

丝兰皂甙对绵羊瘤胃酶活及日粮养分48 h 降解率的影响

刘春龙^{1,3}, 李忠秋², 孙海霞¹

(1 中国科学院 东北地理与农业生态研究所, 黑龙江 哈尔滨 150040;

2 黑龙江省农业科学院 畜牧研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150086;

3 东北农业大学 动物营养研究所, 黑龙江 哈尔滨 150030)

[摘 要] 将12只装有永久性瘘管的成年雄性东北细毛羊随机分为4组, 分别饲喂含0, 100, 200和300 mg/kg 丝兰皂甙的饲料, 研究了不同水平丝兰皂甙对绵羊瘤胃内纤维素酶、总脱氢酶活性的影响, 及其对全混合日粮有机物(OM)、干物质(DM)、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF) 48 h 瘤胃降解率的影响。结果表明, 各试验组绵羊瘤胃内的总脱氢酶平均活性依次为95.62, 97.36, 99.48和101.54 U/mL, 与对照组(第1组)相比, 第4组总脱氢酶活性提高了6.2%; 纤维素酶平均活性第2、3和4组分别较对照组(44.66 U/mL)提高了5.2%, 8.5%和16.7%, 其中第4组同1、2组相比达显著水平($P < 0.05$), 第1、2、3组间差异不显著($P > 0.05$); 第2、3、4组OM 瘤胃48 h 降解率分别为59.90%, 62.28%和64.65%, 均高于对照组的58.74%, 其中第4组高于对照组10.06%, 二者差异显著($P < 0.05$); DM 和NDF 48 h 降解率均以第4组最高, 分别为57.54%和34.12%, 显著高于对照组的13.07%和13.06%; 1~4组ADF 48 h 降解率虽有上升趋势, 但4组间差异不显著($P > 0.05$)。

[关键词] 丝兰皂甙; 绵羊; 纤维素酶; 总脱氢酶; 瘤胃48 h 降解率

[中图分类号] S816.32; S826.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)04-0028-04

丝兰皂甙(Sarsa-saponine)是从丝兰属植物(*Yucca schidigera*)中提取出的一种具有生物活性的物质, 又称丝兰皂角苷、沙皂素, 按结构属甾体皂甙, 主要包括萨洒皂苷配基(Sarsapogenin)、菝葜配基(Smilagenin)、龙舌兰皂苷配基(Hecogenin)。丝兰皂甙是最早应用于饲料生产的皂甙类之一, 近年来国内外大量的试验研究^[1-5]证明, 丝兰皂甙有极强的吸收氨、硫化氢等畜舍有害气体的能力, 在养殖业中能改善畜舍环境, 提高蛋鸡产蛋率、降低肉鸡腹水症、提高仔猪日增重和生长育肥猪的饲料转化效率; 在反刍动物生产中有改善瘤胃厌氧微生物发酵水平、提高粗饲料利用率的作用^[6-10], 在国外被广泛用于反刍动物瘤胃营养调控剂, 通过其对瘤胃发酵水平的调控, 间接达到提高生产性能的目的。随着对反刍动物瘤胃调控技术研究的不断深入, 其优良的生理活性和生产效果日益引起人们的重视。本试验通过探讨不同浓度丝兰皂甙对绵羊瘤胃内纤维素酶、总脱氢酶活性及全混合日粮干物质(DM)、有机物质(OM)、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维

(ADF)瘤胃48 h 降解率的影响, 研究了各指标间相互影响的机制, 为丝兰皂甙在反刍动物生产中的应用提供了参考和依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物与日粮

