

# 不同非纤维性碳水化合物与中性洗涤纤维比例 饲料中添加酿酒酵母对绵羊体外瘤胃发酵的影响

郑玮才<sup>1</sup> 郝小燕<sup>1</sup> 张春香<sup>1</sup> 项斌伟<sup>2</sup> 张文佳<sup>2</sup> 温灏宇<sup>3</sup> 张建新<sup>1\*</sup>

(1.山西农业大学动物科技学院,太谷 030801;2.山西省右玉县畜牧局,右玉 037200;

3.西北农林科技大学动物科技学院,杨凌 712100)

**摘要:** 本试验旨在研究不同非纤维性碳水化合物与中性洗涤纤维比例(NFC/NDF)饲料中添加酿酒酵母对绵羊体外瘤胃发酵的影响。试验采用3×5双因子试验设计,在3种NFC/NDF[0.79(A1)、0.89(A2)和1.10(A3)]饲料中添加5种水平[0(B1)、 $2 \times 10^{11}$ (B2)、 $4 \times 10^{11}$ (B3)、 $6 \times 10^{11}$ (B4)和 $8 \times 10^{11}$  CFU/kg(B5)]的酿酒酵母,制成15种发酵底物,测定体外发酵48 h后的产气参数、甲烷(CH<sub>4</sub>)产量、瘤胃发酵指标和养分降解率。结果表明:1)饲料 NFC/NDF 和酿酒酵母添加量对24、48 h 累积产气量和产气参数均产生了显著影响( $P < 0.05$ ),二者的交互作用对24、48 h 累积产气量的影响显著( $P < 0.05$ ),对产气参数的影响不显著( $P > 0.05$ )。2)饲料 NFC/NDF 和酿酒酵母添加量及二者的交互作用对 CH<sub>4</sub> 产量的影响均不显著( $P > 0.05$ );随着饲料 NFC/NDF 的增加,体外发酵液中总挥发性脂肪酸(TVFA)和丙酸浓度逐渐增加,乙酸、丁酸浓度和乙丙比逐渐降低。酿酒酵母添加量为  $6 \times 10^{11}$  CFU/kg 时,体外发酵液中 TVFA 和丙酸浓度最高,乙酸浓度和乙丙比最低,该组乙酸浓度显著低于 B1、B2、B5 组( $P < 0.05$ ),乙丙比显著低于 B1、B3、B5 组( $P < 0.05$ )。饲料 NFC/NDF 与酿酒酵母添加量的交互作用对 CH<sub>4</sub> 产量以及体外发酵液中 TVFA、乙酸、丙酸、丁酸浓度和乙丙比均无显著影响( $P > 0.05$ )。3)随着饲料 NFC/NDF 的增加,体外发酵液 pH 和氨态氮(NH<sub>3</sub>-N)浓度逐渐降低,均表现为 A1 组显著高于 A2、A3 组( $P < 0.05$ );饲料 NFC/NDF 为 0.89 时体外发酵液微生物蛋白(MCP)浓度最高,显著高于饲料 NFC/NDF 为 0.79 和 1.10 时( $P < 0.05$ )。酿酒酵母添加量对体外发酵液 NH<sub>3</sub>-N 和 MCP 浓度的影响显著( $P < 0.05$ ),酿酒酵母添加量为  $6 \times 10^{11}$  CFU/kg 时 NH<sub>3</sub>-N 浓度最低,MCP 浓度最高。饲料 NFC/NDF 与酿酒酵母添加量的交互作用对体外发酵液 pH 无显著影响( $P > 0.05$ ),但对体外发酵液 NH<sub>3</sub>-N 和 MCP 浓度有显著影响( $P < 0.05$ )。4)饲料 NFC/NDF 对发酵底物干物质降解率(DMD)、中性洗涤纤维降解率(NDFD)和酸性洗涤纤维降解率(ADFD)均有显著影响( $P < 0.05$ ),而酿酒酵母添加量对除 NDFD 之外的其他指标均有显著影响( $P < 0.05$ ),二者的交互作用对 DMD 有显著影响( $P < 0.05$ )。综上所述,饲料 NFC/NDF 和酿酒酵母添加量以及二者的交互作用均会影响绵羊瘤胃体外发酵,饲料中添加适量酿酒酵母可以促进体外瘤胃发酵,稳定发酵液 pH,提高饲料的利用率。整体来看,饲料 NFC/NDF 为 0.89 或 1.10、酿酒酵母添加量为  $6 \times 10^{11}$  CFU/kg 时对绵羊体外瘤胃发酵的促进效果最好。

**关键词:** 非纤维性碳水化合物与中性洗涤纤维比例;酿酒酵母;绵羊;体外瘤胃发酵

中图分类号:S816

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2019)11-5354-13

收稿日期:2019-04-15

基金项目:国家重点研发计划(2018YFD0502104);国家肉羊产业技术体系专项(CARS-38);山西省1331工程建设项目;山西省基础研究计划项目(201801D221291)

作者简介:郑玮才(1995—),女,山西临汾人,硕士研究生,从事饲料资源开发和利用。E-mail: 928156387@qq.com

\*通信作者:张建新,教授,博士生导师,E-mail: ypzjx@126.com

目前,益生菌作为能够替代抗生素并能有效调控瘤胃发酵的饲料添加剂成为人们研究的热点。有研究表明,酵母类微生态制剂可以加速瘤胃微生物区系的建立、促进瘤胃发育以及调控瘤胃 pH<sup>[1-3]</sup>。酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*, *S. cerevisiae*)作为常用的酵母类微生态制剂,具有提高营养物质利用率、改善瘤胃发酵、增强免疫力、提高反刍动物生产性能等作用<sup>[4-5]</sup>。饲料非纤维性碳水化合物与中性洗涤纤维比例(NFC/NDF)是影响对反刍动物瘤胃发酵和营养物质代谢的重要因素,饲料添加剂对瘤胃发酵的影响受饲料 NFC/NDF 的影响<sup>[6]</sup>,因此酿酒酵母的添加量和饲料 NFC/NDF 可能会在瘤胃发酵过程中产生一定的交互作用。本试验拟在不同 NFC/NDF 饲料中添加不同水平的酿酒酵母,通过体外发酵试验,研究不同 NFC/NDF 饲料条件下添加酿酒酵母对绵

羊体外瘤胃发酵的影响,以期为酿酒酵母在肉羊饲料中的合理添加提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 发酵底物

试验采用 3×5 双因子试验设计,在 3 种 NFC/NDF[0.79(A1)、0.89(A2)和 1.10(A3)]饲料中添加 5 个水平[0(B1)、 $2 \times 10^{11}$ (B2)、 $4 \times 10^{11}$ (B3)、 $6 \times 10^{11}$ (B4)和  $8 \times 10^{11}$  CFU/kg(B5)]的酿酒酵母(购于安琪酵母股份有限公司,为颗粒状制剂,实测活菌数为  $2 \times 10^{10}$  CFU/g),制成 15 种饲料,作为体外瘤胃发酵试验的发酵底物。3 种不同 NFC/NDF 饲料均参考 NRC(2007)绵羊营养需要中体重 40 kg、日增重 100 g 公羔的营养需要配制,其组成及营养水平见表 1。

表 1 不同 NFC/NDF 饲料组成及营养水平(干物质基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of diets with different NFC/NDF (DM basis)

