

# 不同植物细胞壁的体外发酵特征及其对甲烷产生的贡献

张元庆, 魏吉安, 孟庆翔\*

(中国农业大学动物科技学院, 北京 100094)

**摘要:** 采用离子色谱(IC)分析了6种来源植物细胞壁的单糖组成种类及含量,并通过活体外产气量法研究了这6种植物细胞壁的发酵特征及其在反刍动物甲烷形成中的相对贡献。结果表明,不同植物细胞壁的单糖组成种类和数量显著不同。经体外发酵培养后,不同植物细胞壁的72 h产气量(GP)、理论最大产气量(B)、产气速率(C)以及产气延滞期(lag)均存在显著性差异( $P$ 值分别为 $<0.0001$ ,  $<0.0001$ ,  $0.0073$ 和 $0.0002$ )。48 h发酵产生的气体中,甲烷和 $\text{CO}_2$ 含量存在显著差异( $P < 0.0001$ )。其中,以玉米秸细胞壁为底物时,气体中甲烷比例最高(22.21%),而以黑麦草细胞壁为底物时甲烷比例最低(8.94%)。6种来源植物细胞壁培养液中羧甲基纤维素酶( $P = 0.5316$ )和微晶纤维素酶( $P = 0.5063$ )活性差异不显著,而木聚糖酶活性则差异显著( $P = 0.0179$ )。不同来源植物细胞壁发酵产生的总挥发性脂肪酸量(TVFA)存在显著差异( $P = 0.0002$ ),各种挥发性脂肪酸摩尔百分比除丁酸( $P = 0.4680$ )外均存在显著差异( $P < 0.055$ )。不同类型植物细胞壁的单糖组成类型显著不同,其体外发酵特征及其对反刍动物甲烷形成的相对贡献存在显著性差异。

**关键词:** 植物细胞壁;单糖;瘤胃发酵;甲烷

中图分类号: S816.5

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2006)10-0992-07

## The Fermentable Characterization of Different Source Plant Cell Walls and Their Contribution to the Methane Emission in Ruminant Animals *in vitro*

ZHANG Yuan-qing, WEI Ji-an, MENG Qing-xiang\*

(College of Animal Science and Technology,

China Agricultural University, Beijing 100094, China)

**Abstract:** The types and the quantities of monosaccharide consisted in the six different plant cell walls were determined by the ion chromatograph in this experiment. And the ruminal fermentable characterization and the relative contribution to the methane yield in ruminant animals were compared with the six different plant cell walls by incubating them with the ruminal fluid as the method of gas production (Menke and Steingass, 1988). The gas production in 72 h, the maximum gas production, the rate and the lag time of gas production differed greatly among different plant cell walls ( $P$  value were  $<0.0001$ ,  $<0.0001$ ,  $0.0073$  and  $0.0002$ , respectively). The percentage of methane and the carbon dioxide in the gas composition differed significantly ( $P < 0.0001$ ). The activities of CMCase and Avicelase in the fermented fluid had no remarkable difference ( $P = 0.5316$  and  $0.5063$ , respectively) but the xylanase activities were different greatly ( $P = 0.0179$ ). The total volatile fatty acid, the molar percentage of each kind of volatile

收稿日期: 2005-12-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30125033)

作者简介: 张元庆(1979-),女,山西平遥人,博士生,主要从事反刍动物营养研究, Tel: 010-62731268; Fax: 010-62733799; E-mail: yuanqing\_zhang@163.com

\* 通讯作者: 孟庆翔, Tel: 010-62731268; Fax: 010-62733799; E-mail: qxmeng@cau.edu.cn

fatty acid except butyrate ( $P=0.4680$ ) were different significantly ( $P<0.055$ ). It was concluded that the types and the quantities of monosaccharide consist in the six different plant cell walls and their ruminal fermentable characterization and the relative contribution to the methane yield in ruminant differed greatly.