1.1.1 试验动物 选用12只装有永久性瘘管的成年雄性东北细毛羊, 体重40 kg左右, 羊只生长发育正常, 食欲良好, 健康无病, 试验前作统一驱虫处理。

1.1.2 试验日粮 饲料精粗质量比为1:1, 以羊草为粗料, 用前粉碎, 各组饲料配方组成见表1。

1.2 饲养管理及试验设计

1.2.1 饲养管理 试羊单饲, 每日8:00和16:00以先粗料后精料的顺序饲喂, 早9:00和晚17:00后各饮水1次, 注意观察羊只采食和反刍情况。

1.2.2 试验设计 采用单因素随机区组试验, 将供试羊随机分成4组, 每组3只, 第1组为对照, 饲喂基础日粮; 2~4组分别饲喂添加不同水平丝兰皂甙(分别为100, 200, 300 mg/kg)的日粮。

· [收稿日期] 2005-08-16

[基金项目] 黑龙江省青年科学基金(QC05C71); 中科院东北地理与农业生态研究所知识创新前沿项目(KZCX3-3W-NA-10)

[作者简介] 刘春龙(1976-), 男, 黑龙江牡丹江市人, 助理研究员, 在读博士, 主要从事反刍动物营养研究。

表1 东北细毛羊各丝兰皂甙试验组饲粮组成

Table 1 Composition and nutrit level of sarsa-saponine treatment group diet for sheep				
原料 Ingredient	第1组(CK) Group 1	第2组 Group 2	第3组 Group 3	第4组 Group 4
羊草/(g·kg ⁻¹) <i>Leymus chinensis</i>	500	500	500	500
玉米/(g·kg ⁻¹) Corn	390	390	390	390
豆饼/(g·kg ⁻¹) Soybean meal	75	75	75	75
尿素/(g·kg ⁻¹) Urea	10	10	10	10
硫酸钠/(g·kg ⁻¹) Glauber's salt	1	1	1	1
食盐/(g·kg ⁻¹) Salt	5	5	5	5
石粉/(g·kg ⁻¹) Limestone	5	5	5	5
磷酸氢钙/(g·kg ⁻¹) Calcium hydrogenphosphate	9	9	9	9
多维/(g·kg ⁻¹) Vitamine premix	3	3	3	3
微量元素/(g·kg ⁻¹) Mineral premix	2	2	2	2
丝兰皂甙/(mg·kg ⁻¹) Sarsa-saponine	0	100	200	300
合计 Total	1 000	1 000	1 000	1 000
营养水平 Nutrit level				
消化能/(MJ·kg ⁻¹) ME	11.04	11.04	11.04	11.04
粗蛋白/(g·kg ⁻¹) CP	123.7	123.7	123.7	123.7
钙/(g·kg ⁻¹) Ca	6.2	6.2	6.2	6.2
磷/(g·kg ⁻¹) P	4.1	4.1	4.1	4.1

注: (1) 微量元素预混剂含有 (g/kg): FeSO₄·H₂O 230, CuSO₄·5H₂O 100, MnSO₄·H₂O 140, ZnSO₄·H₂O 170, Na₂SeO₄ 0.5, KI 0.6, CoCl₂·6H₂O 1.6。 (2) 维生素预混剂含有 (IU/kg): 维生素A 1 000 000, 维生素D 500 000 和维生素E 10 000。
Note: (1) Trace mineral premix (g/kg): FeSO₄·H₂O 230, CuSO₄·5H₂O 100, MnSO₄·H₂O 140, ZnSO₄·H₂O 170, Na₂SeO₄ 0.5, KI 0.6 and CoCl₂·6H₂O 1.6 (2) Vitamin premix contained (IU/kg): Vitamin A 1 000 000, Vitamin D 500 000 and Vitamin E 10 000

1.3 尼龙袋的制备及样品的处理

尼龙袋采用孔径为40 μm 的尼龙筛网, 规格为25 mm × 90 mm, 长方形, 尼龙袋的边用尼龙双线缝合, 并用火将边烤焦, 以免脱丝。在双线缝合处用防水胶涂布针眼处, 以免影响饲粮养分的消失率。待测饲料粉碎后, 过2.5 mm 孔径的筛网, 称取4 g 左右, 装于尼龙袋内, 并于袋内置直径0.4 cm 的钢珠, 以保证尼龙袋沉于瘤胃液中不漂浮。

