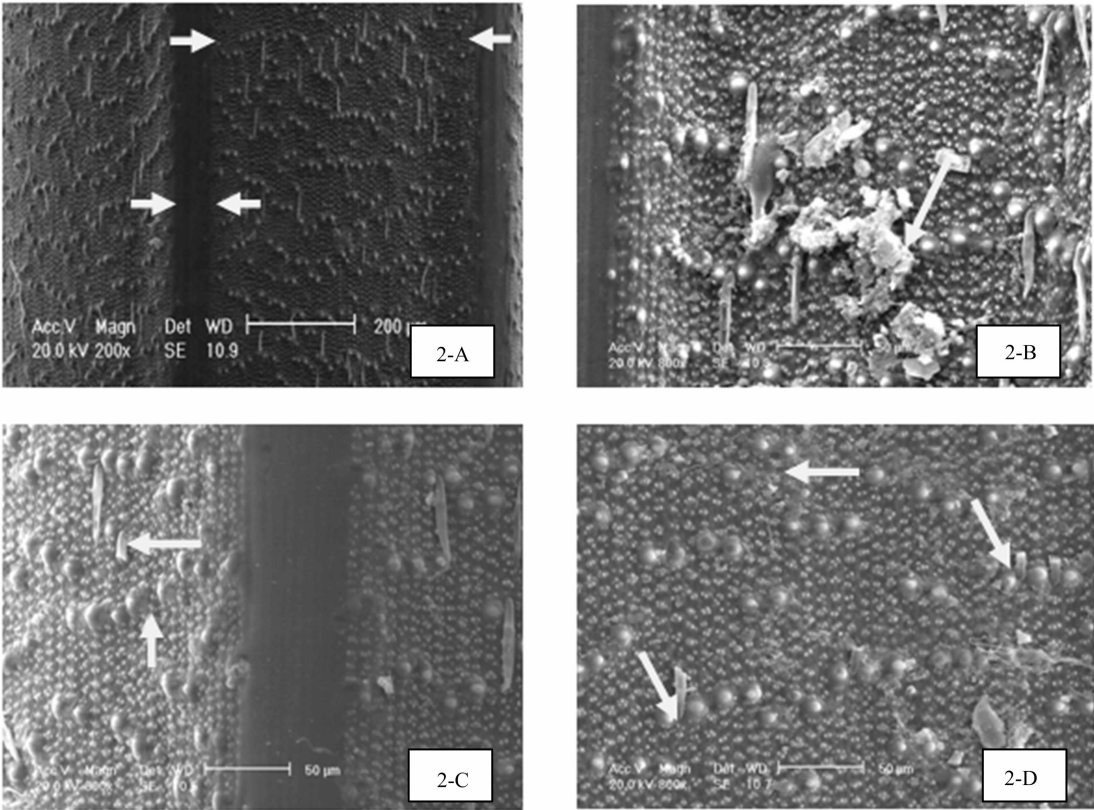


图1 稻草干物质和中性洗涤纤维在奶牛瘤胃中的降解率

2.2 电镜下稻草茎表皮层结构变化

稻草茎表皮在奶牛瘤胃内降解 72 h 后的变化如图 2。茎表皮由宽区和窄区 2 种区带交替组成(图 2-A 箭头指示),其中窄区对应的是小维管束正上方的表皮,宽区结构比窄区



0、6、24、72 h (分别对应图中 2-A、2-B、2-C、2-D) 后的扫描电镜图片。0 h 的对照图片箭头所指的是茎表皮的宽区和窄区,且表皮上发现有根毛、乳突状和瘤状结构;6 h 时有大量微生物附着在茎表面;24 h 时箭头所指处有根毛脱落;72 h 时表皮结构完整,仅根毛出现大量脱落。2-A 中标尺为 200 μm,其余 3 图标尺均为 50 μm。

