



- [设为首页](#)
- [加入收藏](#)
- [联系我们](#)
- [投稿须知](#)

2008年3月5日星期三

[网站首页](#)
[同兴广告](#)
[企业名录](#)
[行业资讯](#)
[技术文章](#)
[网络刊物](#)
[在线订购](#)
[编读互动](#)



站内搜索:

类别: [全部类别](#) [全部范围](#)

[点击下载读者调查表](#)

会员登录

用户名:

密码:

验证码: 9176

相关文章

- RNA干扰的实验方法及应用
- 鸡肝脏组织中防御素基因片段...
- 原生质体融合技术在饲料开发...
- 产纤维素酶芽孢杆菌的分离鉴...
- 白腐真菌和黑曲霉对甘蔗渣降...
- 利用产假丝酵母转化无机硒...
- 硅藻土共固定化淀粉酶和糖化...
- 传统技术与现代分子生物学技...
- 饲用酶制剂中木聚糖酶学性...
- 雨生红球藻规模化培养工艺的...
- 扩展青霉产碱性脂肪酶发酵条...

合作伙伴



利用双外流连续培养系统研究不同稀释率对真菌生长及发酵参数的影响

作者:王照华 侯先志 李鹏飞

期号: 2006年第18期

反刍动物瘤胃稀释率 (DR) 是指在单位时间内流出瘤胃液相的体积占瘤胃总体积的比例。它是影响微生物发酵及其生长效率的一个重要因素, 特别是在人工瘤胃中, 当微生物数量达到稳定状态时, 稀释率可以用来代表微生物的生长速度 (Harrison等, 1980) [1]。但到目前为止, 有关稀释率影响瘤胃真菌的报道非常少, 特别是在国内尚未见到。

真菌是反刍动物所食的粗纤维消化的主要影响因素之一。Akin (1989) [2]所做的体外试验研究发现, 真菌减弱植物结构性屏障的能力明显高于细菌。Joblin (1989) [3]做的对比试验发现, 真菌可降解麦秸片段的30%~40%, 而细菌只能降解14%~18%。另有研究报道, 有厌氧真菌存在时, 动物的采食量比无厌氧真菌时高40% (Gordon等, 1993) [4]。可见, 真菌在反刍动物营养和消化方面起着举足轻重的作用。因此, 本文就不同DR对厌氧真菌的数量、数量优势真菌的形态及发酵参数的影响进行研究。

1 材料和方法

1.1 双外流连续培养系统 (又称人工瘤胃装置)

DFCCS-II型人工装置 (中国农大研制), 包括发酵系统 (12个有效体积约850ml的发酵罐)、缓冲液输送系统、搅拌系统、控温系统、通气系统和食糜收集系统。

1.2 试验动物的饲养与日粮配方

选择一头体格健康的本地黄牛为微生物接种源。精料配方及日粮营养水平见表1、表2。

表1 试验所用混合精料配方 (%)

原料	玉米	玉米胚芽饼	豆粕	食盐	钙盐	石粉	添加剂	合计
含量	74.5	19.0	3.0	1.0	1.0	0.5	1.0	100

表2 试验日粮营养水平 (%)

名称	DM	CP	CF	Ca	P	NDF	灰分
混合精料	90.28	13.03	2.93	0.32	0.38	-	2.23
风干羊草	92.76	5.82	29.61	0.21	0.24	78.30	3.15

1.3 人工唾液 (缓冲液) 的配制

参考施学仕 (1982) [5]配方, 并根据试验需要做了改进。每20 L缓冲液含NaHCO₃ 98 g、Na₂HPO₄ · 12H₂O 243 g、KCl 2.85 g、CaCl₂ 0.2 g、NaCl 2.35 g、MgSO₄ · 7H₂O 0.6 g、尿素10 g, 并加0.025% (m/v) L-一半胱氨酸盐酸盐。

1.4 真菌培养基的制备

参照Joblin (1981) [6]和毛胜勇 (2001) [7]配方配制液体培养基和固体培养基。向配好的培养基中通无氧CO₂至近饱和时加入0.015% (m/v) 的L-一半胱氨酸盐酸盐, 待溶液颜色由深红变黄后, 分装; 液体培养基为每支亨氏管8 ml, 固体培养基



为每支亨氏管5 ml, 密封, 整个过程保持厌氧, 在121 °C、1.52 MPa下灭菌15 min, 备用。

1.5 DFCOS—II型人工瘤胃的操作

接种前, 按V瘤胃液: V缓冲液=1: 1.5的比例向发酵罐内加入缓冲液, 通CO₂气体至饱和, 加热水浴箱温度至(39±0.5) °C。晨饲前从牛体内取瘤胃液, 单层纱布过滤, 按上述比例加入发酵罐, 之后“饲喂”并密封发酵罐, 开启蠕动泵(控制DR)。按实测动物瘤胃体积与发酵罐体积之比确定发酵罐“饲喂”量为30 g/(罐·d)或15 g/(罐·次)。