%

项目 Items	非纤维性碳水化合物与中性洗涤纤维比例 NFC/NDF		
	0.79 (A1)	0.89 (A2)	1.10 (A3)
原料 Ingredients			
玉米 Corn	22.00	28.50	32.50
麸皮 Wheat bran	4.00	7.50	13.50
豆粕 Soybean meal	9.00	9.00	9.00
预混料 Premix <sup>1)</sup>	5.00	5.00	5.00
玉米秸秆 Corn straw	32.00	29.50	30.00
苜蓿干草 Alfalfa hay	28.00	20.50	10.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels <sup>2)</sup>			
干物质 DM	90.91	90.64	90.17
粗蛋白质 CP	10.55	11.31	11.42
粗灰分 Ash	15.18	14.17	11.85
粗脂肪 EE	2.29	2.15	2.24
中性洗涤纤维 NDF	45.27	41.54	35.36
酸性洗涤纤维 ADF	28.25	26.06	24.18
非纤维性碳水化合物 NFC	35.68	36.89	39.01
钙 Ca	0.36	0.32	0.28
磷 P	0.27	0.30	0.32

<sup>1)</sup> 预混料为每千克饲料提供 Premix provided the following for per kg of diets; Cu (as copper sulfate) 15 mg, Fe (as ferrous sulfate) 55 mg, Mn (as manganese sulfate) 40 mg, Se (as sodium selenite) 0.3 mg, I (as potassium iodide) 0.5 mg, Co 0.2 mg, VA 20 000 IU, VD 4 000 IU, VE 400 IU。

<sup>2)</sup> 营养水平均为实测值。Nutrient levels were measured values.

## 1.2 试验动物及瘤胃液采集

本试验选取3只体重(40.05±1.90) kg且安装永久性瘤胃瘘管的杜泊×小尾寒羊杂交F1代阉割肉用公绵羊作为瘤胃液供体动物,单栏饲养。试验羊饲喂 NFC/NDF 为 0.89 的饲料,制成颗粒型全混合日粮(TMR)后饲喂,饲喂量为 1.5 kg/(只·d)。每天 07:00、19:00 各饲喂 1 次,自由采食、饮水。试验羊饲喂 10 d 后,晨饲前分别采集 3 只供体羊的瘤胃液,4 层纱布迅速过滤,将滤液装入充满二氧化碳且温度为 39 ℃ 的保温瓶中备用。

## 1.3 体外培养

本试验根据 Menke 等<sup>[7]</sup>方法并结合体外消化袋技术进行体外发酵试验。

### 1.3.1 体外培养液

将滤液与人工唾液<sup>[7]</sup>以 1:2 的体积比均匀混合,放于已预热的分液装置(Fortuna Polifix,德国)中,始终保持 39 ℃ 恒温并持续通入二氧化碳。

### 1.3.2 发酵准备及培养

于体外发酵前称取发酵底物 0.200 0 g(干物质基础),装入专用的尼龙小袋(35 mm×75 mm,孔径 38~40 μm)内,每个底物 6 个测定袋,3 个校正袋。随后将测定袋小心放入 100 mL 的玻璃注射器(Haberle,德国)内,并加入 30 mL 培养液,排尽玻璃注射器内的气体,记录初始刻度值(mL)。然后将玻璃注射器置于 39 ℃ 恒温振荡水浴箱中振荡培养 48 h,试验重复 3 次。

## 1.4 样品采集与指标测定

### 1.4.1 样品采集

分别于体外发酵开始前(0)以及体外发酵 3、6、9、12、18、24、36 和 48 h 时读取注射器活塞所处刻度值,并记录。体外发酵 48 h 后,将玻璃注射器放入冰水浴中终止发酵。收集发酵液,立即用 PHS-3G 型 pH 计测定 pH,发酵液分装后-20 ℃ 保存,用于测定各挥发性脂肪酸(VFA)、氨态氮(NH<sub>3</sub>-N)和微生物蛋白(MCP)的浓度。取出尼龙小袋用冷水反复清洗,随后于 105 ℃ 烘箱中烘 48 h,测定干物质(DM)、酸性洗涤纤维(ADF)和中性洗涤纤维(NDF)含量。

### 1.4.2 CH<sub>4</sub> 产量和瘤胃发酵指标的测定

利用气相色谱仪(Aglient 7890B,美国)测定体外发酵 48 h 后甲烷(CH<sub>4</sub>)产量<sup>[8]</sup>。体外发酵 48 h 后测定发酵液中瘤胃发酵指标:参考 Wang

等<sup>[9]</sup>方法利用气相色谱仪(Aglient 7890B,美国)测定各 VFA 和总挥发性脂肪酸(TVFA)浓度;参照亚硝基铁氰化钠-次氯酸钠比色法并利用紫外分光光度计(UV-1800PC,Mapada,上海)测定 NH<sub>3</sub>-N 浓度<sup>[10]</sup>;利用考马斯亮蓝 G-250 作为指示剂使用比色法进行 MCP 浓度的测定<sup>[11]</sup>。

参考 AOAC (2012)<sup>[12]</sup>方法测定试验样品的 DM、粗灰分(Ash)、粗脂肪(EE)和粗蛋白质(CP)含量,利用 ANKOM A200i 型半自动分析仪并参考 Van Soest 等<sup>[13]</sup>的方法测定 ADF 和 NDF 含量,采用原子吸收分光光度计(AA-7020,EWAI,北京)测定钙(Ca)含量<sup>[14]</sup>,采用紫外分光光度计测定磷(P)含量<sup>[15]</sup>。

### 1.4.3 累积产气量和产气参数的计算

某时间点累积产气量(发酵底物 0.200 0 g)  
(mL)=该时间内产气量(mL)-对应时间内  
3 支空白管平均产气量(mL)。

采用以下动态发酵参数模型<sup>[16]</sup>计算产气参数:

$$GP = a + b(1 - \exp^{-ct})$$

式中:GP 为 t 时间点累积产气量(mL);a 为快速发酵部分产气量(mL);b 为慢速发酵部分产气量(mL);c 为产气速率(%/h);a+b 为潜在产气量(mL)。根据非线性最小二乘法原理,求 a、b 和 c 值。

### 1.4.4 养分降解率的计算

体外发酵 48 h 后,发酵底物 DM 降解率(DMD)、ADF 降解率(ADFD)和 NDF 降解率(NDFD)的计算公式如下:

$$\text{发酵底物某养分降解率}(\%) = \left[ \frac{(\text{发酵底物中该养分含量} - \text{底物残渣中该养分含量})}{\text{发酵底物中该养分含量}} \right] \times 100$$

## 1.5 数据处理与分析

试验数据采用 Excel 2010 进行初步整理,然后采用 SPSS 22.0 软件进行双因素方差分析,差异显著时,采用 Tukey 法(方差齐时)或 Tamhane 法(方差不齐时)进行多重比较, $P < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同 NFC/NDF 饲料中添加酿酒酵母对体外发酵产气量和产气参数的影响

由表 2 可知,随着饲料 NFC/NDF 的增加,24、48 h 累积产气量和产气速率均显著增加( $P <$

0.05),快速发酵部分、慢速发酵部分和潜在产气量呈降低趋势。随着酿酒酵母添加量的增加,24、48 h 累积产气量以及快速发酵部分产气量、慢速发酵部分产气量和产气速率均先升高后降低,并

在 B4 组达到最大值;潜在产气量则表现为添加酿酒酵母的 4 个组(B2、B3、B4、B5 组)之间差异不显著( $P>0.05$ ),但均显著高于未添加酿酒酵母的 B1 组( $P<0.05$ )。

表 2 不同 NFC/NDF 饲料添加酿酒酵母对体外发酵产气量和产气参数的影响

Table 2 Effects of *S. cerevisiae* supplementation in diets with different NFC/NDF on gas production and gas parameters of *in vitro* fermentation