每组5个袋固定在一根长25 cm 的半软聚乙烯管一端, 于正试后第10天8:00 晨饲前将尼龙袋放置于瘤胃内, 另一端固定在瘤胃瘘管柱上。在瘤胃内作用48 h 后取出, 在38℃ 的温水中漂洗至水澄清, 在65℃ 的烘箱中烘至恒重, 而后将各处理的5个尼龙袋中的剩余样品混合, 用于测定各处理组饲料的干物质(DM)、有机物质(OM)、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)在绵羊瘤胃内的48 h 消失率。

1.4 瘤胃液的采集

分别于试验的第0, 7, 14, 21 和28 天采食后2 h, 用自制负压取样器(该取样器吸头部位包有孔径为17.5 μm 的尼龙网)在瘤胃腹囊部位吸取瘤胃液30 mL, 直接用于酶活测定。

1.5 测定项目与方法

总脱氢酶活力按哈兹耶夫描述的方法测定^[11]; 纤维素酶活力按Stewart^[12]的方法测定; OM、DM、

NDF 和ADF 含量均采用常规方法测定。

1.6 统计分析

采用SAS(Ver 6.12)软件包中的GLM 过程(一般线性模型过程), 对试验数据进行方差分析及多重比较, 利用Means 过程计算平均数及标准误。

2 结果与分析

2.1 丝兰皂甙对绵羊瘤胃总脱氢酶和纤维素酶活性的影响

由表2 可以看出, 各处理组总脱氢酶活性随采样时间无明显变化规律。综合每组5 次采样数据的平均结果, 对照组和第2、3、4 组总脱氢酶活性分别为95.62, 97.33, 99.48 和101.54 U/mL; 第2、3、4 组与对照组相比, 总脱氢酶活性分别提高1.83%, 4.04% 和6.19%。可见, 随着丝兰皂甙添加水平的升高, 总脱氢酶活性有上升的趋势, 但各组间差异不显著(P>0.05)。

各组纤维素酶平均活性随丝兰皂甙添加水平的升高而表现出上升的趋势。第2、3、4 组纤维素酶活性分别为46.97, 48.47 和52.13 U/mL, 分别较对照组(44.66 U/mL) 纤维素酶活性提高了5.17%, 8.53% 和16.73%, 其中第4 组与对照组、第2 组相比达显著水平(P<0.05), 而第2、3 组与对照组相比差异不显著(P>0.05)。

表2 丝兰皂甙对绵羊瘤胃总脱氢酶和纤维素酶活性的影响($\bar{X} \pm \text{SD}$)

Table 2 Effects of Sarsa-saponine on total dehydrogenase and cellulase activity

组别 Group	总脱氢酶/(U · mL ⁻¹) Total dehydrogenase					平均 Mean
	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d	
第1组(CK) Group 1	93.53 ± 1.54	94.68 ± 1.38	98.73 ± 1.57	99.22 ± 1.13	91.93 ± 0.93	95.62 ± 3.22 a
第2组 Group 2	94.97 ± 1.21	95.56 ± 1.25	104.71 ± 1.37	97.99 ± 1.09	93.58 ± 1.32	97.33 ± 4.41 a
第3组 Group 3	92.18 ± 1.06	106.74 ± 1.06	106.99 ± 1.08	98.98 ± 1.36	92.50 ± 1.05	99.48 ± 7.27 a
第4组 Group 4	91.77 ± 1.53	106.20 ± 1.72	114.74 ± 1.13	100.16 ± 1.26	94.81 ± 1.14	101.54 ± 9.10 a