1.6 试验设计与统计分析

本试验设计3个DR, 分别为发酵罐体积的5.92%、11.84%和17.76%, 人工瘤胃装置缓冲液流速分别为0.85、1.65和2.45 ml/min, 固相速率分别为0.28、0.56和0.84 ml/min, 液相流速分别为0.57、1.10和1.60 ml/min。每个DR下设3个发酵罐为一组。适应期3 d, 采样期4 d。用Excel软件进行数据统计处理。

1.7 采样和滚管制备

每日采样2次, 10:00(喂后)和20:00(喂前)。从发酵罐取瘤胃液, 双层纱布过滤后分成两部分, 一部分用于pH值测定; 另一部分用于VFA、NH₃-N测定及真菌接种。从取样中速取1 ml注入已预热到45 °C并加入了1 ml抗生素溶液的液体培养基中做梯度稀释。取稀释液0.1 ml注入已煮沸融化固体培养基(45 °C亨氏管)中, 摇匀, 在冰水混合物中滚管后, 放入(39±0.5) °C恒温培养箱中培养。

在采样期间向发酵罐内投入尼龙袋16个(分两批), 其孔径为300目、大小为3 cm×4 cm、盛有1.0 g左右风干羊草, 测定72 h内不同时间的NDF消化率。

1.8 真菌观察与计数

真菌培养68 h计数, 单位为CFU/ml。用倒置显微镜观察真菌形态。

1.9 样品分析

样品分析均采用常规分析法。

2 结果与讨论

2.1 DR对瘤胃真菌数量动态变化的影响(见表3)

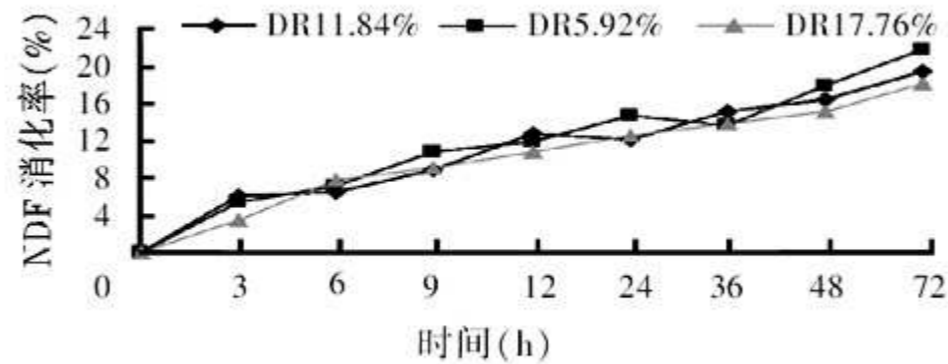


图1 不同DR对NDF消化率的影响

由表3可见, 培养期间, 不同DR对瘤胃真菌数量有一定的影响。平均真菌数量11.84%条件下略高于5.92%条件下的真菌数量(P>0.05), 且前两者明显多于17.76%条件下的真菌数量(P<0.05)。本试验条件下, 瘤胃液真菌日产量随DR提高而增多, 彼此之间差异极显著(P<0.01)。

本试验中DR为5.92%组比11.84%组真菌量低的原因可能是: ①高DR“选择”快速生长的真菌种类, “淘汰”慢繁殖真菌种; ②随着DR的增加, 更大比例的真菌种可能处于指数生长期; 并缩短了微生物在发酵罐中的存留时间, 减少了发酵的无效周转和真菌的自我分解, 为真菌生长提供更多的营养物质; ③DR提高加快代谢物排出, 减小其对微生物生长的不利影响; ④DR增加, 瘤胃原虫减少, 其对真菌的吞噬作用减弱。这与孟庆翔等(1999)[8]报道的DR影响瘤胃微生物生长的原因相似。

从理论上说, DR与真菌的繁殖速度相等时真菌量达到最大, 但过高的DR降低了真菌的生长附着基础——纤维的滞留时间; 另外, DR提高, 繁殖周期短的瘤胃细菌大量繁殖, 其速度与量远远大于真菌, 这对真菌的生长有抑制作用。这可能是DR在17.76%条件下真菌数量明显减少的原因。

不同DR下真菌日产量的变化说明在一定范围内提高DR有助于促进真菌繁殖。

2.2 DR对瘤胃数量优势真菌的影响

在试验中观察发现, 尽管DR不同, 但数量优势真菌(数量最多的真菌)形态相同, 可能是同种菌。其原因可能是发酵罐所“饲喂”日粮相同所致。

2.3 不同DR对瘤胃发酵参数的影响(见表4)

