

添加槐花、香蕉花和杭白菊对体外诱导人工瘤胃酸中毒缓解效果的研究

范曜天 孙 劼* 夏光亮 赵芳芳 孙 华 王洪荣**

(扬州大学动物科学与技术学院,扬州 225009)

摘要: 本试验旨在研究添加槐花、香蕉花和杭白菊对体外诱导人工瘤胃酸中毒的缓解效果,为实际生产中缓解瘤胃酸中毒的应用提供理论依据。试验采用体外批次培养法,分别在高非纤维性碳水化合物底物[非纤维性碳水化合物/中性洗涤纤维(NFC/NDF)为2.30]和常规底物(NFC/NDF为1.19)中添加槐花、香蕉花和杭白菊,研究其对于瘤胃发酵参数的影响。试验采用单因素设计,试验分4组,每组设置3个重复。3种植物的添加量均为10 mg/mL,对照组不添加植物干粉,分别于发酵后的3、6、9、12 h,采集发酵液用于各发酵参数的测定。结果表明:1)常规底物中,香蕉花组各发酵阶段的体外发酵液 pH 均高于对照组($P>0.05$);高非纤维性碳水化合物底物中,对照组各发酵阶段的体外发酵液 pH 显著高于杭白菊组($P<0.05$)。2)常规底物中,发酵3、6 h时,香蕉花组的体外发酵液乳酸浓度显著高于对照组($P<0.05$);发酵12 h时,槐花组、香蕉花组和杭白菊组的体外发酵液乳酸浓度均显著低于对照组($P<0.05$)。高非纤维性碳水化合物底物中,发酵3、6 h时,香蕉花组的体外发酵液乳酸浓度显著高于对照组($P<0.05$);发酵12 h时,杭白菊组的体外发酵液乳酸浓度显著低于对照组($P<0.05$)。3)发酵12 h时,各组的体外发酵液氨态氮浓度无显著差异($P>0.05$),但发酵过程中存在差异。4)常规底物中,发酵12 h时,槐花组和杭白菊组的体外发酵液总挥发性脂肪酸浓度和丙酸比例显著高于对照组和香蕉花组($P<0.05$),乙酸和丁酸比例显著低于对照组和香蕉花组($P<0.05$)。高非纤维性碳水化合物底物中,发酵12 h时,杭白菊组的体外发酵液总挥发性脂肪酸浓度显著高于对照组和香蕉花组($P<0.05$),乙酸、丙酸、丁酸比例与对照组无显著差异($P>0.05$)。由此可见,杭白菊能缓解瘤胃乳酸累积,而香蕉花则具有调控瘤胃 pH 相对衡定的能力,因此香蕉花和杭白菊在缓解瘤胃酸中毒方面有潜在价值。

关键词: 槐花;香蕉花;杭白菊;瘤胃酸中毒

中图分类号: S816.5

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2019)10-4757-09

由于我国缺乏优质的粗饲料资源,在反刍动物饲养过程中为了追求高产,常常在饲料中大量使用高淀粉精料,增加了患亚急性瘤胃酸中毒(subacute ruminal acidosis, SARA)的风险。Krause

等^[1]认为,SARA发生的原因大致可以分为以下几种:内外源瘤胃缓冲不足、过量摄入易快速发酵的碳水化合物以及机体适应性不足。Erdman^[2]研究表明,饲料中添加碳酸氢钠(NaHCO_3)等缓冲剂对

收稿日期:2019-03-26

基金项目:江苏省现代农业(肉羊)产业技术体系(JATS[2018]305);国家自然科学基金项目(31872988,31572429);扬州大学高端人才支持计划(2016)

作者简介:范曜天(1995—),男,江苏南通人,硕士研究生,研究方向为反刍动物瘤胃微生物代谢调控。E-mail: 929745448@qq.com

* 同等贡献作者

** 通信作者:王洪荣,教授,博士生导师,E-mail: hrwang@yzu.edu.cn

于提高瘤胃 pH 具有积极的作用,但是受饲料组分的影响较大。合理控制饲料中非纤维性碳水化合物/中性洗涤纤维(NFC/NDF),能有效预防 SARA 的发生。Hutton 等^[3]的体外试验研究表明,在瘤胃发酵液中添加光秃爱沙木可有效缓解发酵过程中的乳酸蓄积,提高发酵液 pH,且作用效果与维吉尼亚霉素相媲美。一些药用植物因其富含皂苷、多酚、黄酮、挥发油等物质,具有对瘤胃微生物及瘤胃发酵调控的作用。因此,天然药用植物及其提取物作为反刍动物饲料添加剂以调控瘤胃发酵成为研究热点。