组别 Group	纤维素酶/(U · mL ⁻¹) Cellulase					平均 Mean
	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d	
第1组(CK) Group 1	41.32 ± 5.02	43.95 ± 7.53	45.46 ± 6.56	45.92 ± 7.14	46.67 ± 7.62	44.66 ± 2.12 b
第2组 Group 2	38.69 ± 10.12	44.57 ± 9.81	48.31 ± 4.96	47.85 ± 3.07	55.45 ± 5.37	46.97 ± 6.10 b
第3组 Group 3	42.17 ± 5.98	49.81 ± 6.58	47.48 ± 9.12	49.83 ± 7.51	53.09 ± 8.33	48.47 ± 4.05 ab
第4组 Group 4	39.24 ± 7.93	50.05 ± 8.26	52.73 ± 3.93	57.76 ± 6.59	60.85 ± 4.38	52.13 ± 8.35 a

注: 同列数据后标不同字母者为差异显著 ($P < 0.05$)。下表同。
Note: Different letter within column represent significant difference ($P < 0.05$). The following table is the same.

2.2 丝兰皂甙对全混合日粮养分在绵羊瘤胃中48 h 降解率的影响

由表3可知,OM、DM、NDF和ADF的48 h瘤胃降解率均随丝兰皂甙添加水平的增加而呈上升趋势。第2、3、4组饲料的OM 48 h降解率分别为59.90%、62.28%和64.65%,均高于对照组的58.74%,其中第4组高于对照组10.06%,二者存在显著差异($P < 0.05$),第2、3组虽也高于对照组,但差异不显著($P > 0.05$);DM和NDF的48 h降解率均以第4组最高,分别为57.54%和34.12%,分别较对照组高13.07%和13.06%,差异显著($P < 0.05$),第2、3组降解率与对照组相比差异不显著($P > 0.05$);ADF 48 h降解率随着丝兰皂甙添加水平的增加呈上升趋势,但各组间差异不显著($P > 0.05$)。

表3 丝兰皂甙对日粮养分在绵羊瘤胃中48 h 降解率的影响($\bar{X} \pm \text{SD}$)

Table 3 Effects of Sarsa-saponine on degradability at 48 h for trial diets in the rumen %

组别 Group	OM NLD	DM NLD	NDF NLD	ADF NLD
第1组(CK) Group 1	58.74 ± 1.30 b	50.89 ± 3.80 a	30.18 ± 1.32 b	28.64 ± 1.93 a
第2组 Group 2	59.90 ± 2.74 ab	52.89 ± 3.38 ab	31.24 ± 1.15 ab	29.19 ± 2.26 a
第3组 Group 3	62.28 ± 2.35 ab	55.31 ± 3.15 ab	32.73 ± 2.59 ab	29.17 ± 1.54 a
第4组 Group 4	64.65 ± 1.76 a	57.54 ± 3.34 a	34.12 ± 2.19 a	30.73 ± 0.55 a

3 讨论

瘤胃液中各种酶的活性与瘤胃微生物的数量和代谢之间有密切关系。对瘤胃液中重要酶的活性进行测定,可间接评定微生物整体活力、区系分布及微生物蛋白(MCP)产量的变化。瘤胃中主要的纤维分解菌是白色瘤胃球菌、黄色瘤胃球菌和溶纤维丁酸弧菌,其中溶纤维丁酸弧菌中只有少量几个菌种能大量降解植物细胞壁中的纤维素^[13]。研究^[14-15]表明,丝兰皂甙具有很强的生物活性,能刺激纤维素分解菌的增殖,从而增加纤维素酶的活性。在瘤胃中发

现的总脱氢酶主要是以NAD⁺和NADP⁺为辅基的谷氨酸脱氢酶(GDH)和乳酸脱氢酶,其中以NAD为辅基的GDH很可能是瘤胃微生物利用氨合成蛋白质的最重要的酶,因此,总脱氢酶直接反映了微生物发酵时脱氢酶传递氢的能力,即整体微生物的活力水平。本试验结果表明,随着丝兰皂甙添加水平的升高,总脱氢酶活性有上升的趋势,这种变化趋势说明丝兰皂甙可能提高了瘤胃内微生物的整体活力,有利于其生长繁殖,从而引起瘤胃整体发酵水平的提高,导致瘤胃中MCP产量的增加。