**Key words:** plant cell wall; monosaccharide; rumen fermentation; methane

粗饲料在结构上主要是由植物细胞壁组成。细胞壁的基本成分是纤维素、半纤维素和木质素。单子叶植物和双子叶植物细胞壁中结构性聚合物的组成和分布不同,这势必会影响纤维分解细菌对这些底物的降解<sup>[1]</sup>。许多研究表明,在众多因素中,饲料类型及其摄入量是影响瘤胃产生甲烷的最主要因素,饲喂动物秸秆类粗饲料所产生的甲烷明显多于优质牧草<sup>[2]</sup>。不同植物细胞壁由于其结构性聚合物组成和分布的不同导致的瘤胃微生物降解过程的差异以及由此导致的反刍动物中甲烷产生的差异尚未见报道。同时,反刍动物形成甲烷所需的  $H_2$  主要依赖瘤胃,而微生物分解粗饲料又是  $H_2$  的重要来源。同时,由于植物细胞壁中结构性聚合物的组成结构的分析十分困难,国际上通常采用分析植物细胞壁的单糖组成来反映植物细胞壁中的结构性聚合物的构成情况。因此,本试验采用 6 种不同来源植物细胞壁作为底物,研究瘤胃微生物的发酵情况以及不同植物细胞壁的甲烷产生潜力,为进一步合理开发利用粗饲料和调控反刍动物的甲烷产生提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物细胞壁的制备

将黑麦草(CR)、小麦秸(WH)、玉米秸(CS)、甜菜渣(SBP)、苜蓿(AL)和大豆皮(SH)分别粉碎过 1mm 筛后,每 2.5 g 样本加入 1% 十二烷基硫酸钠(SDS)100 mL 煮沸 1 h。用 4 层纱布过滤,并用自来水反复洗涤以除去细胞内容物和洗涤剂<sup>[3]</sup>。样本采用冷冻干燥机(FD-4,北京博医康实验仪器有限公司生产)冻干 72 h 后,经球磨机球磨 48 h。

### 1.2 植物细胞壁单糖组成分析

称取不同的植物细胞壁 50 mg 置于 50 mL 的具塞玻璃瓶中,加入 1 mL 含肌醇 500 mg/mL(Ino, Novachemo, MBG, 内标)的 72%  $H_2SO_4$  (w/w, AR), 25 °C 水解 1 h。水解完成后,在每个管中加入 28 mL 超纯水(Millipore system), 125 °C 加热 1 h。冷却后,用玻璃坩埚(Whatman GF/D, 47 mm)过

滤、洗涤、并用氨水中和滤液,定容至 50 mL。样本稀释到合适的浓度后,在 4 °C 条件下保存待测<sup>[4,5]</sup>。用离子色谱仪(DINAX 2500; 色谱柱: CarboPac PA20; 检测器: Pulsed Electrochemical Detection)测定单糖组成种类及其数量,测定条件如下: NaOH 浓度分别为 5 mmol/L(单子叶植物)、2 mmol/L 和 10 mmol/L(双子叶植物);流速为 0.38 mL/min;进样量为 25  $\mu$ L。以含有 10 mg/kg 中性单糖:岩藻糖(Fuc, Sigma F-2252)、阿拉伯糖(Ala, Fluka 10840)、半乳糖(Gal, Amresco 0637)、葡萄糖(Glu, Sigma G-8270)、甘露糖(Man, AR)、鼠李糖(Rha, Novachemo)和木糖(Xyl, AR)的溶液作为标准,其中含有肌醇(500 mg/mL)作为内标。单糖标准色谱图如图 1 所示。

### 1.3 试验动物和日粮

瘤胃液的供体动物为 3 头装有永久性瘤胃瘘管的肉用阉牛(鲁西×西门塔尔,体重约为 340 kg)。试验牛限量饲喂,每天饲喂 2 次(08:00 和 16:00),每日饲喂混合精料(由玉米 69.6%,大豆粕 24%,骨粉 2.2%,石粉 1.8%,食盐 1.2%,1% 微量元素-维生素混合料 1.2% 组成)3kg,苜蓿 3kg,玉米秸 4kg。自由饮水。瘤胃液采取前预饲 14 d。

### 1.4 体外产气量试验

试验采用 Menke 和 Steingass<sup>[6]</sup>的活体外产气量法进行培养。将 30 mL 混合培养液加入到经 39 °C 预热的称有 200 mg(DM)不同植物细胞壁的玻璃注射器(100 mL,德国产)中在 39 °C 厌氧培养。

### 1.5 样品的收集和测定

每个处理设 3 个重复,连续进行 72 h 培养,测定 72 h 产气量、消化率及体外发酵参数。在培养结束后,迅速取出培养管并用冰水浴终止发酵,排出培养管中的发酵液,将其离心(8 000 g, 15 min)后,取 1 mL 上清液,加入 25% 偏磷酸溶液 0.2 mL,混匀,冷冻过夜后,10 000 g 离心 15 min,取上清液用气相色谱(SP-3420; 检测器: FID; 色谱柱: PEG-20M, 柱长 2 000 mm、内径 0.3 mm 的玻璃填充柱)进行