非纤维性碳水化合物与中性洗涤纤维比例 NFC/NDF	酿酒酵母添加量 <i>S. cerevisiae</i> supplemental level	24 h 累积产气量 GP <sub>24 h</sub> /mL	48 h 累积产气量 GP <sub>48 h</sub> /mL	快速发酵部分产气量 GP of rapidly degraded fraction/mL	慢速发酵部分产气量 GP of slowly degraded fraction/mL	潜在产气量 Potential GP/mL	产气速率 GP rate/(mL/%)
A1 (0.79)	B1(0)	46.500	67.167	1.418 <sup>abcde</sup>	97.154 <sup>ab</sup>	98.572 <sup>a</sup>	0.032 <sup>fg</sup>
	B2(2×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	49.500	71.000	1.498 <sup>abcd</sup>	96.938 <sup>abc</sup>	98.437 <sup>a</sup>	0.031 <sup>g</sup>
	B3(4×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	51.333	72.667	1.289 <sup>bcde</sup>	97.409 <sup>ab</sup>	98.698 <sup>a</sup>	0.031 <sup>g</sup>
	B4(6×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	54.000	75.667	1.059 <sup>cdefg</sup>	98.526 <sup>a</sup>	99.586 <sup>a</sup>	0.033 <sup>fg</sup>
	B5(8×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	52.333	73.000	1.153 <sup>bcdef</sup>	97.793 <sup>a</sup>	98.946 <sup>a</sup>	0.032 <sup>fg</sup>
A2 (0.89)	B1(0)	52.833	76.000	0.993 <sup>defg</sup>	94.336 <sup>cd</sup>	95.430 <sup>bc</sup>	0.034 <sup>ef</sup>
	B2(2×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	53.667	78.333	1.588 <sup>abc</sup>	96.994 <sup>abc</sup>	98.582 <sup>a</sup>	0.033 <sup>fg</sup>
	B3(4×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	55.000	79.000	1.699 <sup>ab</sup>	96.021 <sup>abcd</sup>	97.720 <sup>ab</sup>	0.034 <sup>ef</sup>
	B4(6×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	59.000	83.000	1.899 <sup>a</sup>	97.140 <sup>abc</sup>	99.039 <sup>a</sup>	0.037 <sup>cd</sup>
	B5(8×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	56.500	81.000	1.654 <sup>ab</sup>	96.750 <sup>abc</sup>	98.404 <sup>a</sup>	0.036 <sup>de</sup>
A3 (1.03)	B1(0)	58.667	80.667	0.533 <sup>gh</sup>	85.585 <sup>c</sup>	86.118 <sup>d</sup>	0.036 <sup>de</sup>
	B2(2×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	58.833	81.333	0.679 <sup>gh</sup>	93.163 <sup>d</sup>	93.841 <sup>c</sup>	0.038 <sup>cd</sup>
	B3(4×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	61.000	84.000	0.861 <sup>efg</sup>	94.443 <sup>bcd</sup>	95.304 <sup>bc</sup>	0.038 <sup>c</sup>
	B4(6×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	66.333	85.667	1.280 <sup>bcde</sup>	95.637 <sup>abcd</sup>	96.917 <sup>ab</sup>	0.043 <sup>a</sup>
	B5(8×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	62.167	83.667	0.860 <sup>h</sup>	94.701 <sup>bcd</sup>	94.897 <sup>bc</sup>	0.041 <sup>b</sup>
非纤维性碳水化合物与中性洗涤纤维比例 NFC/NDF	A1(0.79)	50.733 <sup>c</sup>	71.900 <sup>c</sup>	1.567 <sup>a</sup>	97.564 <sup>a</sup>	98.848 <sup>a</sup>	0.032 <sup>c</sup>
	A2(0.89)	55.400 <sup>b</sup>	79.467 <sup>b</sup>	1.284 <sup>b</sup>	96.248 <sup>b</sup>	97.835 <sup>a</sup>	0.035 <sup>b</sup>
	A3(1.03)	61.400 <sup>a</sup>	83.067 <sup>a</sup>	0.728 <sup>c</sup>	92.706 <sup>c</sup>	93.434 <sup>b</sup>	0.039 <sup>a</sup>
酿酒酵母添加量 <i>S. cerevisiae</i> supplemental level	B1(0)	52.667 <sup>c</sup>	74.611 <sup>d</sup>	0.981 <sup>b</sup>	92.359 <sup>b</sup>	93.373 <sup>b</sup>	0.034 <sup>b</sup>
	B2(2×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	54.000 <sup>d</sup>	76.889 <sup>c</sup>	1.255 <sup>ab</sup>	95.698 <sup>a</sup>	98.514 <sup>a</sup>	0.034 <sup>b</sup>
	B3(4×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	55.778 <sup>c</sup>	78.556 <sup>b</sup>	1.283 <sup>ab</sup>	95.958 <sup>a</sup>	97.241 <sup>a</sup>	0.035 <sup>b</sup>
	B4(6×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	59.778 <sup>a</sup>	81.444 <sup>a</sup>	1.413 <sup>a</sup>	97.101 <sup>a</sup>	96.953 <sup>a</sup>	0.038 <sup>a</sup>
	B5(8×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	57.000 <sup>b</sup>	79.222 <sup>b</sup>	1.031 <sup>ab</sup>	96.415 <sup>a</sup>	97.446 <sup>a</sup>	0.036 <sup>a</sup>
SEM		0.157	0.156	0.045	0.231	0.239	0.001
P 值	A	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
P-value	B	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	A×B	0.129	0.102	0.011	<0.001	<0.001	<0.001

A:非纤维性碳水化合物与中性洗涤纤维比例;B:酿酒酵母添加量。同列数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著( $P>0.05$ ),不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。下表同。

A: NFC/NDF; B: *S. cerevisiae* supplemental level. In the same column, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ( $P>0.05$ ), while with different small letter superscripts mean significant difference ( $P<0.05$ ). The same as below.

饲料 NFC/NDF 与酿酒酵母添加量的交互作用对 24、48 h 累积产气量无显著影响 ( $P>0.05$ ), 对快速发酵部分、慢速发酵部分、潜在产气量和产气速率有显著影响 ( $P<0.05$ )。

## 2.2 不同 NFC/NDF 饲料中添加酿酒酵母对 $\text{CH}_4$ 产量和体外发酵液中 VFA 浓度的影响

由表 3 可知, 饲料 NFC/NDF 和酿酒酵母添加量对  $\text{CH}_4$  产量的影响均不显著 ( $P>0.05$ )。随着饲料 NFC/NDF 的增加, TVFA 浓度逐渐增加, A2、A3 组显著高于 A1 组 ( $P<0.05$ ); 乙酸浓度逐渐减少, A1 组显著高于 A3 组 ( $P<0.05$ ), A2 组与 A1、A3 组差异不显著 ( $P>0.05$ ); 丙酸浓度逐渐增加, A2、A3 组显著高于 A1 组 ( $P<0.05$ ); 乙丙比逐渐

降低, A1 组显著高于 A2、A3 组 ( $P<0.05$ )。随着酿酒酵母添加量的增加, TVFA、丙酸浓度先升后降, 均以 B4 组为最高, 其中 TVFA 浓度显著高于 B1、B2、B3 组 ( $P<0.05$ ), 丙酸浓度显著高于 B1、B2、B3、B5 组 ( $P<0.05$ ); 乙酸浓度和乙丙比均以 B4 组为最低, 其中乙酸浓度显著低于 B1、B2、B5 组 ( $P<0.05$ ), 乙丙比显著低于 B1、B3、B5 组 ( $P<0.05$ ); 酿酒酵母添加量对丁酸浓度未产生显著影响 ( $P>0.05$ )。

饲料 NFC/NDF 与酿酒酵母添加量的交互作用对  $\text{CH}_4$  产量以及体外发酵液中 TVFA、乙酸、丙酸、丁酸浓度和乙丙比均无显著影响 ( $P>0.05$ )。