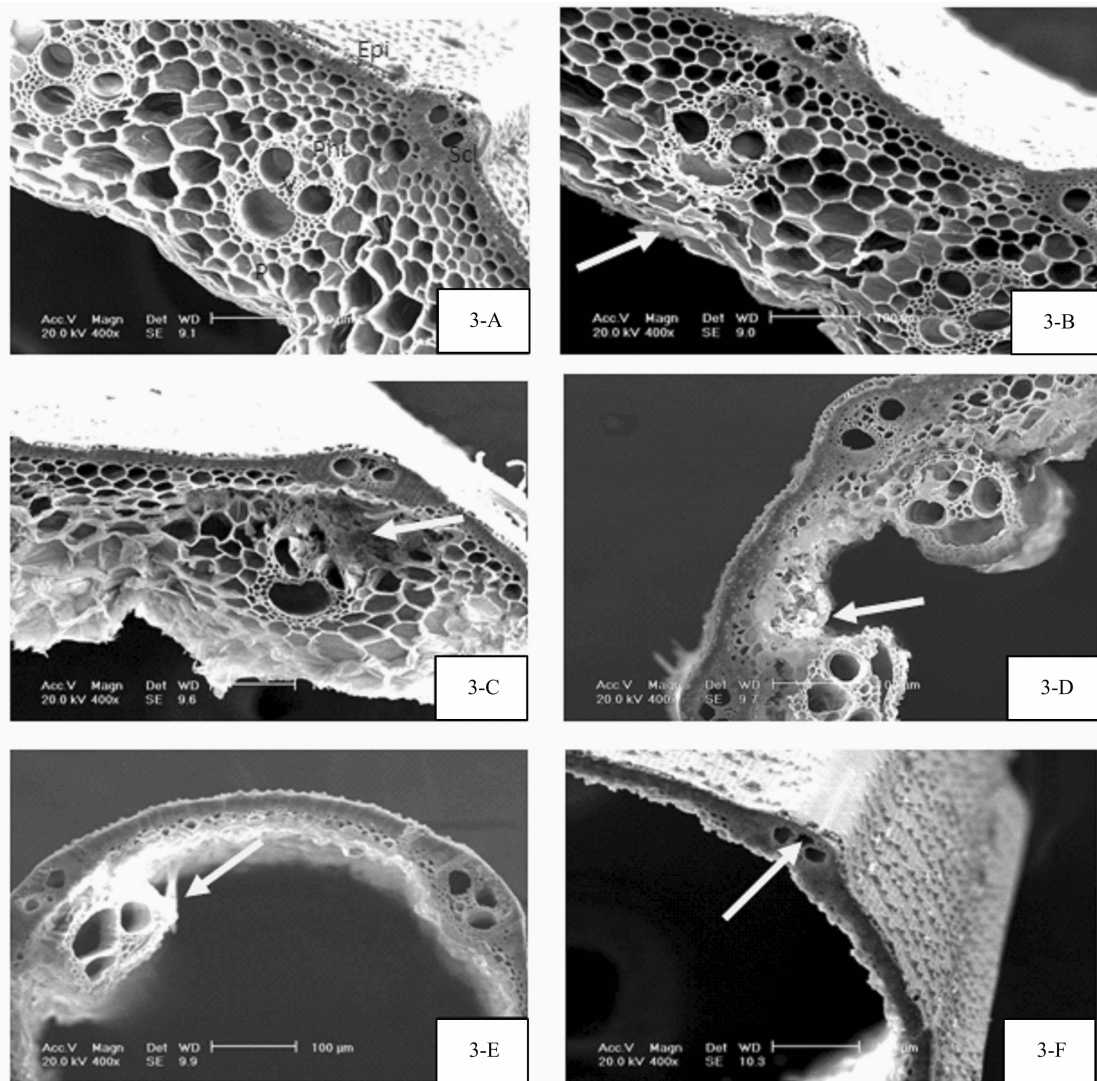
图2 茎表皮在瘤胃内降解

复杂得多,宽区上可看到根毛、乳突状和瘤状结构。0 h 时可清晰看见表皮上根毛和瘤状结构无规则地排布在宽区表面,乳突状结构则呈均匀散布,6 h 后大量微生物附着在根毛和瘤状结构周围,直到 24 h 表皮仍未出现明显的破损和孔洞,只能看到根毛出现脱落现象(图 2-C 箭头指示)。当降解到 72 h 时,茎表皮结构仍清晰可见,虽根毛数有所减少,但乳突状和瘤状结构均完好无损。尽管有微生物附着在表皮表面,但由于表皮蜡质和硅质层的保护,微生物很难入侵到表皮内部进行进一步降解。

2.3 电镜下稻草茎不同组织层动态降解

图 3 显示的是稻草茎在瘤胃内 72 h 的动态降解,稻草茎

主要由表皮、基本组织和维管束 3 部分组成,随着茎在瘤胃内降解时间的延长,组织结构发生了明显的变化。基本组织中有厚壁组织和薄壁组织,前 24 h 内是降解薄壁组织最活跃的时段,至 48 h 时仅剩下极少量薄壁组织,而表皮及厚壁组织在 72 h 时仍保持完整;稻草茎中有 2 层维管束,外侧维管束小,内侧维管束较大,大维管束是通过与维管束相连的薄壁组织降解后脱落的(图 3-D 中箭头指示)。由厚壁组织细胞包裹的小维管束并未被微生物降解,至 72 h 时,只有大维管束都伴随周围薄壁组织的降解而脱落。表明稻草茎的降解是由内向外的单向模式,主要是因为表皮部分存在蜡质和硅质层,微生物无法入侵,表皮结构保持完好。



