

苏勇华,方 雷,应 璐,等. 枯草芽孢杆菌对多浪羊消化率、瘤胃发酵参数及血液指标的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(8):162-166.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.08.039

枯草芽孢杆菌对多浪羊消化率、瘤胃发酵参数及血液指标的影响

苏勇华^{1,2}, 方 雷^{1,2}, 应 璐³, 李雅婷^{1,2}, 蒋 慧^{1,2}

(1. 塔里木大学动物科学学院, 新疆阿拉尔 843300; 2. 塔里木畜牧科技兵团重点实验室, 新疆阿拉尔 843300;

3. 塔里木大学生命科学学院, 新疆阿拉尔 843300)

摘要:为评价来源于疏叶骆驼刺青贮饲料的枯草芽孢杆菌能否作为微生物饲料添加剂,选取体况相近的 12 只多浪羊为试验动物,试验采用 4×4 拉丁方设计,每个处理 3 只羊。I 组为对照组,饲喂基础日粮;II 组、III 组、IV 组为试验组,分别饲喂添加活菌数为 3.2×10^9 、 3.2×10^{10} 、 3.2×10^{11} CFU/g 的枯草芽孢杆菌的基础日粮,通过分析多浪羊的平均日增质量、养分的表现消化率、瘤胃发酵参数、血常规和血液生化指标的变化,研究枯草芽孢杆菌对多浪羊的影响。结果表明,饲料中添加 3 种剂量的枯草芽孢杆菌均能提高多浪羊的平均日增质量,提高干物质(DM)、粗蛋白(CP)、中性洗涤纤维(NDF)和酸性洗涤纤维(ADF)的表现消化率($P < 0.05$);对多浪羊瘤胃 pH 值、总挥发性脂肪酸(TVFA)、丙酸、丁酸和戊酸含量均无明显或显著影响($P > 0.05$)。添加 3.2×10^9 、 3.2×10^{11} CFU/g 枯草芽孢杆菌组的瘤胃 $\text{NH}_3 - \text{N}$ 含量显著高于对照组($P < 0.05$)。II 组的血常规(平均血红蛋白含量除外)和血液生化指标(白球比除外)与对照组无显著差异($P > 0.05$),因此添加 3.2×10^9 CFU/g 枯草芽孢杆菌组效果最好。

关键词:多浪羊;枯草芽孢杆菌;表观消化率;瘤胃发酵参数;血液指标

中图分类号: S816.7; S826.9⁺5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)08-0162-04

多浪羊是新疆南疆养殖数量较多的优良地方品种,具有饲料报酬高、产肉率高、肉质细嫩和肉胆固醇含量低等特征^[1],其羊奶乳蛋白含量(5.79%)、乳脂肪含量(6.4%)、乳糖含量(4.56%)远高于牛奶和人奶^[2],主要分布于喀什地区、阿克苏地区和巴州地区,其品种具有抗寒、抗病、耐粗饲、多胎性好、双羔率高等特性^[3],所以优化养殖多浪羊对新疆畜牧业的发展具有重要的意义。

微生物饲料添加剂(micro-ecological feed additives)是指可直接饲喂给动物,通过调控动物肠道微生态平衡从而达到预防疾病、促进动物生长和提高饲料利用率等作用的一类活性微生物或其培养物。我国农业部 2008 年 12 月公布的 1126 号公告《饲料添加剂品种目录(2008)》中规定可直接饲喂的饲用微生物添加剂菌种共 16 种,其中包括枯草芽孢杆菌、嗜乳酸杆菌、干酪乳杆菌等。芽孢杆菌制剂具有耐盐、耐高温、抗干燥等优点^[4],而枯草芽孢杆菌(*Bacillus Subtilis*)作为芽孢杆菌的一种,具有拮抗致病微生物、增强动物免疫功能,同时能产生活性较强的脂肪酶、蛋白酶和淀粉酶,可有效分解复杂碳水化合物,促进

动物对饲料养分的消化代谢^[5-6],因而在动物饲粮中使用枯草芽孢杆菌类微生物添加剂具有防治疾病、促进生长等作用^[7]。

现阶段对枯草芽孢杆菌的研究主要集中在单胃动物及水产养殖方面,鲜见关于枯草芽孢杆菌对多浪羊影响的研究^[8-11]。本试验所用枯草芽孢杆菌是由疏叶骆驼刺青贮饲料中分离鉴定得到的,该菌是否适合作为微生物饲料添加剂,是否存在差异性及安全问题,有待进一步研究,本试验通过在多浪羊日粮中添加不同剂量的枯草芽孢杆菌,研究其对多浪羊表观消化率、平均日增质量、发酵参数及血液指标的影响,旨在为枯草芽孢杆菌在多浪羊饲料中的合理利用提供依据。