槐花(*Sophora japonica*)具有凉血止血、清肝泻火的功效,对于治疗糖尿病以及抗菌消炎有显著作用,广泛的应用于人与动物的医疗保健中^[4-6]。Park 等^[7]研究发现,饲喂含有槐花的饲料可以显著改善高脂肪饮食中小鼠体内葡萄糖和脂肪的含量。Jung 等^[8]、苗明三等^[9]研究也证明,槐花对于大鼠糖尿病的缓解有积极作用。香蕉(*Musa nana*)的花蕾常作为废弃物丢弃,但是经研究表明其具有丰富的药用价值,特别是糖尿病的防治以及抗菌消炎方面^[10]。Ngamsaeng 等^[11]体外研究表明,香蕉花中矿物质含量较高,对于维持反刍动物体内离子平衡具有重要作用。Kang 等^[12-13]将香蕉花粉作为瘤胃缓冲剂添加于阉牛和泌乳奶牛的饲料中,发现其能提高瘤胃 pH,促进纤维瘤胃中分解菌的生长。杭白菊(*Chrysanthemum morifolium*)具有重要的药用价值并富含多种活性成分,特别是黄酮类物质^[4,14]。夏道宗等^[15]证实杭白菊黄酮对于治疗氧化损伤有一定的功效。Yamamoto 等^[16]研究表明,杭白菊的热水提取物可以降低小鼠的血糖水平。以上的3种植物或其次级代谢产物均对糖代谢具有一定的调节作用,但是在反刍动物碳水化合物代谢上鲜有报道。因此,本试验选取槐花、香蕉花和杭白菊作为添加物,分别添加到不同 NFC/NDF 的半纯合饲料底物中,研究其对体外诱导人工瘤胃酸中毒的缓解效果,为实际生产中缓解瘤胃酸中毒的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验选取3只处于干奶期、体况良好并装有永久性瘤胃瘘管的萨能奶山羊为瘤胃液的供体,

饲料组成及营养水平如表1所示。每日07:00和19:00各饲喂1次,自由饮水。

表1 饲料组成及营养水平(干物质基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of

the diet (DM basis)		%
项目 Items	含量 Content	
原料 Ingredients		
燕麦 Oat grass	47.00	
苜蓿 Valerian	13.00	
玉米 Corn	30.50	
豆粕 Soybean meal	6.90	
食盐 NaCl	0.60	
石粉 Limestone	0.50	
预混料 Premix ¹⁾	1.50	
合计 Total	100.00	
营养水平 Nutrient levels ²⁾		
干物质 DM	88.71	
代谢能 ME/(MJ/kg)	8.31	
粗蛋白质 CP	11.33	
中性洗涤纤维 NDF	41.24	
酸性洗涤纤维 ADF	25.79	
钙 Ca	0.56	
磷 P	0.27	

¹⁾每千克预混料中含有 One kilogram of premix contained the following: VA 120 000 IU, VD 50 000 IU, VE 700 IU, 烟酸 nicotinic acid 450 mg, Cu 650 mg, Fe 400 mg, Mn 600 mg, Zn 1 000 mg, I 45 mg, Se 30 mg, Co 20 mg。

²⁾代谢能为计算值^[21-22],其余为实测值^[23-27]。ME was a calculated value^[21-22], while the others were measured values^[23-27]。

1.2 试验设计

试验采用单因素设计,研究在高非纤维性碳水化合物底物(NFC/NDF为2.30)和常规底物(NFC/NDF为1.19)中添加槐花、香蕉花和杭白菊对于人工瘤胃发酵参数的影响。参照Hutton等^[3]的方法,3种植物的添加量均为10 mg/mL瘤胃液,槐花、香蕉花和杭白菊均购于扬州市中草药店,65℃烘干,粉碎并过1 mm筛。对照组不添加植物干粉,每组设置3个重复,分别于发酵后的3、6、9、12 h,采集发酵液用于各发酵参数的测定。

1.3 体外培养试验方法

1.3.1 瘤胃液采集

于晨饲前进行瘤胃液的采集,选用自制真空负压装置从山羊瘤胃中抽取瘤胃液,采集瘤胃液

时需从瘤胃的前、中、后 3 个不同的部位进行收集,而后迅速混匀经 4 层纱布过滤,装入提前 39 °C 预热且充满二氧化碳(CO₂)的保温瓶中带回实验室,于 39 °C 恒温水浴锅中保温,并持续通 CO₂ 以保证厌氧环境。

1.3.2 发酵液和底物的配制

试验采用半纯合饲料为底物,底物组成如表 2 所示^[17];人工唾液盐参照 Menke 等^[18]的方法配制;充分混匀,39 °C 持续通入 CO₂,按照瘤胃液与

人工唾液为 1:2 的比例混合均匀,取 60 mL 分装至装有底物的 120 mL 的厌氧培养瓶中,并向瓶内连续通入约 5 s 的 CO₂ 气体,而后用橡皮塞封口,加样完成后将培养瓶迅速置于 39 °C 恒温振荡水浴摇床,以 125 r/min 的速度持续振荡培养 12 h。水浴过程中每隔 2 h 放气 1 次,采样时,将培养瓶取出并置于冰水浴以结束发酵,而后收集、分装培养液,用于相关指标的测定。