0、6、12、24、48、72 h (分别对应图中的 3-A、3-B、3-C、3-D、3-E、3-F) 后的扫描电镜图片。茎主要是由表皮、厚壁组织、薄壁组织、维管束、嫩皮部组成。图中标尺为 100 μm 。

图3 茎在瘤胃内降解

3 讨论与结论

稻草茎蛋白含量低,纤维和灰分含量高(含硅),随着降解时间的延长,茎中易降解部分可在瘤胃微生物的作用下快速降解,然后剩下难以降解的纤维素、半纤维素和木质素等成分。结合扫描电镜图片,我们发现干物质降解率趋势图与茎

组织各时间段的降解图十分吻合,在瘤胃内降解的 12 h 前,干物质降解率较低,但 12 ~ 48 h 之间的降解率快速提高,薄壁组织开始快速降解同时伴随大维管束的脱落,48 h 后只剩下难以降解的表皮、厚壁组织和小维管束。中性洗涤纤维降解率在 12 h 前出现了一个滞后现象,降解率非常低,主要是因为瘤胃中微生物吸附在茎表面后首先降解可溶性碳水化合物

物^[9],由纤维素和木聚糖诱导产生的纤维素降解酶的分泌需底物在瘤胃内降解一段时间后才能产生^[10]。

禾本科植物茎的最外层表皮是一层生活细胞,表皮以内为基本组织,主要为薄壁细胞,在靠近表皮处常有几层起支撑作用的厚壁组织,基本组织中分散排布着许多大、小维管束,维管束由木质部和韧皮部构成,外周由厚壁组织组成的维管束鞘包围^[11]。稻草各组织在瘤胃中的降解存在差异:叶肉和嫩皮部<表皮和薄壁组织鞘<厚壁组织<木质化导管^[12]。相比于叶片和叶鞘部分,稻草的茎秆部分的降解率更高^[13~14]。研究表明,蜡质和硅质层共同起到了对瘤胃微生物的抵制作用,并非仅仅是硅质本身,造成稻草茎表皮难以被微生物入侵进一步消化^[6],与本试验扫描电镜观察到的结论相一致,稻草茎在降解 72 h 后仅有根毛脱落,而其他结构均保持完好且未出现破损和孔洞现象。但是,如果用氢氧化钠处理稻草,则发现稻草在瘤胃中降解 24 h 后微生物开始入侵表皮层,在表皮层与下层细胞之间形成微生物区带,导致未降解的表皮层与下层细胞出现分离^[11]。于红等用微生物处理麦草时发现大量菌丝附着在麦草外表面,并在麦草表面迅速扩散进入细胞壁内层,在胞腔内生长,同时可在细胞壁上观察到孔洞和凹坑现象^[15]。本研究中由于稻草茎表皮结构完好无损,并未观察到真菌丝对表皮的破坏作用。

对于茎中不同组织的降解规律,Jung 等发现苜蓿茎中有些组织(表皮、厚角组织、绿色组织、形成层以及初生木质部薄壁组织)通常在发酵 8 h 后完全降解,而初生和次生木质部导管即使在发酵 96 h 后也基本不被降解^[16]。在细胞壁的不同层中,初生韧皮部和次生木质部纤维的降解率存在很大差异。初生韧皮部的次生细胞壁基本上可以完全被降解,但需要降解到 24 h 左右,与之对应的是初生韧皮部的初生细胞壁只能部分被降解。在光学显微镜下发现,木质部纤维的初生和次生细胞壁基本上不能被微生物降解。在某些牧草茎中的髓薄壁组织可在 8 h 内完全降解,但其他牧草茎在发酵 96 h 后仍未被降解,这可能与细胞壁的木质化和不同牧草来源有关系。Engels 等利用苜蓿茎为试验材料,发现非木质化的苜蓿茎组织(绿色组织、厚角组织、形成层和初生木质部薄壁组织)可降解到更深部位(3 700 ~ 8 200 μm),但木质化的组织(韧皮部和木质部纤维)降解率则较低(150 ~ 1 360 μm)^[17]。本试验中,木质化程度低的薄壁组织,初生韧皮部均可完全降解,维管束在四周薄壁组织被降解的情况下发生脱落现象,稻草茎的降解规律呈现由内向外的单向降解模式。