1 材料与与方法

1.1 试验材料

枯草芽孢杆菌,从疏叶骆驼刺青贮饲料中分离鉴定得到,保存于实验室内。

1.2 试验动物与饲养管理

选取同年龄、同性别、健康体况相近的多浪羊 12 只,饲喂于塔里木大学动物实验站,试验前对试验羊打耳标、药浴、喂驱虫药,对羊舍、料槽、水槽等进行消毒。同组同槽饲养,在每天 08:30 和 18:30 定时饲喂,并自由饮水。枯草芽孢杆菌每天早上随玉米粉一同混合饲喂给试验羊,并注意观察羊的健康状况。试验期为 30 d,其中预试期 10 d,正试期 20 d。饲喂自配日粮,其基础日粮配方见表 1。

1.3 试验设计

试验羊随机分为 4 个处理,每个处理 3 只羊。试验采用 4×4 拉丁方设计, I 组为对照组,饲喂基础日粮; II 组、III 组、IV 组为试验组,在饲喂基础日粮的基础上,分别添加活菌数为

收稿日期:2017-06-15

基金项目:国家自然科学基金(编号:31260562);新疆生产建设兵团塔里木畜牧科技重点实验室项目(编号:HS201602、HS201701);塔里木大学研究生科研创新项目(编号:TDGRI201711)。

作者简介:苏勇华(1992—),女,甘肃张掖人,硕士研究生,研究方向为动物营养与饲料科学, E-mail: 823339729@qq.com;方 雷(1977—),男,四川蓬溪人,博士,主要从事反刍动物营养研究与教学工作, E-mail: fangleidky@126.com。

通信作者:蒋 慧,博士,教授,硕士生导师,研究方向为动物营养及饲料的教学和科研, E-mail: jianghui308@126.com。

表 1 试验羊日粮组成

原料名称	比例(%)
玉米	10
苜蓿	10
稻草	40
草坪草	40
营养成分	水平
干物质(DM)(%)	88.080
粗蛋白质(CP)(%)	6.330
总能(GE)(kJ/kg)	1 480.920
消化能(DE)(kJ/kg)	1 020.600
中性洗涤纤维(NDF)(%)	43.299
酸性洗涤纤维(ADF)(%)	36.826
粗灰分(Ash)(%)	9.110
钙(Ca)(%)	0.445
磷(P)(%)	0.132

注:营养成分为测定值,消化能为估算值,消化能=总能×DM 表观消化率。

3.2×10⁹、3.2×10¹⁰、3.2×10¹¹ CFU/g 的枯草芽孢杆菌。

1.4 测定指标和方法

1.4.1 日增质量及消化率测定 在试验的第 1 天和第 28、29、30 天晨饲前对多浪羊进行空腹称体质量,计算平均日增质量。在正试期每天 09:30 和 19:30 分别收集粪袋中的鲜粪并称质量,每天收集的鲜粪样按每 100 g 粪样加 5 mL 10% 硫酸进行固氮,同时随机收集饲喂的饲料原料样本,连续收集 4 d,将所有粪样和料样分别混匀,按照四分法进行取样,65 ℃ 烘干 48 h 后装于样品袋中备用。参照张丽英编写的《饲料分析及饲料质量检测技术》测定粪样及料样中的 DM、CP、NDF、ADF

值^[12],按王钰明等的方法^[13]测定粪样和料样中的酸不溶灰分(AIA)以计算 DM、CP、NDF、ADF 的表观消化率。

1.4.2 多浪羊瘤胃发酵参数的测定 在第 30 天晨饲前对多浪羊进行空腹采取瘤胃液,将采集的瘤胃液置于 50 mL 离心管中,用于乙酸、丙酸、丁酸等挥发性脂肪酸(VFA)含量、pH 值和 NH₃-N 浓度等瘤胃发酵参数的测定,其中 VFA 采用气相色谱法测定^[14],pH 值用雷磁 PHSJ-5 酸度进行测定,NH₃-N 浓度用比色法进行测定^[15]。

1.4.3 多浪羊血液指标 在第 30 天晨饲前对多浪羊进行空腹颈静脉采血,分别收集于抗凝管和非抗凝管中,其中抗凝管中的血用于测定血常规指标,非抗凝管中的血用于制备血清,用于测定胆固醇、谷草转氨酶、谷丙转氨酶、总蛋白等生化指标。所有的生化指标测定均在 BECKMAN COULTER AU480 型全自动生化分析仪上进行,当天完成测定。