表 4 不同 DR 对瘤胃发酵参数的影响

发酵参数	DR (%)		
	5.92	11.84	17.76
pH 值	6.37 ^B ±0.08	6.49 ^A ±0.14	6.55 ^A ±0.05
氨氮浓度 (mg/100ml)	5.11 ^A ±0.23	4.79 ^B ±0.22	4.37 ^C ±0.35
TVFA 浓度 (mmol/l)	33.35 ^A ±1.22	29.84 ^{AB} ±1.04	21.89 ^C ±1.07
TVFA 日产量 (mmol/d)	39.82 ^B	70.86 ^A	79.25 ^A
乙酸摩尔浓度 (%)	58.77 ^B ±0.69	62.39 ^A ±0.94	62.15 ^A ±2.78
丙酸摩尔浓度 (%)	27.95 ^A ±1.58	25.75 ^A ±0.72	26.26 ^A ±2.51
丁酸摩尔浓度 (%)	12.95 ^A ±0.92	12.14 ^A ±1.01	11.39 ^A ±0.50
乙酸与丙酸比值	2.12 ^A ±0.14	2.42 ^A ±0.05	2.38 ^A ±0.41

由表4看出, 随着DR提高, NH₃-N浓度呈下降趋势, 主要原因: ①提高DR, 稀释了发酵产物浓度; ②DR提高引起发酵罐内微生物数量变化。该结果与赵广永等 (1995) [9]绵羊体内试验结果相吻合, 与其它使用人工瘤胃试验研究者所得结论也一致 (Abe和Kumino, 1973; 王加启, 1995) [10, 11]。Crawford等(1980) [12]和Hoover (1989) [13]也发现, 固体滞留时间延长时, NH₃-N浓度显著上升。11.84%和17.76%组之间DR对pH值影响差异不显著 (P>0.05), 但两者明显高于5.92%组 (P<0.05), 这是因为瘤胃内pH值变化主要受有机酸产量和唾液分泌量的影响 (Church, 1976) [14]。本试验中, DR提高既减少了有机酸的产生量, 又使人工唾液“分泌”量增加, 必然导致pH值上升。

随着DR提高, 发酵液中TVFA浓度呈下降趋势, 其中5.92%和11.84%组间差异不显著 (P>0.05), 但都明显高于17.76%组 (P<0.01)。TVFA日产生量 (mmol/d) 来看, 11.84%和17.76%组间差异不显著 (P>0.05), 而两者明显高于5.92%组 (P<0.05), 这可能是由于DR提高, 稀释了发酵液中TVFA浓度, 使之呈下降趋势; DR提高, 促进了发酵液中微生物生长, 使TVFA日产量增加, 随DR进一步提高, 冲淡了瘤胃液中微生物的附着基础——纤维素, 导致其数量下降, 这可能是11.84%和17.76%组间TVFA日产量差异不显著的原因。上述结果与许多研究者所得结果一致。

由表4同样可见, DR提高, 乙酸摩尔浓度呈上升趋势, 丙酸和丁酸的比值呈下降趋势, 可能是DR变化, 改变了人工瘤胃内微生物区系和 (或) 微生物代谢方式。但乙酸与丙酸的比值随DR变化差异不显著 (P>0.05)。说明在日粮相同的条件下, 一定范围内改变瘤胃DR, 不会影响瘤胃内发酵类型。上述各种TVFA的变化结果与Abe等 (1973) [10]所得结论一致。

2.4 不同DR对瘤胃NDF消化率的影响 (见表5、图1)

注: 经分析表中各组数据间差异不显著 (P>0.05)。

图1数据经Excel分析得出, 不同消化时间, 3种DR下的NDF消化率之间差异不显著 (P>0.05)。说明稀释率从5.92%提高到17.76%没有对瘤胃微生物消化NDF的能力产生显著影响。前面谈到的DR对瘤胃微生物数量影响的可能原因可对这一结果作部分解释。本试验结果与Hoover等 (1984) [15]、孟庆翔等 (1999) [8]做的活体外试验结果一致。