表 3 不同 NFC/NDF 饲料添加酿酒酵母对  $\text{CH}_4$  产量和体外发酵液中 VFA 浓度的影响

Table 3 Effects of *S. cerevisiae* supplementation in diets with different NFC/NDF on  $\text{CH}_4$  production and volatile fatty acid concentrations in *in vitro* fermentation fluid

非纤维性碳水化合物与中性洗涤纤维比例 NFC/NDF	酿酒酵母添加量 <i>S. cerevisiae</i> supplemental level	甲烷产量 $\text{CH}_4$ production/ mL	总挥发性脂肪酸 TVFA/ (mmol/L)	乙酸 Acetate/ (mmol/L)	丙酸 Propionate/ (mmol/L)	丁酸 Butyrate/ (mmol/L)	乙丙比 Acetate/ propionate
A1 (0.79)	B1 (0)	10.555	69.712	44.110	10.645	6.281	4.145
	B2 ( $2 \times 10^{11}$ CFU/kg)	11.806	69.304	45.806	10.838	6.352	4.226
	B3 ( $4 \times 10^{11}$ CFU/kg)	12.415	70.025	46.789	10.983	6.482	4.266
	B4 ( $6 \times 10^{11}$ CFU/kg)	12.582	70.974	46.777	11.070	6.705	4.226
	B5 ( $8 \times 10^{11}$ CFU/kg)	11.138	71.745	47.755	11.027	6.248	4.331
A2 (0.89)	B1 (0)	11.595	69.456	44.689	11.030	5.868	4.053
	B2 ( $2 \times 10^{11}$ CFU/kg)	12.309	70.376	44.694	11.280	6.002	3.962
	B3 ( $4 \times 10^{11}$ CFU/kg)	14.219	72.226	45.985	11.468	6.132	4.020
	B4 ( $6 \times 10^{11}$ CFU/kg)	12.663	73.105	46.103	12.102	6.125	3.803
	B5 ( $8 \times 10^{11}$ CFU/kg)	13.469	72.829	46.521	11.578	6.181	4.019
A3 (1.10)	B1 (0)	13.413	69.856	44.387	10.922	5.716	4.066
	B2 ( $2 \times 10^{11}$ CFU/kg)	13.524	71.193	44.504	10.999	5.780	4.047
	B3 ( $4 \times 10^{11}$ CFU/kg)	14.351	72.677	45.415	11.366	5.848	4.017
	B4 ( $6 \times 10^{11}$ CFU/kg)	13.462	75.316	45.111	11.576	5.864	3.897
	B5 ( $8 \times 10^{11}$ CFU/kg)	13.912	73.378	45.762	11.180	5.897	4.094
非纤维性碳水化合物与中性洗涤纤维比例 NFC/NDF	A1 (0.79)	11.699	70.352 <sup>b</sup>	46.247 <sup>a</sup>	10.913 <sup>b</sup>	6.414 <sup>a</sup>	4.239 <sup>a</sup>
	A2 (0.89)	12.851	71.598 <sup>a</sup>	45.598 <sup>ab</sup>	11.197 <sup>a</sup>	6.061 <sup>b</sup>	4.024 <sup>b</sup>
	A3 (1.03)	13.732	72.464 <sup>a</sup>	45.036 <sup>b</sup>	11.491 <sup>a</sup>	5.821 <sup>c</sup>	3.971 <sup>b</sup>

续表 3

非纤维性碳水化合物与中性洗涤纤维比例 NFC/NDF	酿酒酵母添加量 <i>S. cerevisiae</i> supplemental level	甲烷产量 CH <sub>4</sub> production/ mL	总挥发性 脂肪酸 TVFA/ (mmol/L)	乙酸 Acetate/ (mmol/L)	丙酸 Propionate/ (mmol/L)	丁酸 Butyrate/ (mmol/L)	乙丙比 Acetate/ propionate
酿酒酵母 添加量	B1(0)	11.854	69.675 <sup>c</sup>	46.679 <sup>a</sup>	10.865 <sup>c</sup>	5.955	4.088 <sup>a</sup>
<i>S. cerevisiae</i> supplemental level	B2(2×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	12.546	70.291 <sup>c</sup>	46.102 <sup>a</sup>	11.039 <sup>bc</sup>	6.045	4.078 <sup>ab</sup>
	B3(4×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	13.662	71.643 <sup>b</sup>	45.001 <sup>b</sup>	11.252 <sup>b</sup>	6.154	4.101 <sup>a</sup>
	B4(6×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	12.902	73.098 <sup>a</sup>	44.395 <sup>b</sup>	11.583 <sup>a</sup>	6.231	3.975 <sup>b</sup>
	B5(8×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	12.840	72.651 <sup>ab</sup>	45.958 <sup>a</sup>	11.262 <sup>b</sup>	6.109	4.148 <sup>a</sup>
SEM		0.258	0.175	0.123	0.035	0.032	0.016
<i>P</i> 值	A	0.673	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<i>P</i> -value	B	0.185	<0.001	<0.001	<0.001	0.097	0.035
	A×B	0.633	0.251	0.434	0.405	0.657	0.439

### 2.3 不同 NFC/NDF 饲料中添加酿酒酵母对体外发酵液 pH 和 NH<sub>3</sub>-N、MCP 浓度的影响

由表 4 可知,随着饲料 NFC/NDF 的增加,pH 逐渐减小,A1 组与 A2、A3 组差异显著 ( $P<0.05$ ); A1 组的 NH<sub>3</sub>-N 浓度显著高于 A2、A3 组 ( $P<0.05$ ); A2 组的 MCP 浓度显著高于 A1、A3 组 ( $P<0.05$ )。随着酿酒酵母添加量的增加,pH 未产生显著变化 ( $P>0.05$ ); 添加酿酒酵母的 4 个组 (B2、

B3、B4、B5 组) 的 NH<sub>3</sub>-N 浓度均显著低于未添加酿酒酵母的 B1 组 ( $P<0.05$ ), 并均在 B4 组有最小值; MCP 浓度以 B4 组最高, 显著高于其他 4 组 ( $P<0.05$ )。

饲料 NFC/NDF 与酿酒酵母添加量的交互作用对体外发酵液 pH 无显著影响 ( $P>0.05$ ), 但对体外发酵液中 NH<sub>3</sub>-N 和 MCP 浓度有显著影响 ( $P<0.05$ )。

表 4 不同 NFC/NDF 饲料中添加酿酒酵母对体外发酵液 pH 和 NH<sub>3</sub>-N、MCP 浓度的影响

Table 4 Effects of *S. cerevisiae* supplementation in diets with different NFC/NDF on pH and NH<sub>3</sub>-N, MCP concentrations in *in vitro* fermentation fluid

非纤维性碳水化合物与中性洗涤纤维比例 NFC/NDF	酿酒酵母添加量 <i>S. cerevisiae</i> supplemental level	pH	氨态氮 NH <sub>3</sub> -N/(mg/dL)	微生物蛋白 MCP/(mg/dL)
A1(0.79)	B1(0)	6.578	26.329 <sup>a</sup>	0.35 <sup>f</sup>
	B2(2×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.606	25.141 <sup>abc</sup>	0.65 <sup>def</sup>
	B3(4×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.590	24.101 <sup>abcd</sup>	1.01 <sup>bcd</sup>
	B4(6×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.600	22.735 <sup>bcdef</sup>	1.37 <sup>b</sup>
	B5(8×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.622	22.320 <sup>cdef</sup>	0.99 <sup>bcd</sup>
A2(0.89)	B1(0)	6.592	24.870 <sup>abc</sup>	0.61 <sup>def</sup>
	B2(2×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.598	23.329 <sup>adcde</sup>	0.82 <sup>cdef</sup>
	B3(4×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.552	21.518 <sup>def</sup>	1.04 <sup>bcd</sup>
	B4(6×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.604	19.765 <sup>f</sup>	2.75 <sup>a</sup>
	B5(8×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.604	22.171 <sup>cdef</sup>	1.16 <sup>bc</sup>
A3(1.10)	B1(0)	6.538	25.646 <sup>ab</sup>	0.48 <sup>ef</sup>
	B2(2×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.532	22.320 <sup>cdef</sup>	0.76 <sup>cdef</sup>
	B3(4×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.548	21.161 <sup>def</sup>	0.96 <sup>bcd</sup>
	B4(6×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.578	20.240 <sup>ef</sup>	1.33 <sup>b</sup>
	B5(8×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.530	24.191 <sup>abcd</sup>	0.84 <sup>cde</sup>