1.5 数据统计分析

试验所得数据用 Excel 进行初步整理,采用分析软件 DPS 作方差分析。

2 结果与分析

2.1 多浪羊平均日增质量及消化率

由表 2 可知,多浪羊平均日增质量和 CP 消化率均是试验组(Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ)显著高于对照组($P<0.05$),而 3 个试验组之间差异不显著;干物质消化率表现为试验组(Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ)显著高于对照组($P<0.05$),试验Ⅱ组与Ⅲ组差异显著($P<0.05$),但与Ⅳ组差异不显著;NDF 和 ADF 消化率均是试验组(Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ)显著高于对照组($P<0.05$),但试验Ⅲ、Ⅳ组差异不显著。

表 2 多浪羊平均日增质量及消化率

处理	平均日增质量(g/d)	DM 消化率(%)	CP 消化率(%)	NDF 消化率(%)	ADF 消化率(%)
I	98.50±9.19b	60.43±1.08c	65.19±1.25b	40.07±0.44c	45.20±0.32c
Ⅱ	114.00±9.90a	64.98±0.36b	71.12±2.60a	43.36±0.56b	49.17±0.55b
Ⅲ	121.00±9.90a	68.16±1.03a	73.14±0.44a	47.21±0.81a	55.15±0.31a
Ⅳ	115.00±7.07a	66.80±1.17ab	72.66±0.40a	48.26±0.61a	54.18±0.27a

注:同列数据后标有不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下表同。

2.2 多浪羊瘤胃发酵参数

由表 3 可知,多浪羊瘤胃液的 NH₃-N 浓度表现为Ⅱ、Ⅳ组均显著高于Ⅰ组、Ⅲ组($P<0.05$),Ⅱ组与Ⅳ组、Ⅰ组与Ⅲ组差异不显著;而瘤胃液的 pH 值、总挥发性脂肪酸含量、丙酸含量和丁酸含量在 4 个处理间差异均不显著;瘤胃液乙酸含量表现为Ⅱ组显著低于其他 3 组($P<0.05$),Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ组之间差异不显著;在 4 个处理中,瘤胃液均未检出戊酸。

2.3 多浪羊血液指标

2.3.1 多浪羊血常规指标 由表 4 可知,多浪羊的白细胞数量、淋巴细胞数量、淋巴细胞百分比均表现为Ⅳ组均显著高于其他 3 组($P<0.05$),而Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组差异不显著;Ⅲ、Ⅳ组的红细胞数量均分别显著高于Ⅰ、Ⅱ组($P<0.05$),Ⅲ组与Ⅳ组、Ⅰ组与Ⅱ组差异不显著;血红蛋白浓度、红细胞压积、大型血小板比例和血小板平均体积在 4 组间均无显著差异;红细胞平均体积和平均血红蛋白含量均是对照Ⅰ组最高;试验Ⅳ组平均血红蛋白浓度显著高于其他 3 组($P<0.05$),Ⅰ、Ⅱ、

表 3 多浪羊瘤胃发酵参数

处理	NH ₃ -N 浓度(mg/100 mL)	pH 值	总挥发性脂肪酸含量(μg/mL)	乙酸含量(μg/mL)	丙酸含量(μg/mL)	乙酸/丙酸值	丁酸含量(μg/mL)	戊酸含量(μg/mL)
I	4.24±0.37b	7.61±0.01a	2 772.59±173.192a	1 745.25±59.33a	502.55±57.47a	3.49±0.28a	524.79±56.40a	—
Ⅱ	8.08±1.69a	7.62±0.09a	2 721.23±84.52a	1 461.40±68.45b	630.40±59.04a	2.32±0.11b	629.43±42.96a	—
Ⅲ	4.50±1.5b	7.60±0.07a	2 843.27±188.01a	1 671.30±61.38a	624.32±63.91a	2.69±0.18b	547.65±62.72a	—
Ⅳ	9.55±3.00a	7.58±0.03a	2 922.37±160.56a	1 809.30±53.32a	536.22±52.31a	3.39±0.23a	576.86±54.94a	—