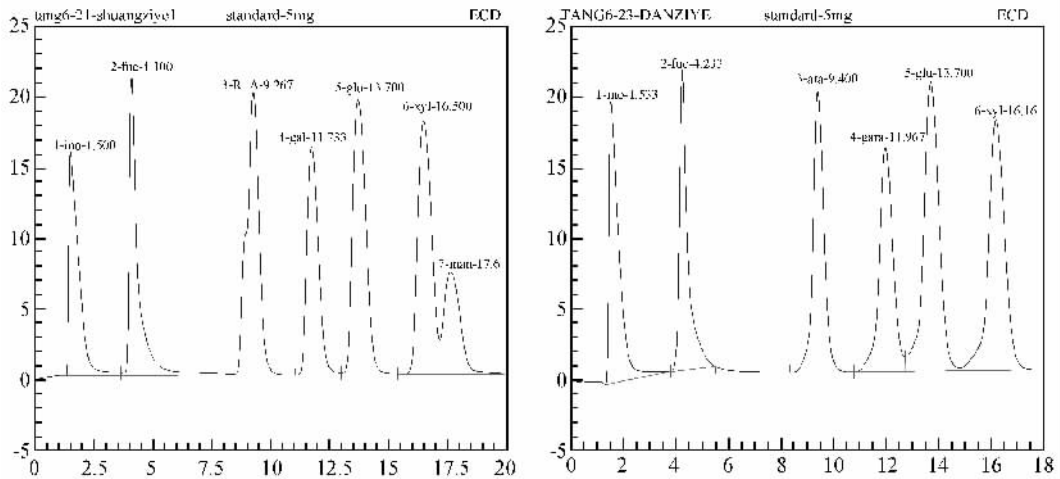


图 1 离子色谱测定单糖的标准谱图,左侧所示为双子叶植物单糖测定(NaOH 流速:2 mmol/L)的标准谱图,右侧所示为单子叶植物单糖测定(NaOH 流速:5 mmol/L)的标准谱图。

Fig. 1 The standard graph of ion chromatography for the monosaccharide determination. The left one is the standard graph for the monosaccharide from dicotyledonous plant cell walls (NaOH flow is 2 mmol/L) and the right one is for the monosaccharide from monocotyledonous plant cell walls (NaOH flow is 5 mmol/L)

VFA 测定,测定条件:柱温 145 °C,进样口温度 200 °C,FID 检测器温度 220 °C,氮气(载气)流速 45 mL/min,氢气流速 35 mL/min,空气流速 250 mL/min,灵敏度 8,衰减 11,进样量 0.6  $\mu$ L<sup>[7]</sup>;另取一部分上清液用于酶活性(羧甲基纤维素酶、微晶纤维素酶和木聚糖酶)测定。酶活测定采用 0.5 mL 上清液与 0.5 mL 含有 1%不同底物(羧甲基纤维素 Sigma C-4888、微晶纤维素 Fluka Ph 101 和木聚糖 Sigma X-0627)的 PBS(0.05 mol/L;pH 7.0)溶液于 39 °C 培养 30 min,测定还原糖的释放量<sup>[8,9]</sup>。离心所得残渣经蒸馏水清洗、离心后测定 DM 消化率。

用气相色谱仪(SP-3420;检测器:TCD;色谱柱:填充柱 TDX-01,测定条件:柱温 120 °C,热丝 190 °C,检测器 150 °C,进样口温度 150 °C,载气为氮气,流速 30 mL/min,进样量,0.1 mL)测定 48 h 各培养管产生气体中 CO<sub>2</sub>、CH<sub>4</sub> 和 H<sub>2</sub> 含量。挥发性脂肪酸和气体组成测定的标准谱图如图 2 所示。

### 1.6 数据处理

采用 SAS(1996)<sup>[10]</sup> 软件中 NON-LINEAR 方法计算动态发酵参数,统计模型为  $GP = B * (1 - \exp(-c * (t - \text{lag})))$ , 式中 GP 代表 t 时间点 0.200 0 g (DM)植物细胞壁的实际产气量(mL);B 为 0.200 0 g 植物细胞壁的理论最大产气量(mL);c 为样本的产气速度(/h);t 为活体外培养时间(h);lag 为产气延滞期(h)。

所有数据以及分析所得的动态发酵参数采用 SAS 的一般线性模型(GLM)的方差分析及邓肯氏新复极差法进行统计分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同植物细胞壁的单糖组成