表 2 底物组成

Table 2 Composition of substrates

g

项目 Items	非纤维性碳水化合物/中性洗涤纤维 NFC/NDF	
	1.19	2.30
酪蛋白 Casein	0.340	0.340
小麦淀粉 Wheat starch	0.512	0.894
可溶性淀粉 Soluble starch	0.076	0.134
果胶 Pectin	0.076	0.134
木聚糖 Xylin	0.208	0.106
羧甲基纤维素 Carboxymethylcellulose	0.394	0.196
滤纸纤维素 Filter paper	0.394	0.196
合计 Total	2.000	2.000

1.4 测量指标与方法

发酵液 pH 的测定采用雷磁 pHS-3C 型 pH 计于各取样点立即测定;挥发性脂肪酸(volatile fatty acid, VFA)浓度测定参照 Erwin 等^[19]的方法,采用气相色谱仪(GC-14B,日本津岛公司)测定;乳酸浓度的测定采用乳酸测试盒(A019-2,南京建成生物工程研究所)测定;氨态氮(NH₃-N)浓度根据 Broderick 等^[20]的方法采用酚-次氯酸钠比色法测定。

1.5 数据处理

试验数据经 Excel 2010 整理,通过 SPSS 25.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA),并采用 Duncan 氏法进行多重比较,结果以平均值±标准差的形式表示。 $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 槐花、香蕉花和杭白菊对体外发酵液 pH 的影响

由表 3 可知,随着发酵时间的延长,发酵液 pH 逐渐下降。常规底物中,香蕉花组各发酵阶段的

体外发酵液 pH 均高于对照组,但差异不显著($P > 0.05$);槐花组和杭白菊组各发酵阶段的体外发酵液 pH 显著低于对照组($P < 0.05$),且槐花组和杭白菊组之间无显著差异($P > 0.05$)。

高非纤维性碳水化合物底物中,对照组各发酵阶段的体外发酵液 pH 最高,杭白菊组最低,且 2 组之间差异显著($P < 0.05$);香蕉花组各发酵阶段的体外发酵液 pH 与对照组无显著差异($P > 0.05$),且槐花组发酵阶段的体外发酵液 pH 与杭白菊组无显著差异($P > 0.05$)。

2.2 槐花、香蕉花和杭白菊对体外发酵液乳酸浓度的影响

由表 3 可知,常规底物中,发酵 3、6 h 时,香蕉花组的体外发酵液乳酸浓度最高,且与对照组差异显著($P < 0.05$),槐花组和杭白菊组的体外发酵液乳酸浓度与对照组无显著差异($P > 0.05$);发酵 9 h 时,各组的体外发酵液乳酸浓度无显著差异($P > 0.05$);发酵 12 h 时,槐花组、香蕉花组和杭白菊组的体外发酵液乳酸浓度均显著低于对照组($P < 0.05$),杭白菊组的体外发酵液乳酸浓度显著低于槐花组和香蕉花组($P < 0.05$)。

表3 不同 NFC/NDF 培养底物中添加 3 种药用植物对人工瘤胃发酵参数的影响
Table 3 Effects of adding three medicinal plants into different NFC/NDF culture substrates on artificial rumen fermentation parameters