续表 4

非纤维性碳水化合物与 中性洗涤纤维比例 NFC/NDF	酿酒酵母添加量 <i>S. cerevisiae</i> supplemental level	pH	氨态氮 NH <sub>3</sub> -N	微生物蛋白 MCP
非纤维性碳水化合物与 中性洗涤纤维比例 NFC/NDF	A1(0.79)	6.599 <sup>a</sup>	24.125 <sup>a</sup>	0.87 <sup>b</sup>
	A2(0.89)	6.590 <sup>b</sup>	22.712 <sup>b</sup>	1.27 <sup>a</sup>
	A3(1.10)	6.545 <sup>b</sup>	22.331 <sup>b</sup>	0.87 <sup>b</sup>
酿酒酵母添加量 <i>S. cerevisiae</i> supplemental level	B1(0)	6.569	25.616 <sup>a</sup>	0.48 <sup>c</sup>
	B2(2×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.579	23.597 <sup>b</sup>	0.74 <sup>d</sup>
	B3(4×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.563	22.894 <sup>b</sup>	0.99 <sup>c</sup>
	B4(6×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.594	20.914 <sup>c</sup>	1.82 <sup>a</sup>
	B5(8×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	6.585	22.260 <sup>bc</sup>	1.00 <sup>b</sup>
SEM		0.010	0.162	0.004
<i>P</i> 值	A	0.042	<0.001	<0.001
	B	0.399	<0.001	<0.001
<i>P</i> -value	A×B	0.847	0.018	<0.001

## 2.4 不同 NFC/NDF 饲料中添加酿酒酵母对体外发酵底物养分降解率的影响

由表 5 可知,饲料 NFC/NDF 对 DMD、NDFD 和 ADFD 均产生了显著影响 ( $P<0.05$ ),随着饲料 NFC/NDF 的增加, DMD 逐渐升高, NDFD 和 ADFD 则逐渐下降。饲料 NFC/NDF 对 NDFD 未产生显著影响 ( $P>0.05$ ),对 DMD 和 ADFD 产生

了显著影响 ( $P<0.05$ ),其中 B3、B4、B5 组的 DMD 显著高于 B1 组 ( $P<0.05$ ), B2、B3、B4、B5 组的 ADFD 显著高于 B1 组 ( $P<0.05$ ),且 DMD 和 ADFD 均以 B4 组最高。

饲料 NFC/NDF 与酿酒酵母添加量的交互作用对体外发酵底物 DMD 有显著影响 ( $P<0.05$ ),对 NDFD 和 ADFD 无显著影响 ( $P>0.05$ )。

表 5 不同 NFC/NDF 饲料中添加酿酒酵母对体外发酵底物养分降解率的影响

Table 5 Effects of *S. cerevisiae* supplementation in diets with different NFC/NDF on nutrient degradation rates of *in vitro* fermentation substrate

非纤维性碳水化合物与 中性洗涤纤维比例 NFC/NDF	酿酒酵母添加量 <i>S. cerevisiae</i> supplemental level	干物质 降解率 DMD	中性洗涤 纤维降解率 NDFD	酸性洗涤 纤维降解率 ADFD
A1(0.79)	B1(0)	56.010 <sup>fg</sup>	69.487	83.490
	B2(2×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	56.413 <sup>f</sup>	73.527	96.970
	B3(4×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	58.820 <sup>e</sup>	67.093	81.523
	B4(6×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	59.980 <sup>d</sup>	70.980	88.727
	B5(8×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	56.513 <sup>f</sup>	64.327	79.343
A2(0.89)	B1(0)	59.257 <sup>dc</sup>	67.873	82.437
	B2(2×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	63.277 <sup>b</sup>	69.480	81.020
	B3(4×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	60.240 <sup>d</sup>	55.973	72.690
	B4(6×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	61.490 <sup>c</sup>	64.290	77.380
	B5(8×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	64.040 <sup>a</sup>	74.907	65.593

续表 5

非纤维性碳水化合物与 中性洗涤纤维比例 NFC/NDF	酿酒酵母添加量 <i>S. cerevisiae</i> supplemental level	干物质 降解率 DMD/%	中性洗涤 纤维降解率 NDFD/%	酸性洗涤 纤维降解率 ADFD/%
A3 (1.10)	B1 (0)	60.033 <sup>d</sup>	58.400	59.433
	B2 (2×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	61.287 <sup>c</sup>	51.503	55.940
	B3 (4×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	63.853 <sup>ab</sup>	55.753	59.040
	B4 (6×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	61.173 <sup>c</sup>	60.190	61.847
	B5 (8×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	62.850 <sup>bc</sup>	60.057	51.697
非纤维性碳水化合物与 中性洗涤纤维比例 NFC/NDF	A1 (0.79)	57.547 <sup>b</sup>	69.083 <sup>a</sup>	86.011 <sup>a</sup>
	A2 (0.89)	61.661 <sup>a</sup>	66.505 <sup>a</sup>	75.624 <sup>b</sup>
	A3 (1.10)	61.839 <sup>a</sup>	57.181 <sup>b</sup>	57.591 <sup>c</sup>
酿酒酵母添加量 <i>S. cerevisiae</i> supplemental level	B1 (0)	58.433 <sup>b</sup>	59.607	71.084 <sup>c</sup>
	B2 (2×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	60.326 <sup>ab</sup>	64.837	75.120 <sup>b</sup>
	B3 (4×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	60.971 <sup>a</sup>	65.153	75.984 <sup>ab</sup>
	B4 (6×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	61.134 <sup>a</sup>	66.430	85.211 <sup>a</sup>
	B5 (8×10 <sup>11</sup> CFU/kg)	60.881 <sup>a</sup>	65.253	77.977 <sup>ab</sup>
SEM		0.324	0.999	0.890
<i>P</i> 值	A	<0.001	<0.001	<0.001
<i>P</i> -value	B	0.036	0.249	0.001
	A×B	0.042	0.118	0.141

### 3 讨论

#### 3.1 不同 NFC/NDF 饲料中添加酿酒酵母对体外发酵产气量和产气参数的影响

体外发酵产气量在一定程度上可以反映发酵底物被瘤胃微生物利用的程度,因此产气量在一定程度上可以反映出营养物质降解率的程度,并与其呈正相关关系<sup>[17-18]</sup>。产气量与发酵底物的营养成分密切相关,本研究中,随着饲料 NFC/NDF 的增加,24、48 h 累积产气量呈增加趋势,这是因为饲料中可消化碳水化合物含量升高,而碳水化合物是发酵气体的主要来源之一<sup>[19]</sup>。随着饲料 NFC/NDF 的增加,饲料的 CP 含量升高,而潜在产气量降低,这与耿春银等<sup>[20]</sup>研究的潜在产气量与底物蛋白质水平呈负相关关系的结果相吻合。各添加酿酒酵母组的累积产气量和快速发酵部分产气量、慢速发酵部分产气量高于未添加酿酒酵母组,随着酿酒酵母添加量的增加,产气速率呈增大趋势,在添加量为 6×10<sup>11</sup> CFU/kg 时达到最大,可能是由于酿酒酵母影响了纤维利用菌的活性,提高了纤维降解的速率<sup>[21]</sup>。饲料 NFC/NDF 增加可以促进发酵产气,酿酒酵母可以刺激微生物发酵,