注:“—”表示样品检测值小于最低检测值,未检测到含量。

表 4 多浪羊血常规指标

处理	白细胞数量 (× 10 ⁹ /L)	淋巴细胞数量 (× 10 ⁹ /L)	淋巴细胞百分比 (%)	红细胞数量 (× 10 ¹² /L)	血红蛋白浓度 (g/L)	红细胞压积
I	173.80 ± 1.50b	164.10 ± 0.30b	95.50 ± 0.03b	5.90 ± 0.34b	104.50 ± 0.80a	0.63 ± 0.04a
II	146.00 ± 2.10b	137.90 ± 3.10b	94.40 ± 0.75b	6.80 ± 0.40b	110.50 ± 0.80a	0.77 ± 0.01a
III	156.60 ± 6.30b	149.60 ± 6.40b	95.50 ± 0.28b	8.80 ± 0.20a	112.50 ± 2.00a	0.64 ± 0.160a
IV	225.80 ± 4.60a	219.70 ± 4.50a	97.10 ± 0.14a	8.10 ± 0.34a	107.00 ± 1.10a	0.71 ± 0.01a

处理	红细胞平均体积 (fL)	平均血红蛋白含量 (pg)	平均血红蛋白浓度 (g/L)	大型血小板比例 (%)	血小板平均体积 (fL)	血小板平均分布 宽度(fL)
I	109.00 ± 0.60a	18.00 ± 0.80a	172.50 ± 3.20b	96.30 ± 0.10a	19.90 ± 0.37a	13.80 ± 0.02ab
II	103.70 ± 0.40ab	14.20 ± 0.20b	143.00 ± 4.00b	95.50 ± 0.50a	19.90 ± 0.08a	14.80 ± 1.18a
III	93.10 ± 0.90b	12.70 ± 0.40b	213.50 ± 4.90b	96.10 ± 0.40a	19.20 ± 0.25a	12.60 ± 0.14b
IV	74.40 ± 0.80c	12.70 ± 0.08b	328.50 ± 1.40a	95.60 ± 0.30a	20.30 ± 0.40a	12.50 ± 0.14b

Ⅲ组之间差异不显著;血小板平均分布宽度在对照 I 组与 3 个试验组(Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ)间差异不显著,而试验 I、Ⅱ、Ⅲ组之间存在显著差异($P<0.05$)。

2.3.2 多浪羊血清生化指标 由表 5 可知,血液总胆红素含量除 I 组与Ⅱ组之间差异不显著外,其余各组间的 TB 含量差异显著($P<0.05$);间接胆红素含量和直接胆红素含量在 4 个组之间均无显著差异。血清的谷丙转氨酶活性、谷氨酰转氨酶活性、碱性磷酸酶活性、尿素和肌酐含量在 4 个组之间也

无明显差异。Ⅱ组谷草转氨酶活性显著高于Ⅳ组($P<0.05$),其他 3 组之间差异均不显著。

I 组总蛋白含量与Ⅱ组相比差异不显著,但显著高于Ⅲ、Ⅳ组($P<0.05$),且Ⅲ、Ⅳ组间的总蛋白含量差异也不显著;血液白蛋白含量除Ⅳ组显著低于Ⅱ和Ⅲ组($P<0.05$)外,其余 3 组间差异均不显著;血液球蛋白含量除 I 组与Ⅱ组差异不显著外,其余各组间均差异显著($P<0.05$);血液白球比除 I 组与Ⅳ组差异不显著外,其余各组间差异均显著($P<0.05$)。

表 5 多浪羊血液生化指标

处理	总胆红素(TB) 含量(μmol/L)	间接胆红素(IB) 含量(μmol/L)	直接胆红素(DB) 含量(μmol/L)	谷丙转氨酶(ALT) 活性(U/L)	谷草转氨酶 (AST)活性(U/L)	谷氨酰转氨酶 活性(U/L)	碱性磷酸酶 (ALP)活性(U/L)
I	3.80 ± 0.06c	1.35 ± 0.03a	2.40 ± 0.06a	31.50 ± 0.29a	113.95 ± 2.57ab	45.00 ± 1.20a	253.50 ± 7.09a
II	3.75 ± 0.09c	1.65 ± 0.43a	2.20 ± 0.46a	38.50 ± 0.29a	114.95 ± 1.54a	46.00 ± 2.31a	237.50 ± 9.52a
III	4.35 ± 0.03a	1.7 ± 0.23a	2.60 ± 0.29a	30.50 ± 0.87a	107.75 ± 4.19ab	47.00 ± 0.57a	267.50 ± 10.10a
IV	4.05 ± 0.03b	2.00 ± 0.00a	2.00 ± 0.00a	27.00 ± 1.73a	100.45 ± 2.22b	44.00 ± 2.31a	231.50 ± 9.73a