项目 Items	1.19						2.30					
	组别 Groups		采样时间 Sampling time/h		非纤维性碳水化合物/中性洗涤剂纤维 NFC/NDF		采样时间 Sampling time/h		非纤维性碳水化合物/中性洗涤剂纤维 NFC/NDF			
	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12
pH	对照组 Control group	6.41±0.05 ^a	6.00±0.01 ^a	5.81±0.02 ^a	5.80±0.04 ^a	6.40±0.02 ^a	5.85±0.03 ^a	5.59±0.08 ^a	6.40±0.02 ^a	5.85±0.03 ^a	5.59±0.08 ^a	5.57±0.04 ^a
	槐花组 <i>Sophora japonica</i> group	6.32±0.05 ^b	5.83±0.02 ^b	5.63±0.02 ^b	5.64±0.01 ^b	6.31±0.04 ^{bc}	5.69±0.10 ^b	5.48±0.05 ^{bc}	6.31±0.04 ^{bc}	5.69±0.10 ^b	5.48±0.05 ^{bc}	5.53±0.09 ^{ab}
	香蕉花组 <i>Musa nana</i> flower group	6.44±0.01 ^a	6.03±0.05 ^a	5.87±0.05 ^a	5.88±0.03 ^a	6.37±0.02 ^{ab}	5.80±0.02 ^a	5.56±0.04 ^{ab}	6.37±0.02 ^{ab}	5.80±0.02 ^a	5.56±0.04 ^{ab}	5.53±0.01 ^{ab}
乳酸 Lactate/ (mmol/L)	对照组 Control group	0.82±0.08 ^b	0.55±0.07 ^b	1.03±0.52	1.23±0.14 ^a	0.85±0.12 ^b	0.57±0.03 ^b	0.74±0.18	0.85±0.12 ^b	0.57±0.03 ^b	0.74±0.18	1.60±0.44 ^a
	槐花组 <i>Sophora japonica</i> group	0.85±0.08 ^b	0.54±0.08 ^b	0.59±0.04	0.86±0.04 ^b	0.23±0.02 ^c	0.58±0.05 ^b	0.69±0.21	0.23±0.02 ^c	0.58±0.05 ^b	0.69±0.21	1.31±0.22 ^{ab}
	香蕉花组 <i>Musa nana</i> flower group	1.45±0.02 ^a	0.94±0.19 ^a	0.88±0.14	1.02±0.10 ^b	1.22±0.01 ^a	0.96±0.21 ^a	0.84±0.19	1.22±0.01 ^a	0.96±0.21 ^a	0.84±0.19	1.33±0.29 ^{ab}
氨态氮 NH ₃ -N/(mg/dL)	对照组 Control group	18.62±0.15	17.29±0.68 ^b	17.93±0.52 ^b	23.13±0.52	18.01±0.21 ^{bc}	14.71±0.60 ^b	14.66±0.70 ^b	18.01±0.21 ^{bc}	14.71±0.60 ^b	14.66±0.70 ^b	18.42±1.23
	槐花组 <i>Sophora japonica</i> group	20.45±1.80	19.72±0.55 ^a	20.89±1.36 ^a	24.60±1.05	20.60±0.71 ^a	17.56±2.09 ^a	17.19±1.11 ^a	20.60±0.71 ^a	17.56±2.09 ^a	17.19±1.11 ^a	20.35±1.70
	香蕉花组 <i>Musa nana</i> flower group	20.28±0.94	19.12±0.95 ^a	21.00±1.14 ^a	24.07±1.89	18.93±0.84 ^b	15.05±1.42 ^{ab}	15.04±0.42 ^b	18.93±0.84 ^b	15.05±1.42 ^{ab}	15.04±0.42 ^b	18.97±1.18
	对照组 Control group	18.97±0.51	19.35±1.17 ^a	18.94±1.57 ^{ab}	23.39±1.29	17.57±0.58 ^c	16.21±0.82 ^{ab}	15.56±0.61 ^b	17.57±0.58 ^c	16.21±0.82 ^{ab}	15.56±0.61 ^b	18.61±0.80

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 ($P<0.05$)。

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 ($P<0.05$).

高非纤维性碳水化合物底物中,发酵 3、6 h 时,香蕉花组的体外发酵液乳酸浓度最高,并与对照组差异显著($P<0.05$);发酵 9 h 时,各组的体外发酵液乳酸浓度无显著差异($P>0.05$);发酵 12 h 时,杭白菊组的体外发酵液乳酸浓度显著低于对照组($P<0.05$)。

2.3 槐花、香蕉花和杭白菊对体外发酵液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度的影响

由表 3 可知,常规底物中,对照组的体外发酵液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度始终最低,除体外发酵 9 h 外,槐花组的体外发酵液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度始终最高;发酵 3 h 时,各组的体外发酵液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度无显著差异($P>0.05$);发酵 6 h 时,对照组的体外发酵液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度显著低于其他各组($P<0.05$);发酵 9 h 时,对照组的体外发酵液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度显著低于槐花组和香蕉花组($P<0.05$)。发酵 12 h 时,各组的体外发酵液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度无显著差异($P>0.05$)。

高非纤维性碳水化合物底物中,发酵 3 h 时,槐花组的体外发酵液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度显著高于对照组、香蕉花组和杭白菊组($P<0.05$);发酵 6 h 时,槐花组的体外发酵液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度显著高于对照组($P<0.05$);发酵 9 h 时,槐花组的体外发酵液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度显著高于对照组、香蕉花组和杭白菊组($P<0.05$);发酵 12 h 时,各组的体外发酵液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度无显著差异($P>0.05$)。

2.4 槐花、香蕉花和杭白菊对体外发酵液 VFA 比例及浓度的影响

如图 1 所示,随着发酵的进行,体外发酵液总挥发性脂肪酸(total volatile fatty acid, TVFA)浓度逐渐增加,且对照组的体外发酵液 TVFA 浓度低于其他各组。常规底物中,发酵 3、6 h,对照组的体外发酵液 TVFA 浓度显著低于其他各组($P<0.05$);发酵 9 h 时,对照组的体外发酵液 TVFA 浓度与槐花组差异显著($P<0.05$);发酵 12 h 时,槐花组和杭白菊组的体外发酵液 TVFA 浓度显著高于对照组和香蕉花组($P<0.05$)。整个发酵过程中,香蕉花组的体外发酵液乙酸比例高于其他各组,且对照组与香蕉花组之间无显著差异($P>0.05$),槐花组与杭白菊组之间无显著差异($P>0.05$)。发酵 6、9、12 h 时,杭白菊、槐花组的体外发酵液丙酸比例显著高于香蕉花组和对照组($P<0.05$),杭白菊组与槐花组之间无显著差异($P>0.05$);发酵 12 h 时,香蕉花组的体外发酵液丙酸