本试验结果表明,稻草茎的降解规律呈现由内向外的单向模式,因为微生物无法破坏具有蜡质和硅质层的表皮组织,只能从木质素含量低的薄壁组织开始降解。大维管束是伴随维管束鞘周边相连的薄壁组织的降解而脱落的,至 72 h 时,稻草茎仅剩下难以降解的厚壁组织和表皮组织,以及嵌在其中的小维管束。综合上述结果,今后我们应重点加强降低稻草茎表皮和厚壁组织硅质化和木质化程度的研究,使微生物(如细菌和真菌)能够破坏表皮及厚壁组织进入细胞内部;我们还要利用分子生物学的方法深入研究紧密吸附在稻草内部起关键降解作用的微生物及其分泌的纤维素降解酶,深入了解纤维的降解机制以便有目的地提高纤维在反刍动物瘤胃内的降解率。

参考文献:

- [1] Guo T, Sánchez M D, Guo P Y. Animal production based on crop residues; Chinese experiences [M]. FAO; Bernan Assoc, 2002.
- [2] Structure S X. Composition and degradation of the cell walls of forage chicory (*Cichorium intybus* L.) [Z], 2006.
- [3] Wilson J R, Hatfield R D. Structural and chemical changes of cell wall types during stem development; Consequences for fibre degradation by rumen microflora [J]. Australian Journal of Agricultural Research, 1997, 48 (2): 165 - 180.
- [4] Pan J, Koike S, Suzuki T, et al. Effect of mastication on degradation of orchardgrass hay stem by rumen microbes; fibrolytic enzyme activities and microbial attachment [J]. Animal Feed Science and Technology, 2003, 106 (1): 69 - 79.
- [5] Miron J, Ben - Ghedalia D, Morrison M, et al. Adhesion mechanisms of rumen cellulolytic bacteria [J]. Journal of Dairy Science, 2001, 84 (6): 1294 - 1309.
- [6] Shen H S, Sundstøl F, Eng E R, et al. Studies on untreated and urea - treated rice straw from three cultivation seasons; 3. Histological investigations by light and scanning electron microscopy [J]. Animal Feed Science and Technology, 1999, 80 (2): 151 - 159.
- [7] Chaudhry A. Chemical and biological procedures to upgrade cereal straws for ruminants [J]. Nutrition Abstracts and Reviews. Series B, Livestock Feeds and Feeding, 1998, 68 (5): 319 - 331.
- [8] Wang J, Liu J, Li J, et al. Histological and rumen degradation changes of rice straw stem epidermis as influenced by chemical pretreatment [J]. Animal Feed Science and Technology, 2007, 136 (1): 51 - 62.
- [9] Bowman J G, Firkins J L. Effects of forage species and particle size on bacterial cellulolytic activity and colonization in situ [J]. Journal of Animal Science, 1993, 71 (6): 1623 - 1633.
- [10] Koike S, Pan J, Kobayashi Y, et al. Kinetics of in sacco fiber - attachment of representative ruminal cellulolytic bacteria monitored by competitive PCR [J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86 (4): 1429 - 1435.
- [11] 王佳壁. 稻草预处理后超微结构及其理化特性变化规律研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2006: 1 - 105.
- [12] Minson D J. Forage in ruminant nutrition [M]. San Diego: Academic Press, 1990: 483.
- [13] Wilson J, Mertens D. Cell wall accessibility and cell structure limitations to microbial digestion of forage [J]. Crop Science, 1995, 35 (1): 251 - 259.
- [14] Shen H S, Sundstøl F, Ni D. Studies on untreated and urea - treated rice straw from three cultivation seasons; 2. Evaluation of straw quality through *in vitro* gas production and in sacco degradation measurements [J]. Animal Feed Science and Technology, 1998, 74 (3): 193 - 212.
- [15] 于红, 秦梦华, 卢雪梅, 等. 微生物预处理对麦草微观结构和化学成分的影响 [J]. 中国造纸学报, 2004, 19 (1): 19 - 23.
- [16] Jung H, Engels F. Alfalfa stem tissues; rate and extent of cell - wall thinning during ruminal degradation [J]. NJAS Wageningen Journal of Life Sciences, 2001, 49 (1): 3 - 13.
- [17] Engels F M, Jung J G. Alfalfa stem tissues; Impact of lignification and cell length on ruminal degradation of large particles [J]. Animal Feed Science and Technology, 2005, 120 (3): 309 - 321.