尼龙袋法是评价饲料养分瘤胃降解率的简便易

行的方法,且能反应瘤胃实际生理环境。尼龙袋法的准确性受其规格、孔径大小、饲料样本量、冲洗方法、试验动物饲料及饲养水平等多种因素的影响。本试验在严格控制以上影响因素的条件下,探讨了丝兰皂甙对OM、DM、NDF和ADF在瘤胃中48 h降解率的影响,试验结果准确、可靠。本试验结果表明,丝兰皂甙对全混合日粮(TMR)中OM、DM、NDF和ADF 48 h瘤胃降解率的影响规律相似,即降解率随丝兰皂甙添加水平的增加而呈上升趋势,这与总脱氢酶及纤维素酶活性的变化趋势相同。

日粮中的大部分营养成分都要经过瘤胃的发酵才能被反刍动物所利用,粗饲料在瘤胃中消化除与粗饲料的木质化程度及其在瘤胃中滞留的时间有关

外,还受瘤胃内环境因素(如pH值、渗透压、氨和TVFA浓度、VFA比例等)的影响。饲料纤维的利用率与瘤胃pH值密切相关,当pH值小于6.0时,纤维素分解菌的活性可受到抑制。本研究的前期试验表明,丝兰皂甙的添加有利于瘤胃pH值的稳定及原虫数量的减少,因此有利于瘤胃内微生物整体活力的增强,尤其对纤维分解菌消化纤维起到重要作用。另外,瘤胃微生物中18%~100%的氮源来源于NH₃,丝兰皂甙可能具有抑制脲酶活性的作用^[14],使饲料中尿素分解的速度与微生物合成菌体蛋白质的速度相协调,有利于瘤胃微生物种群和数量的变化,进而导致瘤胃发酵水平的提高。

[参考文献]

- [1] Bar A L. Effect of dietary yucca schidigera extract (Deorodrase) on environmental ammonia and growth performance of chickens and rabbits[J]. J Anim Sci, 1993, 71(suppl 1): 1114
- [2] Crober D C. Optimizing winter layer house temperature and animal levels using a computerized ventilation control system and a yucca extract[J]. Poultry Sci, 1994, 73(suppl 1): 36-38
- [3] Denis R. Yucca extract controls atmosphere ammonia levels[J]. Feedstuffs, 1990, 7: 15-16
- [4] Yeo J, Kim K I. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks[J]. Poult Sci, 1997, 76(2): 381-385
- [5] Goetsch A L, Owens F N. Effect of sarsaponin on digestion and passage rates in cattle fed medium to low concentrate[J]. J Anim Sci, 1985, 60: 2377-2384
- [6] Alexander N, Hristov. Effects of yucca schidigera on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers[J]. J Anim Sci, 1999, 77: 2554-2563
- [7] Girard. Fermentations in rumen-stimulating cultures receiving yucca extrasupplementation[J]. J Anim Sci, 1991, 69(suppl 1): 498-500
- [8] Mould F L, Ørskov E R. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate[J]. Anim Feed Sci Technol, 1983(10): 1-4
- [9] Wallace R J, Arthaud L, Newbold C J. Influence of extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms[J]. Appl Environ Microbiol, 1994, 60: 1762-1767
- [10] Ryan. The complementary effects of saccharomyces cerevisiae yeast culture and yucca schidigera extract on metabolism in sheep[J]. J Anim Sci, 1993, 71(suppl 1): 91-97
- [11] Humayan D B, Nagaraja T G, Miller G W, et al. Rumen microbial changes in cattle fed diets with or without salinomycin[J]. Appl Environ Microbiol, 1986, 51(2): 340-345
- [12] Stewart C S. Factors affecting the cellulolytic activity of rumen contents[J]. Appl Environ Microbiol, 33: 497-502
- [13] Kong Z. Separation and characterization of biologically important substances[D]. Urbana-Champaign: University of Illinois, 1998
- [14] Preston R L, Barte S J, May T, et al. Influence of sarsaponin on growth, feed and nitrogen utilization in growing male rats fed diets with added urea or protein[J]. J Anim Sci, 1987, 65: 481-487
- [15] Asplund R O. Urease inhibition by extract fractions from species of the plant genus yucca[J]. J Anim Sci, 1991, 69(suppl 1): 3113