比例显著低于其他各组($P<0.05$)。发酵 3 h 时,各组的体外发酵液丁酸比例无显著差异($P>0.05$);发酵 6、9、12 h 时,对照组的体外发酵液丁酸比例显著高于槐花组($P<0.05$),对照组与香蕉花组之间无显著差异($P>0.05$),槐花组与杭白菊组之间无显著差异($P>0.05$)。

高非纤维性碳水化合物底物中,发酵 3 h 时,各组的体外发酵液 TVFA 浓度无显著差异($P>0.05$);发酵 6、9 h 时,对照组的体外发酵液 TVFA 浓度显著低于其他各组($P<0.05$);发酵 12 h 时,杭白菊组的体外发酵液 TVFA 浓度显著高于香蕉花组和对照组($P<0.05$)。发酵 6 h 时,香蕉花组的体外发酵液乙酸比例显著高于槐花组和杭白菊组($P<0.05$);发酵 9 h 时,对照组的体外发酵液乙酸比例显著高于槐花组和杭白菊组($P<0.05$),且香蕉花组与对照组之间无显著差异($P>0.05$)。除发酵 12 h 槐花组的体外发酵液丙酸比例显著高于对照组($P<0.05$)外,其余时间槐花组、杭白菊组的体外发酵液丙酸比例显著高于对照组($P<0.05$),且槐花组与杭白菊组之间差异不显著($P>0.05$),香蕉花组与对照组之间差异不显著($P>0.05$)。发酵 6 h,对照组、香蕉花组的体外发酵液丁酸比例显著高于槐花组($P<0.05$);发酵 12 h 时,对照组的体外发酵液丁酸比例显著高于槐花组($P<0.05$)。