处理	尿素(UREA)含量 (mmol/L)	肌酐(CREA)含量 (μmol/L)	总蛋白(TP)含量 (g/L)	白蛋白(Alb)含量 (g/L)	球蛋白(GLB)含量 (g/L)	白球比 (A/B)
I	6.20 ± 0.32a	103.50 ± 2.02a	67.70 ± 1.19a	25.30 ± 0.17ab	42.30 ± 1.44a	0.60 ± 0.00c
II	5.80 ± 0.57a	103.00 ± 2.31a	70.40 ± 0.20a	26.90 ± 0.60a	43.80 ± 0.58a	0.65 ± 0.03b
III	5.20 ± 0.26a	103.50 ± 0.87a	61.00 ± 0.80b	26.70 ± 0.06a	34.30 ± 0.75c	0.80 ± 0.00a
IV	6.10 ± 0.12a	105.50 ± 2.02a	64.00 ± 1.21b	24.70 ± 0.75b	39.30 ± 0.46b	0.60 ± 0.00c

3 讨论

3.1 添加枯草芽孢杆菌对多浪羊日增质量及养分消化率的影响

本试验结果表明,添加枯草芽孢杆菌后显著提高了多浪羊平均日增质量及干物质消化率,表明枯草芽孢杆菌具有促进饲料消化的功效。添加枯草芽孢杆菌使 NDF、ADF 的消化率均有不同程度提高,与邓露芳等利用体外产气技术研究发现的纳豆芽孢杆菌提高瘤胃糖类的消化代谢^[16]得出相似的结论。出现这样的结果,可能与枯草芽孢杆菌所产生的酶有关,如脂肪酶、蛋白酶和淀粉酶,它们能有效降解复杂的碳水化合物^[6],动物饲喂枯草芽孢杆菌后,可能不同程度地提高动物肠道中蛋白酶、淀粉酶等的活性,从而提高饲料消化利用率。

3.2 添加枯草芽孢杆菌对多浪羊瘤胃发酵参数的影响

本试验结果表明,添加枯草芽孢杆菌后 pH 值无明显变化,但在一定程度上有降低的趋势,原因可能是枯草芽孢杆菌促进了糖类的消化代谢,提高了瘤胃总挥发性脂肪酸的含量。

瘤胃氨态氮浓度是反映瘤胃氮代谢的重要指标,本试验中,除Ⅲ组(3.2×10^{10} CFU/g)与对照组(I)差异不显著外,其余 2 组能显著提高瘤胃氨态氮浓度,与邓露芳等报道的纳豆枯草芽孢杆菌能显著提高瘤胃 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度有相似的结果^[16]。也有研究认为枯草芽孢杆菌促进了瘤胃原虫的生长,瘤胃原虫对细菌的吞食作用可降低瘤胃微生物蛋白质合成量,使 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度升高^[17]。除Ⅱ组乙酸含量和Ⅱ、Ⅲ组乙酸/丙酸低于对照组外,其他挥发性脂肪酸指标均不存在显著差异,表明添加枯草芽孢杆菌不能改变瘤胃发酵类型,不影响饲料的利用。

3.3 添加枯草芽孢杆菌对多浪羊血液指标的影响

3.3.1 添加枯草芽孢杆菌对多浪羊血常规指标影响 血常规是反映动物机体状况的重要指标,血液对维持动物机体的正常生命活动具有极其重要的意义,血液各种成分的定量分析能比较客观地反映动物机体的生理机能及代谢状况^[18],也是疾病诊断和监测的重要参考指标。白细胞是动物机体的防御细胞,在机体内更新的速度比较快,参与机体对细菌、病毒等异物入侵时的免疫过程,白细胞数量的变化是机体免疫力

变化的标志,白细胞数量的多少可反映机体免疫状况。饲喂枯草芽孢杆菌的多浪羊血液中白细胞数除Ⅳ组增高外,其他2组与对照无明显差异,说明饲料添加枯草芽孢杆菌对多浪羊免疫力无破坏意义。红细胞是血液有形部分最主要的成分,主要功能是携带和运输氧气,以满足机体生理活动和运动的需要,血红蛋白是血液中承担运输氧气的直接载体^[19]。红细胞和血红蛋白共同反映动物机体的运动能力、呼吸及营养状况、环境适应能力。本试验饲喂枯草芽孢杆菌的多浪羊血液中红细胞数略高于对照组,其中Ⅲ、Ⅳ组与对照组差异达到了显著水平;血红蛋白浓度、红细胞压积不存在明显差异。表明饲喂枯草芽孢杆菌不影响其运输氧气的能量。