(下转第38页)

- [13] Loretta Bacchetta, Patrizio C, Remotti, et al Adventitious shoot regeneration from leaf explants and stem nodes of *Lilium* [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2003, 74(1): 37-44
- [14] 曹孜义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 2003: 14-15
- [15] 刘选明, 周朴华, 屈妹存, 等. 百合鳞片叶离体诱导形成不定芽和体细胞胚[J]. 园艺学报, 1997, 24(4): 353-358
- [16] 桂耀林, 马 诚. 植物组织培养[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 53-61
- [17] 董建新, 马志卿, 李广泽, 等. 除虫菊愈伤组织的诱导和继代[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(3): 80-82

Establishment of gene transformation acceptor system of callus in *Lilium*

MENG Rui, LIU Ya-li, WANG Yue-jin, ZHANG Jian-xia

(College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Experiments of the callus induction, regeneration of adventitious buds, the sensibility of callus to hygromycin and rooting were conducted with the scale leaf, the regenerated scale leaf and petioles as explants. The results showed abundant calluses could be induced from the three explants by the same media. The combination of MS + 0.5 mg/L NAA + 0.4 mg/L 6-BA + 90 g/L sucrose + 4.0 mg/L VB₁ was the optimum medium for the induction of calluses; the medium of MS + 0.5 mg/L 6-BA was the best medium for regeneration of adventitious buds from callus, and the medium of 1/2 MS + 0.4 mg/L 6-BA + 0.1% active carbon was the best for rooting.

Key words: *Lilium* oriental 'Sorbonne'; callus induction; adventitious buds; sensibility screen of hygromycin

(上接第31页)

Abstract ID: 1671-9387(2006)04-0028-EA

Effects of sarsa-saponine on enzyme activity and diet nutrient 48 h apparent digestibility on rumen

LIU Chun-long^{1,3}, LI Zhong-qiu², SUN Hai-xia¹

(1 Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin, Heilongjiang 150040, China;

2 Animal Science Research Centre, Heilongjiang Academy of Agricultural Research, Harbin, Heilongjiang 150086, China;

3 Animal Nutrition Institute, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China)

Abstract: Twelve male adult local sheep with permanent rumen cannula were used to study the effect of four levels of Sarsa-saponine (0, 100, 200 and 300 mg/kg) on Enzyme Activity and Diet Nutrient 48 h Apparent Digestibility on Rumen. The experiment was a completely randomized block design. Enzymes activity of ruminal liquid were measured 2 h after feeding every seven days during the twenty-eight days. According to the results of the five days, the changing trends of activities of total dehydrogenase and cellulase were increased as the level of Sarsa-saponine increased. Cellulase activity was distinctly influenced at a level of 300 mg/kg compared with control and 100 mg/kg group. The effect of the three levels of Sarsa-saponine on the rumen degradability of DM, OM, NDF and ADF in 48 h were evaluated with nylon bags. The results showed that the trends of degradability of nutrient material increased as Sarsa-saponine supplement increased. Rumen degradability of OM, DM, NDF in 48 h for 300 mg/kg Sarsa-saponine was distinctly influenced compared with control and 100 mg/kg group ($P < 0.05$), but the rumen degradabilities of ADF in 48 h in four groups were not distinctly influenced.

Key words: sarsa-saponine; sheep; cellulase; total dehydrogenase; 48 h apparent digestibility on rumen