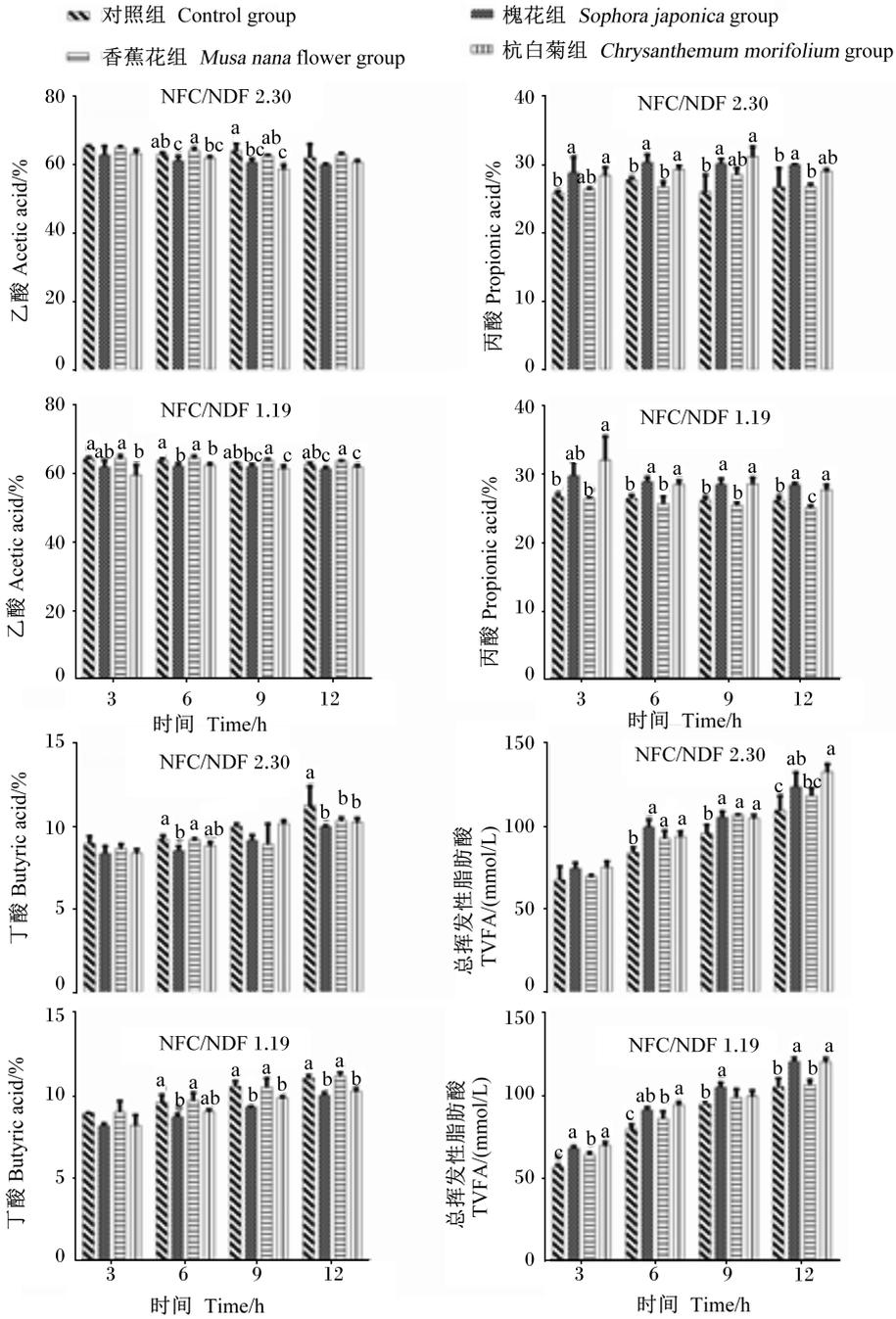
3 讨论

目前多数学者以瘤胃 pH 在 5.2~5.6、并且每天持续 3 h 作为诊断 SARA 的依据^[28]。试验结果显示,高非纤维性碳水化合物底物中添加香蕉花、槐花和杭白菊的发酵液 pH 低于对照组,但香蕉花组与对照组差异不显著,且常规底物中香蕉花组各发酵时期的 pH 高于对照组,说明香蕉花能维持瘤胃液 pH 的稳定。而槐花与杭白菊使发酵液 pH 降低,可能与发酵液 TVFA 的浓度有关。

反刍动物碳水化合物的利用都是以 VFA 的形式,特别是其中的乙酸、丙酸、丁酸,可占 TVFA 总量的 95% 左右^[21]。试验中植物添加组的体外发酵液 TVFA 浓度高于对照组;槐花组和杭白菊组的体外发酵液乙酸、丁酸比例低于对照组,体外发酵液丙酸比例高于对照组;而香蕉花组的体外发酵液乙酸比例高于对照组,体外发酵液丙酸比例低于对照组。造成这一差异的原因可能是因为槐花和杭白菊内含有较高比例的易降解的糖。范文秀

等^[29]对槐花进行营养成分分析时指出,槐花还原糖的含量为 4.12%。金潇潇^[30]对多种菊花进行分析,发现菊花可溶性糖的含量介于 1.86% ~ 8.40%。葛永斌等^[31]研究表明,杭白菊中果糖和

葡萄糖含量分别为 1.964%、1.712%,因此槐花和杭白菊在发酵时产生的丙酸更多。而香蕉花已经被证实含有大量的膳食纤维,且主要是不溶性纤维,所以发酵过程中容易产生更多的乙酸^[10,32]。



数据柱标相同小写字母表示差异不显著 ($P>0.05$), 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Value columns with the same small letter mean no significant difference ($P>0.05$), while with different small letters mean significant difference ($P<0.05$).

图 1 不同 NFC/NDF 培养底物中添加 3 种药用植物对体外发酵液 VFA 比例及浓度的影响
Fig.1 Effects of adding three medicinal plants into different NFC/NDF culture substrate on *in vitro* fermentation fluid VFA proportion and concentration

瘤胃酸中毒的原因十分的复杂,目前多数学者认为乳酸产生菌与乳酸利用菌的失衡导致乳酸在瘤胃中大量的蓄积是引起该病的主要原因^[33]。本试验中,体外发酵 12 h 时,植物添加组的体外发酵液乳酸浓度均低于对照组,且杭白菊组与对照组之间差异显著,说明在瘤胃发酵过程中添加杭白菊能显著缓解乳酸的累积。研究报道,杭白菊主要活性成之一的挥发油,具有抑制革兰氏阳性菌及其他有害菌生长的作用^[34]。而谢宝昌等^[35]把杭白菊与瘤胃细菌混合培养时证明无抑制作用,同时纤维分解菌的药敏试验也无抑制作用,这可能是因为纤维分解菌主要为革兰氏阴性菌造成的。瘤胃中乳酸产生菌大多为革兰氏阳性菌,而乳酸利用菌多为革兰氏阴性菌,因此杭白菊中的挥发油可能抑制了乳酸产生菌的繁殖或者相较于乳酸利用菌而言产生菌的抑制作用更强,从而缓解了在外诱导 SARA 情况下乳酸的堆积。

瘤胃液中的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度是反映瘤胃微生物对于饲料中含氮物质的利用情况的重要指标。本试验中,体外发酵 12 h 时,各组的体外发酵液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度无显著差异。但在发酵的过程中 3 种植物添加物组的体外发酵液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度与对照组存在差异,这可能是由于槐花、香蕉花和杭白菊中含有丰富的氨基酸等含氮物质,总的含氮量超过对照组,且瘤胃微生物氮的分解作用大于微生物对于氮的利用,所以在最初的发酵液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度会与对照组相比有所升高,但是随着发酵时间的延长,多余的氨也被瘤胃微生物利用,因此组间的差异不显著^[10,29,36]。

4 结 论

杭白菊能缓解瘤胃乳酸累积,而香蕉花则具有调控瘤胃 pH 相对恒定的能力,因此香蕉花和杭白菊在缓解瘤胃酸中毒方面有潜在价值。

参考文献:

[1] KRAUSE K M, OETZEL G R. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: a review [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2006, 126(3/4): 215-236.