所以在二者的共同作用下,对产气速率产生显著影响。

#### 3.2 不同 NFC/NDF 饲料中添加酿酒酵母对 CH<sub>4</sub> 产量和体外发酵液中 VFA 浓度的影响

发酵液中 TVFA 的 65%~80% 由碳水化合物产生,主要包括乙酸、丙酸和丁酸,纤维素和淀粉是瘤胃微生物生成 VFA 的主要底物,对宿主动物有显著的供能作用。一般来说,饲料中粗饲料比例越高,TVFA 产量越低,瘤胃液中乙酸浓度越高,而在发酵过程中,乙酸与丁酸产生的氢被产甲烷菌利用合成 CH<sub>4</sub>,从而使 CH<sub>4</sub> 产量也增高;而饲料中精饲料比例越高,瘤胃液中丙酸浓度越高,丙酸发酵时可利用氢气,所以当丙酸浓度较高时,饲料的能量利用效率也会提高<sup>[22]</sup>。本试验中,随着饲料 NFC/NDF 的增加,体外发酵液中 TVFA 浓度增加,乙酸浓度减少,丙酸浓度增加,乙丙比降低,这与杨平等<sup>[6]</sup>和 Chaucheyras 等<sup>[23]</sup>的研究结果一致。

瘤胃内 VFA 产量常作为评定酿酒酵母促进瘤胃发酵的指标<sup>[24]</sup>。有研究表明,当产乙酸菌和产甲烷菌同时存在时,氢主要用于 CH<sub>4</sub> 的合成,但当有酵母菌存在时,酵母菌刺激产乙酸菌对氢的利



用,促进乙酸的产生<sup>[1]</sup>。本试验中各添加酿酒酵母组体外发酵液中乙酸浓度均高于未添加酿酒酵母组,与 Lascano 等<sup>[25]</sup> 研究结果一致。小肽营养代谢扳机理论认为酵母中可能含有一种类似于小肽结构的物质,对瘤胃微生物有很强的刺激作用,可以加速饲料中有机物质转化成 VFA、二氧化碳和氢气,为  $\text{CH}_4$  提供合成底物<sup>[26]</sup>, 但本试验中添加酿酒酵母后  $\text{CH}_4$  产量并没有发生显著变化,可能是体外发酵液中产甲烷菌数量较少的原因造成的。瘤胃液乙丙比作为瘤胃发酵类型的标志,一般认为乙丙比高于 3 为乙酸型发酵,低于 3 为丙酸型发酵<sup>[27]</sup>, 本试验中各添加酿酒酵母组体外发酵液中乙丙比均高于 3,表明添加酿酒酵母的饲料发酵类型为乙酸型发酵,这与黄帅<sup>[24]</sup> 的试验结果相同。 $\text{CH}_4$  产量与乙酸浓度、乙丙比呈正相关,与丙酸浓度呈负相关<sup>[28]</sup>, 虽然本试验中酿酒酵母添加量对  $\text{CH}_4$  产量的影响不显著,但整体趋势一致。

### 3.3 不同 NFC/NDF 饲料中添加酿酒酵母对体外发酵液 pH 和 $\text{NH}_3\text{-N}$ 、MCP 浓度的影响

瘤胃液 pH 反映了饲料在反刍动物瘤胃中发酵的水平及瘤胃内微生物的活性状况,反刍动物瘤胃内 pH 变化范围为 5.5~7.5,适宜范围为 6.2~6.8<sup>[29]</sup>, 这个酸度是瘤胃微生物最佳存活条件,过高或过低都会影响瘤胃功能。瘤胃液 pH 受饲料结构及营养水平等因素影响,本试验中,随着饲料 NFC/NDF 的增加,饲料中的碳水化合物被瘤胃微生物发酵产生 VFA,使得发酵液 pH 逐渐减小,这与周为琴等<sup>[30]</sup> 的研究结果相一致。有研究表明,酵母菌具有稳定瘤胃液 pH 及降低乳酸浓度的作用<sup>[31-32]</sup>, 本试验中,随着酿酒酵母添加量的增加,发酵液 pH 变化不显著。虽然饲料 NFC/NDF 和酿酒酵母添加量的交互作用也对体外发酵液 pH 的影响不显著,但各组 pH 均保持在适宜范围内。

瘤胃液中  $\text{NH}_3\text{-N}$  和 MCP 浓度的高低共同反映了反刍动物对饲料中氮源的分解利用状况。瘤胃液中大多数微生物以  $\text{NH}_3\text{-N}$  作为氮源合成 MCP<sup>[33]</sup>。随着饲料 NFC/NDF 的增加,瘤胃液  $\text{NH}_3\text{-N}$  浓度逐渐降低,这是因为饲料中 NFC 含量的增加导致微生物可发酵有机物增加,为其生长提供能量,加速氮的利用,这与唐海翠等<sup>[34]</sup> 的研究结果一致。已有研究证明,酵母菌可以改变瘤胃氮代谢<sup>[35-36]</sup>, 刺激瘤胃中蛋白质水解菌和纤维分

解菌<sup>[4]</sup>, 进而增强饲料中有机物和蛋白质的消化,提高对  $\text{NH}_3\text{-N}$  的利用,增加 MCP 的合成量,并且,酿酒酵母自身的生长繁殖也可提高 MCP 含量。本试验中,各添加酿酒酵母组体外培养液中  $\text{NH}_3\text{-N}$  浓度显著低于未添加酿酒酵母组, MCP 浓度显著高于未添加酿酒酵母组,酿酒酵母添加量为  $6 \times 10^{11}$  CFU/kg 时  $\text{NH}_3\text{-N}$  浓度达到最低, MCP 浓度达到最高。饲料 NFC/NDF 和酿酒酵母添加量的交互作用对体外发酵液中  $\text{NH}_3\text{-N}$  和 MCP 浓度的影响显著,这是因为饲料中 NFC 含量的增加和酿酒酵母的存在都对瘤胃微生物产生了积极的作用,促进其发挥作用。

### 3.4 不同 NFC/NDF 饲料中添加酿酒酵母对体外发酵底物养分降解率的影响

Menke 等<sup>[37]</sup> 研究得出体外瘤胃发酵试验中发酵总产气量与发酵底物 DMD 呈显著正相关,本试验中,体外发酵产气量和发酵底物 DMD 的变化趋势一致,随着饲料 NFC/NDF 的增加, DMD 逐渐增加, NDFD 和 ADFD 逐渐下降,这是因为随着饲料中 NFC 含量的增加,可被瘤胃微生物利用的营养物质增多,从而提高 DMD,但 NFC 含量的增加会使瘤胃液 pH 下降<sup>[30]</sup>, 这可能会影响纤维降解菌的活性,从而导致 NDFD 和 ADFD 下降。目前提出的控氧理论、小肽营养代谢扳机理论和营养理论均认为酵母菌可以促进瘤胃发酵,它能为微生物提供维生素及生长因子,通过创造更加适宜的环境来刺激瘤胃微生物对饲料中营养物质的利用<sup>[38]</sup>。Paryad 等<sup>[39]</sup> 和 Kim 等<sup>[40]</sup> 分别研究了酵母菌对绵羊和奶牛饲料 DMD 的影响,结果显示酵母菌能显著提高饲料 DMD。本试验中,随着酿酒酵母添加量的增加,发酵底物 DMD 逐渐增加,在添加量为  $6 \times 10^{11}$  CFU/kg 时达到最大。有研究证明,纤维降解菌为厌氧菌,酿酒酵母可以消耗瘤胃内环境中的氧,且会分泌微生物促生长因子以刺激瘤胃纤维降解菌的生长,提高瘤胃纤维降解能力<sup>[41]</sup>。随着酿酒酵母添加量的增加,发酵底物 NDFD 和 ADFD 均逐渐升高,在添加量为  $6 \times 10^{11}$  CFU/kg 时达到最大,但酿酒酵母添加量对 NDFD 的影响不显著,这与 Sales<sup>[42]</sup> 的研究结果相似。Zain 等<sup>[43]</sup> 的研究表明酵母菌可以显著提高体外发酵底物 ADFD,与本试验中添加酿酒酵母可提高发酵底物 ADFD 的结果相似。