表 1 中所示为不同植物细胞壁水解后的单糖种类组成情况。从表中可以看出,不同植物细胞壁的单糖种类组成及其含量截然不同。3 种单子叶植物细胞壁中均不含甘露糖,而双子叶植物细胞壁中仅苜蓿细胞壁中不含甘露糖。木糖与葡萄糖的比值(X/C)从小麦秸细胞壁的最高值(0.795)到甜菜渣细胞壁的最低值(0.087)相差甚远。不同来源植物细胞壁单糖种类及数量上的差异反映了构成不同植物细胞壁的结构多糖的差异,这种多糖组成以及随之发生的物理形态上的差异势必会影响到微生物对不同植物细胞壁降解的方式<sup>[1]</sup>。同时,也可能对微生物产生的酶活有一定的诱导作用<sup>[11,12]</sup>。

### 2.2 不同来源植物细胞壁 72 h 活体外动态产气量、动态产气参数、气体组成及其干物质消化率

瘤胃微生物对不同来源植物细胞壁的 72 h 活体外动态产气量曲线如图 3 所示。从图中可以看出,不同来源植物细胞壁的产气量曲线明显不同。通过产气量曲线趋势可以看出,3 种双子叶植物来源细胞壁的产气延滞期均较单子叶植物来源细胞壁短。

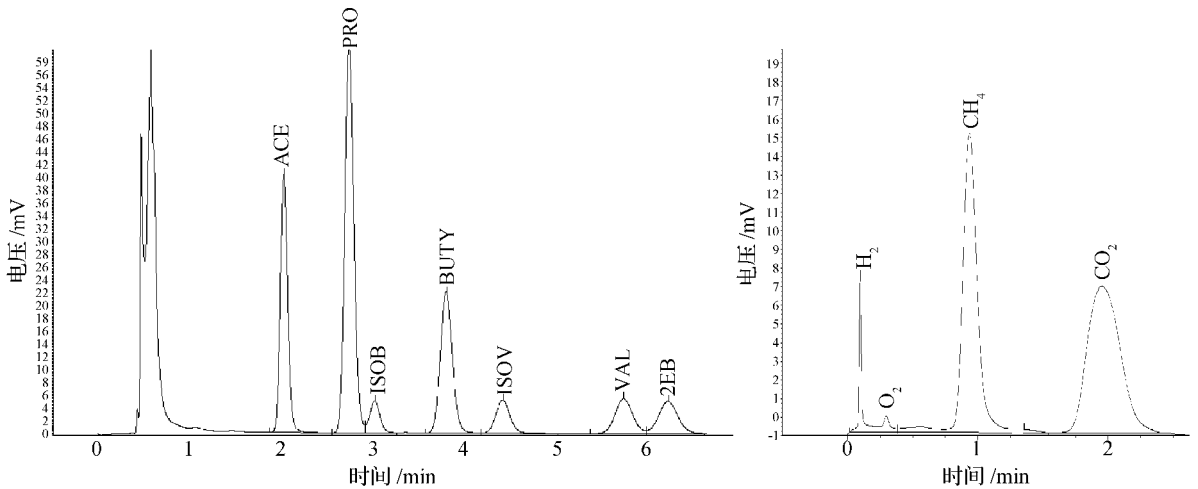


图 2 挥发性脂肪酸和气体组成色谱分析标准谱图，  
左图所示为挥发性脂肪酸的标准谱图，右侧为气体测定标准谱图

Fig. 2 The standard graph of gas chromatography for the determination of volatile fatty acid and gas composition.  
The left one is for the VFA determination and the right one is for the gas composition determination

表 1 不同来源植物细胞壁的单糖种类组成

Table 1 The monosaccharide compositions of different plant cell walls

as % DM

单糖组成 Monosaccharide composition	细胞壁来源 Source of plant cell walls					
	CR	WS	CS	SBP	AL	SH
阿拉伯糖 Arabinose	3.58	2.62	1.97	31.23	9.15	8.50
半乳糖 Galactose	1.35	0.39	1.03	4.81	1.15	2.00
葡萄糖 Glucose	28.01	29.05	31.20	42.40	57.06	51.73
木糖 Xylose	14.40	23.11	12.50	3.69	28.40	15.98
甘露糖 Mannose	0.00	0.00	0.00	1.34	0.00	2.48
总糖 Total	63.1	73.5	62.3	83.5	95.8	80.6
X/C	0.514	0.795	0.401	0.087	0.498	0.307