[2] ERDMAN R A. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow: a review [J]. *Journal of Dairy Science*, 1988, 71(12): 3246-3266.

[3] HUTTON P, WHITE C L, DURMIC Z, et al. *Eremophila glabra* is an Australian plant that reduces lactic acid accumulation in an *in vitro* glucose challenge designed to simulate lactic acidosis in ruminants [J]. *Animal*, 2009, 3(9): 1254-1263.

[4] 国家药典委员会. 978-7-5067-7337-9 中华人民共和国药典 2015 年版. 一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 363.

[5] 冯学芝, 刘承华, 许晓莉. 槐花散加减在牛羊病上的应用 [J]. *中兽医学杂志*, 2007(3): 15-16.

[6] HE X, BAI Y, ZHAO Z, et al. Local and traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Sophora japonica* L.: a review [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, 187: 160-182.

[7] PARK K W, LEE J E, PARK K M. Diets containing *Sophora japonica* L. prevent weight gain in high-fat diet-induced obese mice [J]. *Nutrition Research*, 2009, 29(11): 819-824.

[8] JUNG C H, ZHOU S, DING G X, et al. Antihyperglycemic activity of herb extracts on streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2006, 70(10): 2556-2559.

[9] 苗明三, 李彩荣, 陈元朋. 槐花总黄酮对大鼠糖尿病模型血清胰岛素、瘦素和 C-肽水平的影响 [J]. *中国现代应用药学*, 2011, 28(10): 896-898.

[10] 刘生财, 赖钟雄. 香蕉花蕾食用价值和药用价值的开发与利用 [J]. *中国农业科技导报*, 2012, 14(3): 80-84.

[11] NGAMSAENG A, WANAPAT M, KHAMPA S. Evaluation of local tropical plants by *in vitro* rumen fermentation and their effects on fermentation end-products [J]. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2006, 5(5): 414-418.

[12] KANG S, WANAPAT M, CHERDTHORNG A. Effect of banana flower powder supplementation as a rumen buffer on rumen fermentation efficiency and nutrient digestibility in dairy steers fed a high-concentrate diet [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2014, 196: 32-41.

[13] KANG S, WANAPAT M, CHERDTHORNG A, et al. Comparison of banana flower powder and sodium bicarbonate supplementation on rumen fermentation and milk production in dairy cows [J]. *Animal Production Science*, 2015, 56(10): 1650-1661.

[14] 张慧芳, 许秀萍, 孙宗森. HPLC 法同时测定杭菊中 6 种成分的含量 [J]. *中药材*, 2014, 37(11): 2030-2033.

[15] 夏道宗, 吕圭源, 于新芬, 等. 杭白菊总黄酮对铅诱导

- 小鼠氧化损伤的拮抗效应研究[J].中国中药杂志, 2008, 33(23):2803-2808.
- [16] YAMAMOTO J, TADAISHI M, YAMANE T, et al. Hot water extracts of edible *Chrysanthemum morifolium* Ramat. Exert antidiabetic effects in obese diabetic KK-Ay mice[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2015, 79(7):1147-1154.
- [17] 潘晓花. 硫胺素对 SARA 状态下奶牛瘤胃发酵及瘤胃菌群结构的影响[D]. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学, 2013.
- [18] 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.
- [19] ERWIN E S, MARCO G J, EMERY E M, et al. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography[J]. Journal of Dairy Science, 1961, 44(9):1768-1771.
- [20] BRODERICK G A, KANG J H. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media[J]. Journal of Dairy Science, 1980, 63(1):64-75.
- [21] 冯仰廉, 卢德勋, 陆治年, 等. 反刍动物营养学[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [22] 熊本海, 罗清尧, 周正奎, 等. 中国饲料成分及营养价值表(2018年第29版)制定说明[J]. 中国饲料, 2018(21):64-73.
- [23] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 6435—2014 饲料中水分的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [24] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. GB/T 6432—2018 饲料中粗蛋白的测定 凯氏定氮法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
- [25] 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.
- [26] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 6436—2002 饲料中钙的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [27] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 6437—2002 饲料中总磷的测定 分光光度法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [28] GOZHO G N, PLAIZIER J C, KRAUSE D O, et al. Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response[J]. Journal of Dairy Science, 2005, 88(4):1399-1403.
- [29] 范文秀, 张玉泉, 王泽云, 等. 洋槐叶和槐花中营养成分分析的研究[J]. 广东微量元素科学, 2004, 11(11):51-53.
- [30] 金潇潇. 部分菊花品种的营养品质评价[D]. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学, 2008.
- [31] 葛永斌, 燕傲蕾, 徐娟, 等. 不同产地的4种药用菊花成分差异与其影响因素[J]. 黄山学院学报, 2015, 17(3):65-67.
- [32] BHASKAR J J, SHOBHA M S, SAMBAIAH K, et al. Beneficial effects of banana (*Musa* sp. var. elakki bale) flower and pseudostem on hyperglycemia and advanced glycation end-products (AGEs) in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Journal of Physiology and Biochemistry, 2011, 67(3):415-425.
- [33] LETTAT A, NOZIÈRE P, SILBERBERG M, et al. Rumen microbial and fermentation characteristics are affected differently by bacterial probiotic supplementation during induced lactic and subacute acidosis in sheep[J]. BMC Microbiology, 2012, 12:142.
- [34] 谢占芳, 张倩倩, 朱凌佳, 等. 菊花化学成分及药理活性研究进展[J]. 河南大学学报(医学版), 2015, 34(4):290-300.
- [35] 谢宝昌, 东彦新, 吉增福. 30种中药对瘤胃细菌的影响[J]. 中兽医医药杂志, 1999(6):11-13.
- [36] 汪涛. 杭菊品质比较及其影响因子研究[D]. 博士学位论文. 南京: 南京农业大学, 2012.