3.3.2 添加枯草芽孢杆菌对多浪羊血清生化指标的影响

胆红素(bilirubin)是临床上判定黄疸的重要依据,也是肝功能检测的重要指标。胆红素主要在肝脏代谢,包括肝细胞对血液内胆红素的摄取、胆红素在肝细胞内的运载、未结合胆红素[(unconjugated bilirubin,UCB)又称游离胆红素]转化为结合胆红素(conjugated bilirubin,CB)、CB胆汁排泄等一系列紧密衔接且相互影响的生理过程^[20]。作为人体一种重要的内源性物质,胆红素生理浓度具有抗氧化活性,高浓度易产生细胞毒性,从而对大脑和神经系统造成不可逆损伤^[21]。本试验中,饲喂枯草芽孢杆菌多浪羊的血液中总胆红素含量表现为增长趋势(Ⅱ组与对照组无显著差异),但仍处于正常值范围内,同时直接胆红素和间接胆红素含量变化均不存在显著差异,表明饲料中添加高剂量的枯草芽孢杆菌可能会对羊的肝脏产生一定的毒害作用,生产中应控制用量。

谷草转氨酶和谷丙转氨酶在蛋白质代谢中起着重要作用,同时关联着三羧酸循环中草酰乙酸和酮戊二酸,是联系蛋白质代谢和糖代谢的重要氨基转移酶。正常情况下,这2种酶在动物的肝脏和心肌细胞中含量最高,血清中这2种酶活性较低。当组织细胞受损或通透性增大时,大量的谷草转氨酶和谷丙转氨酶进入血液,使血清中谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性增高,谷草转氨酶活性是肝细胞受损最灵敏的指标之一^[22]。添加枯草芽孢杆菌后谷草转氨酶、谷丙转氨酶含量与对照组差异不显著,其中Ⅳ组的谷草转氨酶活性明显低于对照组,说明枯草芽孢杆菌对多浪羊心脏无毒害作用,甚至可以保护心脏。

谷氨酰转氨酶能使蛋白质发生交联,改善蛋白质的溶解性、起泡性、乳化性、流变性等多种性质,从而改变食品及其他产品的质地和结构,进而赋予产品特有的结构特性和黏合性能^[23]。碱性磷酸酶是一种通过寡糖磷脂酰肌醇锚定在细胞膜上的结合蛋白,在生物体可直接参与磷酸基团的转移和代谢的生理过程,且参与体内的钙、磷代谢,维持体内适宜的钙磷比例^[24]。有研究表明,碱性磷酸酶活性降低能使组织细胞生理活动维持于较低的水平以适应饥饿胁迫^[25]。也有研究表明,碱性磷酸酶活性的高低也反映肝脏的功能状态,它的活性降低可有效保护肝脏免受损伤^[26]。饲喂枯草芽孢杆菌多浪羊血清谷氨酰转氨酶和碱性磷酸酶与对照组不存在显著差异,并降低碱性磷酸酶含量,说明饲喂枯草芽孢杆菌对多浪羊的肝脏、肾脏和心脏无不良影响,对多浪羊的营养状况和羊肉品质也无不良影响。

血液中的尿素,是机体内蛋白质中氮代谢的最终主要产

物,不与血浆蛋白结合。尿素的浓度取决于机体氮分解代谢能力和肾脏的排泄能力。血液中的肌酐,一般是内生肌酐,内生肌酐是体内肌肉代谢的产物。在肌肉中,肌酸主要通过不可逆的非酶脱水反应缓缓地形成肌酐,再释放到血液中,随尿排泄。肌酐浓度反映肾脏损害、肾小球滤过率、尿路通畅性等功能,是一项比尿素、尿酸更特异的肾功能指标,肌酐浓度升高表明肾功能受损^[19]。本试验中,饲喂枯草芽孢杆菌多浪羊血液中的尿素、肌酐含量并无显著变化,说明饲料中添加枯草芽孢杆菌对机体氮分解代谢能力和肾脏功能无显著影响。

蛋白质是生命活动中其他营养物质所不能代替的,在机体的建造和营养方面具有重要意义,血清中总蛋白主要由白蛋白和球蛋白组成,其指标可反映机体蛋白质吸收与代谢状况^[19],一般来说,机体营养状况好,蛋白质合成增加,血清总蛋白浓度升高;同时,白蛋白和球蛋白也是评价肝脏功能的重要指标。添加枯草芽孢杆菌后,Ⅲ、Ⅳ组的总蛋白和球蛋白含量低于对照组;Ⅳ组的白蛋白含量低于Ⅱ、Ⅲ组,各处理与对照比差异不显著,表明低剂量的Ⅱ组(3.2×10^9 CFU/g)对多浪羊机体吸收、代谢及免疫过程无显著影响。