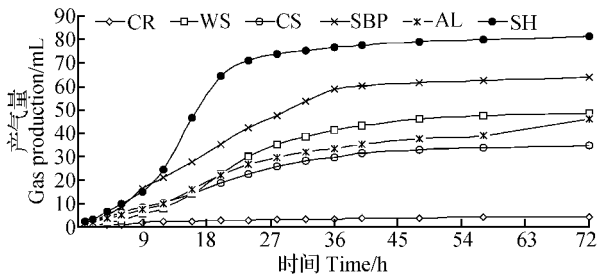
X/C 值代表木糖(Xyl)与葡萄糖(Glu)的含量之比。CR、WS、CS、SBP、AL 和 SH 分别代表黑麦草、小麦秸、玉米秸、甜菜渣、苜蓿和大豆皮

X/C stands for the ratio of xylose content to the glucose content. The CR, WS, CS, SBP, AL and SH are short for the Chinese ryegrass, wheat straw, corn stalk, sugar beat pulp, alfalfa and soy hulls, respectively.

大豆皮来源植物细胞壁的产气速率最快,产气延滞期最小,72 h 产气量最大;而小麦秸来源细胞壁的产气延滞期最大,黑麦草来源细胞壁的产气速率和72 h 产气量最小。图 3 中的动态曲线表明,单子叶植物来源细胞壁的总发酵能力较之双子叶来源植物细胞壁差。将不同时间点产气量经非线性模型拟合统计结果如表 2 所示。从表中可以看出,不同来源植物细胞壁的 72 h 实际产气量( $P < 0.0001$ )、理论最大产气量( $P < 0.0001$ )、产气速率( $P = 0.0073$ )以及产气延滞期( $P = 0.0002$ )均存在显著差异。72 h 实际产气量结果与非线性模型拟合得到的理论最

大产气量结果以及图 3 中的曲线趋势均保持高度一致。这些结果表明,不同类型植物细胞壁的聚合物结构组成会对其发酵潜力产生影响。这一结果与 Varel 等<sup>[1]</sup>提出的植物细胞壁中结构性聚合物的组成和分布不同可能会影响纤维分解细菌对细胞壁的降解结果相一致。

由表 2 中不同植物细胞壁发酵产生气体中  $H_2$ 、 $CH_4$  和  $CO_2$  含量的统计结果可以看出,瘤胃微生物在以不同来源植物细胞壁为底物发酵时产生的气体组分模式不同。6 种植物细胞壁发酵产生的气体组成中,氢气比例差异不显著( $P = 0.3074$ ),而甲烷



CR (◇)、WS (□)、CS (○)、SBP (×)、AL (\*) 和 SH (●) 分别表示黑麦草、小麦秸、玉米秸、甜菜渣、苜蓿和大豆皮。每个点的数据均为 200 mg 底物(干物质)产气量观察值的平均数

CR (◇), WS (□), CS (○), SBP (×), AL (\*) and SH (●) are short for Chinese ryegrass, wheat straw, corn stalk, sugar beat pulp, alfalfa and soy hulls, respectively. Data points represent the mean of three determinations adjusted to the 200 mg dry matter of substrates

图 3 瘤胃微生物对不同球磨植物细胞壁 72 h 体外动态产气量曲线

Fig. 3 Gas production from different mill plant cell walls by ruminal fluid for 72 h in vitro

和二氧化碳的比例则显著不同 ( $P$  值均  $< 0.0001$ )。其中,以小麦秸、玉米秸、苜蓿和大豆皮植物细胞壁为底物发酵时产生的气体中,甲烷比例显著高于以其他两种植物细胞壁为底物时发酵产生的甲烷比例。这一结果与 Moss 等<sup>[2]</sup>提出的饲喂动物秸秆类粗饲料所产生的甲烷明显多于优质牧草所产甲烷相一致。甲烷的比例可能与构成植物细胞壁的多糖结构和类型有关,本研究中分析所得的不同来源植物细胞壁中单糖组成类型及数量上的显著不同(如表 1)反映了其不同聚合物的组成和结构存在差异。

瘤胃微生物对不同来源植物细胞壁 72 h 降解率如图 4 所示。从图中可以看出,大豆皮(SH)具有最大的干物质降解率,甜菜渣(SBP)次之,黑麦草(CR)的干物质消化率最小。这一结果与 72 h 产气量趋势(图 3)以及 72 h 实际产气量和理论最大产气量(表 2)的规律相一致。这一结果进一步证实了不同植物细胞壁中多糖的组成会影响到其消化特征,这表现

表 2 不同植物细胞壁 72 h 体外动态发酵参数及其 48 h 气体组分

Table 2 The dynamic fermentation parameters within 72 h fermented in vitro and the gas composition of different plant cell walls in 48 h as % DM