## 4 结 论

综上所述,饲料 NFC/NDF 和酿酒酵母添加量以及二者的交互作用均会影响绵羊瘤胃体外发酵,饲料中添加适量酿酒酵母可以促进体外瘤胃发酵,稳定发酵液 pH,提高饲料的利用率。整体来看,饲料 NFC/NDF 为 0.89 或 1.10、酿酒酵母添加量为  $6 \times 10^{11}$  CFU/kg 时对绵羊体外瘤胃发酵的促进效果最好。

## 参考文献:

- [ 1 ] 耿春银.活性酵母与酵母培养物饲喂育肥牛生长性能、胴体指标和牛肉品质的比较[D].博士学位论文.北京:中国农业大学,2015.
- [ 2 ] KIM S W, KNABE D A, HONG K J, et al. Use of carbohydrases in corn-soybean meal-based nursery diets [J]. *Journal of Animal Science*, 2003, 81(10): 2496-2504.
- [ 3 ] LYNCH H A, MARTIN S A. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture and *Saccharomyces cerevisiae* live cells on *in vitro* mixed ruminal microorganism fermentation [J]. *Journal of Dairy Science*, 2002, 85(10): 2603-2608.
- [ 4 ] YOON I K, STERN M D. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *aspergillus oryzae* cultures on ruminal fermentation in dairy cows. [J]. *Journal of Dairy Science*, 1996, 79(3): 411-417.
- [ 5 ] 邵广,李红宇,黄帅,等.酿酒酵母对奶牛瘤胃内环境及血液生化指标的影响[J]. *中国牛业科学*, 2011, 37(2): 24-26.
- [ 6 ] 杨平平,甄玉国,王晓磊,等.不同精粗比底物下不同添加剂对绵羊瘤胃体外发酵的影响[J]. *饲料工业*, 2013, 34(9): 25-29.
- [ 7 ] MENKE K H, RAAB L, SALEWSKI A, et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro* [J]. *The Journal of Agricultural Science*, 1979, 93(1): 217-222.
- [ 8 ] WU H, MENG Q X, YU Z T. Evaluation of ferric oxide and ferric citrate for their effects on fermentation, production of sulfide and methane, and abundance of select microbial populations using *in vitro* rumen cultures [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 211: 603-609.
- [ 9 ] WANG C, LIU Q, GUO G, et al. Effects of rumen-protected folic acid on ruminal fermentation, microbial enzyme activity, cellulolytic bacteria and urinary excretion of purine derivatives in growing beef steers [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2016, 221: 185-194.
- [ 10 ] 金亚倩,赵俊星,刘文忠,等.酿酒葡萄皮渣对绵羊瘤胃代谢及发育的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2017, 48(9): 1683-1693.
- [ 11 ] BRADFORD M M. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1/2): 248-254.
- [ 12 ] AOAC. Official methods of analysis of AOAC International [S]. 19th ed. Maryland: AOAC International, 2012.
- [ 13 ] VAN SOEST P J, ROBERTSON J B, LEWIS B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition [J]. *Journal of Dairy Science*, 1991, 74(10): 3583-3597.
- [ 14 ] 邵俊.干、湿法消解-火焰原子吸收法测定多种食品中钙元素的含量[J]. *化学工程师*, 2015(11): 22-25.
- [ 15 ] 李会娟.2种植物磷含量的检测方法比较研究[J]. *现代农业科技*, 2012(11): 16-17.
- [ 16 ] ØRSKOV E R, MCDONALD I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage [J]. *The Journal of Agricultural Science*, 1979, 92(2): 499-503.
- [ 17 ] METZLER-ZEBELI B U, SCHERR C, SALLAKU E, et al. Evaluation of associative effects of total mixed ration for dairy cattle using *in vitro* gas production and different rumen inocula [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2012, 92(12): 2479-2485.
- [ 18 ] 梁静,张文举,王博.不同精粗比底物下添加复合营养调控剂对绵羊瘤胃微生物体外发酵的影响[J]. *家畜生态学报*, 2016, 37(11): 25-30.
- [ 19 ] 郝小燕,张广宁,么恩悦,等.干玉米纤维饲料与羊草组合替代苜蓿干草对体外瘤胃发酵的影响[J]. *动物营养学报*, 2018, 30(3): 953-962.
- [ 20 ] 耿春银,赵丽萍,何立文,等.活性干酵母与酵母培养物对体外瘤胃发酵参数影响的比较[J]. *中国畜牧兽医*, 2016, 43(11): 2931-2938.
- [ 21 ] WALLACE R J, WALLACE S J A, MCKAIN N, et al. Influence of supplementary fibrolytic enzymes on the fermentation of corn and grass silages by mixed