4 结论

饲料中添加3种剂量的枯草芽孢杆菌均能提高多浪羊的平均日增质量、DM、CP、NDF和ADF的表观消化率,但对多浪羊瘤胃pH值、TVFA、丙酸、丁酸含量无显著影响。添加 3.2×10^9 和 3.2×10^{11} CFU/g枯草芽孢杆菌组的瘤胃 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量都有所提高。Ⅱ组(添加 3.2×10^9 CFU/g枯草芽孢杆菌组)的血常规(平均血红蛋白含量除外)和血液生化指标(白球比除外)与对照组无显著差异,因此在本试验中效果最好。

参考文献:

- [1]柳广斌,买买提伊明·巴拉提,王旭.多浪羊高繁殖力候选基因*FecX^c*位点SSCP分析[J].中国畜牧兽医,2010,37(3):115-117.
- [2]买买提伊明·巴拉提,柳广斌,卡地尔·肉孜,等.多浪羊羊奶成分分析[J].中国草食动物,2009,29(2):62-63.
- [3]蒋文生.新疆多浪羊品种资源的保护与开发利用[J].中国草食动物,2006,26(2):28-30.
- [4]林英庭,李华,刘作功,等.益生菌在养鸡生产中的应用[J].中国家禽,2003,25(1):45-47.
- [5]刘彩娟,孙满吉.饲用微生物在反刍动物中应用的研究进展[J].饲料广角,2010(17):43-46.
- [6]周映华,李秋云,陈娟,等.不同芽孢杆菌生理功能比较[J].饲料博览(技术版),2007(10):47-49.
- [7]何明清,程安春.动物微生态学[M].成都:四川科学技术出版社,2004.
- [8]查翹楚,张力凡,韩超,等.不同浓度枯草芽孢杆菌对蛋鸡血液生化指标的影响[J].中国饲料,2017(6):15-18.
- [9]万根,黄志海,付戴波,等.饲粮添加枯草芽孢杆菌对仔猪生产性能及抗病力的影响[J].饲料研究,2016(5):31-34.
- [10]周晓辉,李威,刘浩.枯草芽孢杆菌微生态制剂在禽畜养殖中的作用[J].河北科技大学学报,2016(5):503-508.
- [11]孙盛明,苏艳莉,张武肖,等.饲料中添加枯草芽孢杆菌对团头鲂幼鱼生长性能、肝脏抗氧化指标、肠道菌群结构和抗病力的影

毛 涵,陈 婧,代 飞,等. 中华补血草内生真菌发酵物的抑菌和抗氧化活性[J]. 江苏农业科学,2018,46(8):166-170.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.08.040

中华补血草内生真菌发酵物的抑菌和抗氧化活性

毛 涵^{1,2}, 陈 婧¹, 代 飞¹, 汤新慧¹, 薛 菲¹

(1. 江苏省盐土生物资源研究重点实验室,江苏盐城 224051; 2. 南京工业大学生物与制药工程学院,江苏南京 211816)

摘要:研究中华补血草的内生真菌及其发酵物的抑菌活性和抗氧化活性,旨在深入开发天然药物新资源。以中华补血草为研究对象,分离纯化出内生真菌,采用 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除法和羟基自由基清除法对其发酵物进行抗氧化活性试验,采用牛津杯法和 MTT 法进行抑菌活性试验。结果表明,从中华补血草中共分离纯化出 11 株内生真菌;菌株 A-2-13、A-1-5、A-2-5、A-1-8、A-2-8 等具有一定的抗氧化活性,在 1 000.00、500.00、250.00、125.00 $\mu\text{g/mL}$ 发酵物浓度下,菌株 A-2-13 对 DPPH 自由基及菌株 A-2-5 对羟基自由基的清除率均高于 90%;菌株 A-1-5、A-1-16、A-2-5、A-2-7、A-2-13 的抑菌活性较强,且对枯草芽孢杆菌的抑制作用最强,抑菌率几乎均高于 90%。说明中华补血草中蕴含着具有抑菌活性和抗氧化活性的内生真菌,可对其进行进一步开发利用。