	CR	WS	CS	SBP	AL	SH	SEM	$P =$
GP /mL	4.3 <sup>e</sup>	48.4 <sup>c</sup>	35.1 <sup>d</sup>	64.0 <sup>b</sup>	46.0 <sup>c</sup>	81.4 <sup>a</sup>	0.86	$< 0.0001$
B /mL	4.1 <sup>e</sup>	61.7 <sup>c</sup>	41.8 <sup>d</sup>	73.6 <sup>b</sup>	55.8 <sup>c</sup>	89.6 <sup>a</sup>	3.10	$< 0.0001$
C /h	0.055 <sup>a</sup>	0.028 <sup>c</sup>	0.034 <sup>bc</sup>	0.038 <sup>abc</sup>	0.027 <sup>c</sup>	0.052 <sup>ab</sup>	0.004	0.0073
Lag /h	0.397 <sup>c</sup>	2.560 <sup>a</sup>	0.769 <sup>b</sup>	1.305 <sup>b</sup>	1.052 <sup>b</sup>	1.712 <sup>b</sup>	0.194	0.0002
H <sub>2</sub> /%	0.054	0.026	0.031	0.056	0.043	0.036	0.010	0.3074
CH <sub>4</sub> /%	8.94 <sup>c</sup>	19.06 <sup>a</sup>	22.21 <sup>a</sup>	15.96 <sup>b</sup>	19.54 <sup>a</sup>	21.53 <sup>a</sup>	0.744	$< 0.0001$
CO <sub>2</sub> /%	91.00 <sup>a</sup>	80.91 <sup>c</sup>	77.76 <sup>c</sup>	83.99 <sup>b</sup>	80.42 <sup>c</sup>	78.44 <sup>c</sup>	0.740	$< 0.0001$

统计模型为  $GP = B * (1 - \exp(-c * (t - lag)))$ , B 为 0.2000 g 植物细胞壁 DM 的理论最大产气量 (mL); c 为样本的产气速度 (/h); t 为活体外培养时间 (h); lag 为产气延滞期 (h)

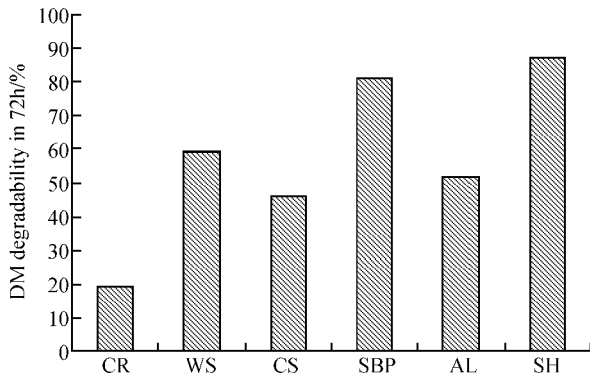
The model used in this experiment is  $GB = B * (1 - \exp(-c * (t - lag)))$ , B stands for the maximum gas production (mL) of 0.2000 g DM plant cell walls, c stands for the rate of gas production (/h), t stands for the time of incubation (h) and the lag stands for the lag time of gas production (h)

在降解率及其降解速率的显著差异上。同时,从这些结果的趋势上也可以看出,双子叶植物细胞壁普遍较单子叶植物细胞壁具有较高的消化潜力。

### 2.3 6 种植物细胞壁的体外发酵参数

6 种植物细胞壁体外发酵产生的总挥发性脂肪酸含量及其组成如表 3 所示。由表 3 可以看出,6 种不同来源植物细胞壁发酵产生的总挥发性脂肪酸含量及其除丁酸含量 ( $P = 0.4680$ ) 外的其他挥发性脂肪酸组分均存在显著性差异 ( $P < 0.0055$ )。其中总挥发性脂肪酸含量与 72 h 实际产气量以及干物

质消化率的规律高度一致,这表明总挥发性脂肪酸产生量可以反映不同来源植物细胞壁的降解潜力。另外,瘤胃中各种挥发性脂肪酸的摩尔百分比比例与产生的气体组成存在高度的相关关系<sup>[13]</sup>,本试验气体组分中甲烷含量较高的玉米秸植物细胞壁,其发酵产生的乙酸摩尔百分比比例最高、丙酸含量和丁酸最低,而甲烷含量最低的黑麦草植物细胞壁的乙酸摩尔百分比比例最低、丁酸含量最高、丙酸含量相对较高,这一结果符合瘤胃中多聚糖的降解代谢途径。有研究证实,瘤胃中产生的丙酮酸代谢途径有两条,