- ruminal microorganisms *in vitro* [J]. *Journal of Animal Science*, 2001, 79(7): 1905-1916.
- [22] 朱素华. 日粮碳水化合物结构对山羊瘤胃发酵和氮代谢的影响 [D]. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学, 2010.
- [23] CHAUCHEYRAS F, FONTY G, BERTIN G, et al. Effects of live *Saccharomyces cerevisiae* cells on zoospore germination, growth, and cellulolytic activity of the rumen anaerobic fungus, *Neocallimastix frontalis* MCH3 [J]. *Current Microbiology*, 1995, 31(4): 201-205.
- [24] 黄帅. 米曲霉和酿酒酵母对奶牛瘤胃发酵及血液生化指标的影响 [D]. 硕士学位论文. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2011.
- [25] LASCANO G J, HEINRICHS A J. Rumen fermentation pattern of dairy heifers fed restricted amounts of low, medium, and high concentrate diets without and with yeast culture [J]. *Livestock Science*, 2009, 124(1/2/3): 48-57.
- [26] 乔国华, 单安山. 直接饲喂微生物培养物对奶牛瘤胃发酵产甲烷及生产性能的影响 [J]. *中国畜牧兽医*, 2006, 33(5): 11-14.
- [27] KUNG L, Jr, SHEPERD A C, SMAGALA A M, et al. The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration [J]. *Journal of Dairy Science*, 1998, 81(5): 1322-1330.
- [28] 韩继福, 冯仰廉, 张晓明, 等. 阉牛不同日粮的纤维消化、瘤胃内 VFA 对甲烷产生量的影响 [J]. *中国兽医学报*, 1997, 17(3): 278-280.
- [29] CALSAMIGLIA S, FERRET A, DEVANT M. Effects of pH and pH fluctuations on microbial fermentation and nutrient flow from a dual-flow continuous culture system [J]. *Journal of Dairy Science*, 2002, 85(3): 574-579.
- [30] 周为琴, 赵健亚, 郭玉华, 等. 不同粗精比底物对体外发酵 pH 值和发酵产物 VFA 的影响 [J]. *家畜生态学报*, 2005, 26(4): 50-54.
- [31] PINLOCHE E, MCEWAN N, MARDEN J P, et al. The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of cattle [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e67824.
- [32] FONTY G, CHAUCHEYRAS-DURAND F. Effects and modes of action of live yeasts in the rumen [J]. *Biologia*, 2006, 61(6): 741-750.
- [33] BACH A, CALSAMIGLIA S, STERN M D. Nitrogen metabolism in the rumen [J]. *Journal of Dairy Science*, 2005, 88(Suppl.1): E9-E21.
- [34] 唐海翠, 庞学东, 庄苏, 等. 高精料条件下酵母培养物对混合瘤胃微生物体外发酵的影响 [J]. *家畜生态学报*, 2006, 27(4): 33-37.
- [35] OEZTUERK H, SCHROEDER B, BEYERBACH M, et al. Influence of living and autoclaved yeasts of *Saccharomyces boulardii* on *in vitro* ruminal microbial metabolism [J]. *Journal of Dairy Science*, 2005, 88(7): 2594-2600.
- [36] KAMRA D N, CHAUDHARY L C, NEETA-AGARWAL R, et al. Growth performance, nutrient utilization, rumen fermentation and enzyme activities in calves fed on *Saccharomyces cerevisiae* supplemented diet [J]. *Indian Journal of Animal Sciences*, 2002, 72(6): 472-475.
- [37] MENKE K, STEINGASS H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid [J]. *Animal Research and Development*, 1988, 28: 7-55.
- [38] MARDEN J P, JULIEN C, MONTEILS V, et al. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? [J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91(9): 3528-3535.
- [39] PARYAD A, RASHIDI M. Effect of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on apparent digestibility and nitrogen retention of tomato pomace in sheep [J]. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2009, 8(3): 273-278.
- [40] KIM H S, AHN B S, CHUNG S G, et al. Effect of yeast culture, fungal fermentation extract and non-ionic surfactant on performance of Holstein cows during transition period [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2006, 126(1/2): 23-29.
- [41] JOUANY J P. Optimizing rumen functions in the close-up transition period and early lactation to drive dry matter intake and energy balance in cows [J]. *Animal Reproduction Science*, 2006, 96(3/4): 250-264.
- [42] SALES J. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters, nutrient digestibility and growth in sheep; a meta-analysis [J]. *Small Ruminant Research*, 2011, 100(1): 19-29.
- [43] ZAIN M, JAMARUN N, ARNIM A, et al. Effect of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on fermentability, microbial population and digestibility of low quality roughage *in vitro* [J]. *Archiva Zootechnica*, 2011, 14(4): 51-58.

## Effects of *Saccharomyces cerevisiae* Supplementation in Diets with Different Non-Fiber Carbohydrate to Neutral Detergent Fiber Ratios on *in Vitro* Ruminal Fermentation of Sheep

ZHENG Weicai<sup>1</sup> HAO Xiaoyan<sup>1</sup> ZHANG Chunxiang<sup>1</sup> XIANG Binwei<sup>2</sup>  
ZHANG Wenjia<sup>2</sup> WEN Haoyu<sup>3</sup> ZHANG Jianxin<sup>1\*</sup>

(1. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China; 2. Animal Husbandry Bureau of Youyu County, Youyu 037200, China; 3. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

**Abstract:** The objective of present study was to investigate the effects of *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) supplementation in diets with different non-fiber carbohydrate/neutral detergent fiber ratios (NFC/NDF) on *in vitro* ruminal fermentation of sheep. The method of double-factor design was adopted in this experiment. Fifteen fermentation substrates were prepared by adding five levels [0 (B1),  $2 \times 10^{11}$  (B2),  $4 \times 10^{11}$  (B3),  $6 \times 10^{11}$  (B4) and  $8 \times 10^{11}$  CFU/kg (B5)] of *S. cerevisiae* to three diets with different NFC/NDF [0.79 (A1), 0.89 (A2) and 1.10 (A3)]. Gas production parameters, methane (CH<sub>4</sub>) production, ruminal fermentation indices and nutrient degradation rates were determined at 48 h fermentation *in vitro*. The result showed as follows: 1) dietary NFC/NDF and *S. cerevisiae* supplemental level had significant effects on cumulative gas production at 24 and 48 h and gas production parameters ( $P < 0.05$ ), and the interaction between them had significant effects on cumulative gas production at 24 and 48 h ( $P < 0.05$ ), but had no significant effects on gas production parameters ( $P > 0.05$ ). 2) CH<sub>4</sub> production was not significantly affected by dietary NFC/NDF, *S. cerevisiae* supplemental level and their interaction ( $P > 0.05$ ). The concentrations of total volatile fatty acid (TVFA) and propionic acid in *in vitro* fermentation fluid were gradually increased with the increase of dietary NFC/NDF, while the concentrations of acetic acid, butyric acid and the ratio of acetic acid to propionic acid were gradually decreased. When the *S. cerevisiae* supplemental level was  $6 \times 10^{11}$  CFU/kg, the concentrations of TVFA and propionic acid in *in vitro* fermentation fluid were the highest, the acetic acid concentration and the ratio of acetic acid to propionic acid were the lowest. The acetic acid concentration in B4 group was significantly higher than that in B1, B2 and B5 groups ( $P < 0.05$ ), and the ratio of acetic acid to propionic acid in B4 group was significantly higher than that in B1, B3 and B5 groups ( $P < 0.05$ ). The interaction between dietary NFC/NDF and *S. cerevisiae* supplemental level had no significant effects on CH<sub>4</sub> production, the concentrations of TVFA, acetic acid, propionic acid, butyric acid and the ratio of acetic acid to propionic acid in *in vitro* fermentation fluid ( $P > 0.05$ ). 3) With the increase of dietary NFC/NDF, the pH and ammonia nitrogen (NH<sub>3</sub>-N) concentrations in *in vitro* fermentation fluid were gradually decreased, and those in A1 group were significantly higher than those in A2 and A3 groups ( $P < 0.05$ ). The microprotein (MCP) concentration in *in vitro* fermentation fluid was the largest when dietary NFC/NDF was 0.89, and significantly higher than that when dietary NFC/NDF were 0.79 and 1.10. *S. cerevisiae* supplemental level had significant effects on the concentrations of NH<sub>3</sub>-N and MCP in *in vitro* fermentation fluid ( $P < 0.05$ ). The concentration of NH<sub>3</sub>-N was the lowest and the concentration of MCP was the highest when *S. cerevisiae* supplemental level was  $6 \times 10^{11}$  CFU/kg. The interaction between dietary NFC/NDF and *S. cerevisiae* supplemental level had no signifi-

\* Corresponding author, professor, E-mail: ypzjx@126.com

cant effect on pH ( $P>0.05$ ), but had significant effects on the concentrations of  $\text{NH}_3\text{-N}$  and MCP in *in vitro* fermentation fluid ( $P<0.05$ ). 4) Dietary NFC/NDF had significant effects on the dry matter degradation rate (DMD), neutral detergent fiber degradation rate (NDFD) and acid detergent fiber degradation rate (ADFD) of *in vitro* fermentation substrate ( $P<0.05$ ), *S. cerevisiae* supplemental level had significant effects on indicators except for NDFD ( $P<0.05$ ), and the interaction between them had significant effect on DMD ( $P<0.05$ ). In conclusion, dietary NFC/NDF, *S. cerevisiae* supplemental level and their interaction will affect *in vitro* ruminal fermentation. The optimal supplementation of *S. cerevisiae* can promote *in vitro* ruminal fermentation, stabilize fermentation fluid pH and improve feed utilization. On the whole, when dietary NFC/NDF is 0.89 or 1.10 and *S. cerevisiae* supplemental level is  $6\times 10^{11}$  CFU/kg, *in vitro* ruminal fermentation of sheep has the best effect. [ *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(11):5354-5366 ]

**Key words:** NFC/NDF; *Saccharomyces cerevisiae*; sheep; *in vitro* ruminal fermentation