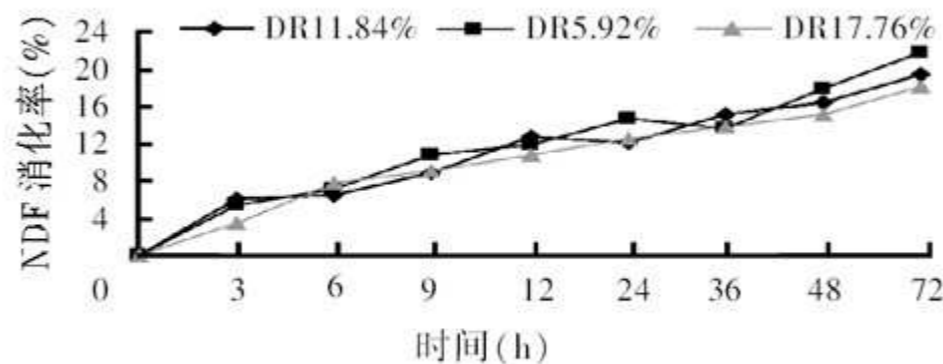


图 1 不同 DR 对 NDF 消化率的影响

3 结论

3.1 改变DR, 对真菌数量 (浓度) 和日产量有影响。在一定范围内提高DR可以促进真菌繁殖; 但过度提升DR, 会导致其繁殖力下降。

- 3.2 日粮相同情况下, 适度提高DR, 可能不会对发酵液中数量优势真菌产生明显影响; 也不会改变瘤胃发酵类型。
- 3.3 提高DR, NH₃-N和TVFA浓度下降, pH值升高; 而且对各种挥发性脂肪酸的摩尔浓度有影响。
- 3.4 DR从5.92%提高到17.76%, 没用对瘤胃微生物的NDF消化力产生明显影响。

参考文献

- 1 Harrison D G,A B McAllian. Factors affecting microbial growth yields in the reticulo-rumen. //Y. Ruckebusch and P. Thiven digestion physiology and metabolism in ruminants. AVI Publishing Co. Inc.Wstport, Connecticut,1980.205~226
- 2 Akin D E. Histological and physical factor affecting digestibility of forages, Agron J., 1989,81:17~25
- 3 Joblin. Fermentation of barley straw by anaerobic rumen bacteria and fugi in azenic culture and in co-culture with methangogens.Lett.Appl.Microtiol., 1989,9:195~7
- 4 Gorden G L R, Phillips M W, et al. Revoval of anaerobic fungi from rumen of sheep by chemical treatment and the effect on feed consumption and in vivo fibre digestion. Letters in Applied Microbiology, 1993,17:220~223
- 5 施学仕.不同饲养制度下乳用山羊瘤胃内纤毛虫种群与pH值和氧化还原点位在体内外条件下的变化, 南京农学院研究生论文, 1982
- 6 Joblin. Isolation, Enumeration, and Maintenance of Rumen Anaerobic Fungi in Roll Tube. Applied and Environmental Microbiology, 1981 (12) 1 119~1 122
- 7 毛胜勇.山羊瘤胃及粪便中厌氧真菌的营养作用研究.南京农业大学学位论文, 2001
- 8 孟庆翔.稀释率对活体瘤胃发酵和微生物生长效率的影响, 动物营养学报, 1999, 11 (1) : 10~16
- 9 赵广永.人工唾液对绵羊瘤胃液相平衡、瘤胃发酵和微生物氨合成的影响, 动物营养学报, 1995, 7 (4) : 20~26
- 10 Abe, Kumeno. In vitro simulation of rumen termentation: Apparatus and effects on of dilution rate and continuous dialysis on fermentation and protozoal population, Journal of Animal Sci.,1973,36:941~948
- 11 王加启.瘤胃持续模拟技术的研究.动物营养学报,1995, 7 (1) : 29~35
- 12 Crowford R J, et al. J. Anil.Sci.,1980,51:975
- 13 Hoover W H, et al. J Dairy Sci., 1989,72:2991
- 14 Church Dc. In Digestive physiology and nutrition of ruminants. Digestive physiology. O &.B BOOK.USA, 1976.1
- 15 Hoover P M C R Kincaid, G A Varga,W Vthayne, L L Junkons Jr.Effects of solids and liauid flows on fermentation in continuous cultures. IV.PH and dilution rate. J Anim.Sci., 1984,58:692

(编辑: 孙崎峰, sqf0452@126.com)



:::评论:::

发
表
评
论

[关于我们](#) | [网站导航](#) | [友情连接](#) | [联系我们](#) | [会员须知](#) | [广告服务](#) | [服务条款](#)

版权所有:饲料工业杂志社 Copyright © [Http://www.feedindustry.com.cn](http://www.feedindustry.com.cn) 2004-2005 All Rights 辽ICP备05006846号

饲料工业杂志社地址: 沈阳市皇姑区金沙江街16号6门 邮编: 110036 投稿:E-mail:tg@feedindustry.com.cn 广告: E-mail:ggb@feedindustry.com.cn

编辑一部: (024) 86391926 (传真) 编辑二部: (024) 86391925 (传真) 网络部、发行部: (024) 86391237 总编室: (024) 86391923 (传真)