CR、WS、CS、SBP、AL 和 SH 分别表示黑麦草、小麦秸、玉米秸、甜菜渣、苜蓿和大豆皮

CR, WS, CS, SBP, AL and SH are short for Chinese ryegrass, sheat straw, corn stalk, sugar beat pulp, alfalfa and soy hulls, respectively

图 4 6 种不同植物细胞壁体外发酵 72 h 的干物质消化率

Fig. 4 The dry matter degradation of six types of plant cell walls fermented 72 h *in vitro*

表 3 6 种植物细胞壁体外培养 72 h 后上清液中的总挥发性脂肪酸含量、组成及其酶活

Table 3 The total volatile fatty acid, the composition of VFA and the enzymes activities in the fluid fermented with six plant cell walls in 72 h *in vitro*

	CR	WS	CS	SBP	AL	SH	SEM	P=
总挥发性脂肪酸	48.25 <sup>c</sup>	74.02 <sup>b</sup>	71.55 <sup>b</sup>	100.54 <sup>a</sup>	68.73 <sup>b</sup>	99.10 <sup>a</sup>	5.451	0.000 2
乙酸 Acetate	67.87 <sup>c</sup>	69.54 <sup>bc</sup>	74.09 <sup>a</sup>	69.82 <sup>bc</sup>	72.33 <sup>ab</sup>	73.38 <sup>ab</sup>	1.008	0.005 5
丙酸 Propionate	18.59 <sup>b</sup>	20.99 <sup>a</sup>	17.31 <sup>c</sup>	20.44 <sup>a</sup>	18.57 <sup>b</sup>	17.74 <sup>bc</sup>	0.290	<0.000 1
异丁酸 Isobutyrate	1.44 <sup>a</sup>	0.90 <sup>b</sup>	0.82 <sup>b</sup>	0.80 <sup>b</sup>	0.79 <sup>b</sup>	0.78 <sup>b</sup>	0.062	<0.000 1
丁酸 Butyrate	7.60	6.84	6.15	7.15	6.80	6.50	0.509	0.468 0
异丁酸 Isovaluate	2.43 <sup>a</sup>	1.14 <sup>b</sup>	1.08 <sup>b</sup>	0.79 <sup>b</sup>	0.92 <sup>b</sup>	0.96 <sup>b</sup>	0.118	<.000 1
戊酸 Valuate	2.08 <sup>a</sup>	0.60 <sup>c</sup>	0.54 <sup>c</sup>	0.99 <sup>b</sup>	0.58 <sup>c</sup>	0.66 <sup>c</sup>	0.076	<.000 1
羧甲基纤维素酶 CMCase	9.47	12.27	12.43	12.54	10.58	10.58	1.562	0.531 6
微晶纤维素酶 Avicelase	38.10	32.64	36.81	54.16	36.29	41.13	8.547	0.506 3
木聚糖酶 Xylanase	10.63 <sup>ab</sup>	9.68 <sup>ab</sup>	9.61 <sup>ab</sup>	13.20 <sup>a</sup>	13.46 <sup>a</sup>	7.86 <sup>b</sup>	1.179	0.017 9

总挥发酸的单位为 mmol/L,其他各种挥发酸为摩尔百分比;酶活单位为: nmol/(mL·min);同一行数字肩标不同表示差异显著

The units of volatile fatty acid and the enzyme activity are mmol/L and nmol/(mL·min), respectively; the numbers with different letter in the same line are different significantly

构存在差异,同时也意味着细胞壁之间的物理性质存在一定差异,这些差异会对植物细胞壁的发酵潜力产生影响。总体上来讲,单子叶植物细胞壁的单糖组成较双子叶植物相对简单,且单子叶植物细胞壁的发酵潜力较差,体外发酵延滞期相对较长。小麦秸、玉米秸、苜蓿和大豆皮植物细胞壁对体外发酵产生甲烷的潜力相对较大。然而,植物细胞壁的木

一条代谢终产物为甲烷,另一条则为丙酸,因此,瘤胃中由丙酮酸代谢产生的丙酸产量与甲烷产量之间存在负相关关系<sup>[14]</sup>。

表 3 中结果表明,6 种细胞壁培养上清液中的羧甲基纤维素酶(CMCCase)和微晶纤维素酶(Avicelase)活性之间差异不显著( $P=0.531 6$ 和 $0.506 3$ ),但是木聚糖酶(Xylanase)活性差异显著( $P=0.017 9$ )。由细菌和真菌产生的木聚糖酶通常是诱导型的<sup>[11]</sup>,本试验中木聚糖含量最高的小麦秸植物细胞壁的发酵培养液的上清液中,木聚糖酶活性较低( $9.68 \text{ nmol}/(\text{mL} \cdot \text{min})$ ),而在木聚糖含量相对最低的甜菜渣细胞壁的发酵培养液的上清液中,木聚糖活性则最高( $13.20 \text{ nmol}/(\text{mL} \cdot \text{min})$ ),因此,本试验结论不符合木聚糖酶的诱导和抑制机理<sup>[11]</sup>。