关键词:中华补血草;内生真菌;分离筛选;发酵产物;抗氧化;抑菌活性

中图分类号:R284;S182 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)08-0166-05

中华补血草 [*Limonium sinense* (Girard) Kuntze] 是白花丹科补血草属植物,别称匙叶草、盐云草、海菠菜、海赤芍等,为

收稿日期:2017-11-15

基金项目:国家自然科学基金(编号:41101235);江苏省盐土生物资源研究重点实验室开放课题(编号:JKLBS2013010);盐城师范学院自然科学基金(编号:16YCKLQ003);江苏省“青蓝工程”科技创新团队项目。

作者简介:毛 涵(1992—),女,湖北随州人,硕士研究生,主要从事食品微生物方面的研究。Tel:(0515)88233191;E-mail:158951529@qq.com。

通信作者:薛 菲,硕士,讲师,主要从事食品营养与卫生学方面的研究。Tel:(0515)88233191;E-mail:yingmufeixue@126.com。

多年生泌盐草本植物,喜生于盐渍化的低洼湿地上,广泛分布于我国东北、华北、华东等地区^[1]。现有研究发现,中华补血草具有刺激动物造血及补血、止血功能,其提取物具有调节免疫、保肝、抑制肿瘤、抗氧化、抑菌等多种药理活性,具有较高的药用价值^[2]。近年来,国内外关于中华补血草的研究主要集中在其活性成分药用价值等方面,对其内生菌筛选的研究较少^[3-5]。

植物内生菌泛指一切生活在植物体内而不使植物组织显示出明显感染症状的腐生、寄生、共生真菌及细菌等微生物^[6-7]。内生菌主要包括内生真菌、内生细菌、内生放线菌。研究发现,内生真菌普遍存在于目前已研究过的各种药用植物中,在长期与药用植物共生的过程中,它对药用植物产生各

响[J]. 动物营养学报,2016,28(2):507-514.

[12] 张丽英. 饲料分析及饲料质量检测技术[M]. 3 版. 北京:中国农业大学出版社,2007.

[13] 王钰明,赵 峰,陈寿飞,等. 猪生长阶段与饲料类型对酸不溶灰分法测定养分消化率的影响[J]. 动物营养学报,2015(3):811-819.

[14] 曹庆云,周武艺,朱贵钊,等. 气相色谱测定羊瘤胃液中挥发性脂肪酸方法研究[J]. 中国饲料,2006(24):26-28.

[15] 冯宗慈,高 民. 通过比色测定瘤胃液氮含量方法的改进[J]. 畜牧与饲料科学,2010(6):37.

[16] 邓露芳,王加启,姜艳美,等. 纳豆芽孢杆菌对瘤胃微生物发酵的影响[J]. 畜牧兽医学报,2008,39(8):1062-1068.

[17] 赵广永,冯仰廉. 绵羊瘤胃水平衡,瘤胃发酵与微生物蛋白质合成[J]. 中国动物营养学报,1993(2):62-63.

[18] 朱晓光,张银国,马长宾,等. 成年盘羊血液生理生化指标的测定[J]. 动物医学进展,2010,31(9):123-125.

[19] 杨秀平,肖向红. 动物生理学[M]. 2 版. 北京:高等教育出版社,2009:54-113.

[20] 林佳媛. 胆红素代谢及其调节的研究进展[J]. 复旦学报(医学

版),2014,41(3):405-411.

[21] Vitek L, Ostrow J D. Bilirubin chemistry and metabolism; harmful and protective aspects[J]. Current Pharmaceutical Design,2009,15(25):2869-2883.

[22] Li L, Zeng X L, Zhang J. Effect of profenofos poisoning on liver lipid peroxidation and liver function in rabbits[J]. Chinese Journal of Clinic Rehabilitation,2004,8(21):4380-4381.

[23] 郭 勇,申 森. 谷氨酰转氨酶改性大豆分离蛋白在肉制品加工中的应用研究[J]. 食品工程与技术学报,2009(3):131-134.

[24] Wu X Y, Cao G D. Effect of nanoselenium on blood physiology and biochemical indexes in the pregnant does of Kelan Cashmere[J]. Modern Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine,2011(6):42-45.

[25] 廖金花,陈 巧,林丽蓉,等. 鲍鱼碱性磷酸酶的分离纯化和性质研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版),2005,44(2):272-275.

[26] 杜启艳,王 萍,王友利,等. 长期饥饿和再投喂对泥鳅不同组织糖原、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的影响[J]. 江西师范大学学报(自然科学版),2008,32(4):488-493.