Alleviating Effects of Adding *Sophora japonica*, *Musa nana* flower and *Chrysanthemum morifolium* on Induced Artificial Rumen Acidosis *in Vitro*

FAN Yaotian SUN Jie* XIA Guangliang ZHAO Fangfang SUN Hua WANG Hongrong**

(College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: The aim of this experiment was to investigate the alleviating effect of adding *Sophora japonica*, *Musa nana* flower and *Chrysanthemum morifolium* on induced artificial rumen acidosis *in vitro*, and to provide a theoretical basis for the application of alleviating rumen acidosis in production. The experiment used *in vitro* batch culture to study the effects of adding *Sophora japonica*, *Musa nana* flower and *Chrysanthemum morifolium* on rumen fermentation parameters in substance with high non-fibrous carbohydrates substance [non-fibrous carbohydrates/neutral detergent fiber (NFC/NDF) was 2.30] and conventional substance (NFC/NDF was 1.19), respectively. Single factor design was used in the experiment, the experiment was divided into 4 groups, and each group was repeated 3 times. Three plants were added 10 mg/mL in rumen fluid, and the control group did not add plant powder. Samples were collected on 3, 6, 9 and 12 h cultured *in vitro* and fermentation parameters were measured. The results showed as follows: 1) in conventional substance, the pH at each fermentation stage of *Musa nana* flower group was higher than that of the control group ($P>0.05$); in high non-fibrous carbohydrates substance, the pH at each fermentation stage of control group was significantly higher than that of *Chrysanthemum morifolium* group ($P<0.05$). 2) In conventional substance, at fermentation 3 and 6 h, the concentration of lactic acid in fermentation fluid *in vitro* of *Musa nana* flower group was significantly higher than that of the control group ($P<0.05$); at fermentation 12 h, the concentration of lactic acid in fermentation fluid *in vitro* of *Sophora japonica* group, *Musa nana* flower group and *Chrysanthemum morifolium* group was significantly lower than that of the control group ($P<0.05$). In high non-fibrous carbohydrates substance, at fermentation 3 and 6 h, the concentration of lactic acid in fermentation fluid *in vitro* of *Musa nana* flower group was significantly higher than that of the control group ($P<0.05$); at fermentation 12 h, the concentration of lactic acid in fermentation fluid *in vitro* of *Chrysanthemum morifolium* group was significantly lower than that of the control group ($P<0.05$). 3) At fermentation 12 h, there was no significant difference on concentration of ammonia nitrogen in fermentation fluid *in vitro* among all groups ($P>0.05$), but there were differences in the fermentation process. 4) In conventional substance, at fermentation 12 h, the total volatile fatty acids concentration and propionic acid proportion in fermentation fluid *in vitro* of *Sophora japonica* group and *Chrysanthemum morifolium* group were significantly higher than that of control group and *Musa nana* flower group ($P<0.05$), and the proportions of acetic acid and butyric acid were significantly lower than that of control group and *Musa nana* flower group ($P<0.05$). In high non-fibrous carbohydrates substance, at fermentation 12 h, the concentration of total volatile fatty acids in fermentation fluid *in vitro* of *Chrysanthemum morifolium* group were significantly higher than that of control group and *Musa nana* flower group ($P<0.05$), and the proportions of acetic acid, propionic acid and butyric acid had no significant difference with the control group ($P>0.05$). In conclusion, *Chrysanthemum morifolium* can alleviate the accumulation of lactic acid in rumen, and *Musa nana* flower can balance the rumen pH, therefore *Musa nana* flower and *Chrysanthemum morifolium* have potential ability to alleviate rumen acidosis. [Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(10):4757-4765]

Key words: *Sophora japonica*; *Musa nana* flower; *Chrysanthemum morifolium*; rumen acidosis

* Contributed equally

** Corresponding author, professor, E-mail: hrwang@yzu.edu.cn