### 3 结 论

6 种植物细胞壁中的单糖种类与含量存在明显的差异,反映了这几种植物细胞壁的多糖聚合物结

聚糖含量不同对瘤胃微生物体外发酵产生的木聚糖酶不具有诱导和抑制性的影响。在反刍动物生产中,选用发酵潜力大、对瘤胃甲烷产生贡献较小的植物细胞壁,或通过植物育种选育植物细胞壁多糖结构和组成更加理想的植物新品种,将有助于减少反刍动物产生的甲烷对环境造成的负面影响以及能源的浪费。

## 参考文献:

- [1] Varel V H, Richardson A J, Stewart C S. Degradation of barley straw, ryegrass, and alfalfa cell walls by *Clostridium longisporum* and *Ruminococcus albus* [J]. Appl Environ Microbiol, 1989, 55 (12): 3 080 ~ 3 084.
- [2] Moss A R, Jouany J P, Newbold J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming [J]. Annal Zootech, 2000, 49: 231~253.
- [3] 高 巍, 孟庆翔. 瘤胃细菌、原虫和真菌降解植物细胞壁的相对贡献及其互作[J]. 中国农业大学学报, 2003, 8(5): 98~104.
- [4] Bourquin L D, Garleb K A, Merchen N R, *et al.* Effects of intake and forage level on site and extent of digestion of plant cell wall monomeric components by sheep[J]. J Anim Sci, 1990, 68(8): 2 479~2 495.
- [5] Matsui H, Ushida K, Miyazaki K, *et al.* Use of ratio of digested xylan to digested cellulose (X/C) as an index of fiber digestion in plant cell-wall material by ruminal microorganisms [J]. Anim Feed Sci Technol, 1998, 71(3-4): 207~215.
- [6] Menke K H, Steingass H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid[J]. Anim Res Dev, 1988, 28, 7~55.
- [7] Erwin E S, Marco G J, Emery E M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography[J]. J Dairy Sci, 1961, 44, 1 768~1 771.
- [8] Christel B M, Ribot Y, Forano E. Fiber-degrading systems of different strains of the genus *Fibrobacter* [J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70 (4): 2 172~2 179.
- [9] Miller J L, Blum R, Glennon W E, *et al.* Measurement of carboxymethyl cellulase activity[J]. Anal Biochem, 1960, 1: 127~132.
- [10] SAS Institute. User's guide: statistics[M]. version 6 editions. SAS Institute. Inc., Cary, N. C. 1996.
- [11] Kulkarni N, Shendye A, Rao M. Molecular and biotechnological aspects of xylanase[J]. FEMS Microb Rev, 1999, 23(4): 411~456.
- [12] 朱崇森, 毛胜勇, 孙云章, 等. 产木聚糖厌氧真菌菌株筛选及产酶培养条件研究[J]. 微生物学通报, 2004, 31(3): 11~15.
- [13] Wolin M J, Miller T L, Stewart C S. Microbe-microbe interactions[A]. In: Hobson P N (edt.) The rumen microbial ecosystem[M]. Blackie Academic & Professional. 1997.
- [14] Chesson A, Forsberg C W. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms [A]. In: Hobson P N (edt.) The rumen microbial ecosystem[M]. Blackie Academic & Professional. 1997.

## 动物疫情速递

### 法国发生蓝舌病

2006年8月31日法国向OIE报告了蓝舌病疫情情况,这是该地区首次报道此病。阿登省 Brognon 的一个奶牛群暴发一起蓝舌病,疫情始于2006年8月28日,于8月30日首次确认,属于临床病例,1头2岁牛出现临床症状。病原为蓝舌病病毒,血清型待定。疫情涉及96头疑似动物,1例病例。诊断包括临床诊断和实验室诊断。实验室诊断由设在 Montpellier 的法国农业国际发展研究中心(CIRAD-EMVT)和设在 Maisons-Alfort 的动物病理学及动物传染病调查研究实验室负责,手段为 ELISA、PCR。传染源为带毒者。采取的措施:国内限制移动、筛查、区域化和控制节肢动物。