



饲料添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对绵羊生长性能与瘤胃发酵的影响

郑伟才¹, 郝小燕¹, 张宏祥², 项斌伟³, 张文佳³, 张春香¹, 张建新¹

(¹ 山西农业大学动物科技学院, 山西太谷 030801; ² 山西祥和岭上农牧开发有限公司, 山西右玉 037200; ³ 山西省右玉县畜牧局, 山西右玉 037200)

摘要:【目的】研究饲料中添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对绵羊生长性能和瘤胃发酵的影响, 为酿酒酵母和地衣芽孢杆菌在肉羊饲料中的合理应用提供理论依据。【方法】试验选用 48 只 4 月龄、体重相近 (22.96 ± 2.00) kg、健康的杜泊 × 小尾寒羊杂交 F₁ 代公羔, 根据饲喂添加剂不同随机分为 4 组: D (对照组, 两种菌均不添加); D1 (酿酒酵母, 6×10^{10} CFU/kg); D2 (地衣芽孢杆菌, 2×10^{10} CFU/kg); D3 (酿酒酵母 6×10^{10} CFU/kg+地衣芽孢杆菌 2×10^{10} CFU/kg), 每组 12 只羊, 试验期共 75 d, 前 15 d 为适应期, 正饲期 60d。试验羊每天分别于 08:00 和 18:00 进行饲喂, 自由采食和饮水。正饲期内每天准确称量记录每只试验羊的喂料量和剩料量, 并在第 1、30、60 天晨饲前对试验羊进行称重, 计算平均日采食量、平均日增重 (ADG) 及料重比 (F/G)。试验结束当天 08:00 正常饲喂试验羊, 3 h 后采集瘤胃液, 测定发酵参数、消化酶活性以及功能微生物。【结果】1) 饲料中添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对试验羊的初始体重和终末体重及平均采食量的影响均不显著 ($P > 0.05$), D3 组的 ADG 显著高于 D 组 ($P < 0.05$), D3 组的 F/G 显著低于 D 组 ($P < 0.05$), D1 和 D2 组的 F/G 差异不显著 ($P > 0.05$); 2) 饲料中添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对瘤胃液 pH、丁酸浓度及乙丙比的影响均不显著 ($P > 0.05$), D3 组的 NH₃-N 浓度显著低于 D 组 ($P < 0.05$), TVFA 和丙酸浓度显著高于 D 组 ($P < 0.05$), 且 D3 组与 D1 和 D2 组均差异不显著 ($P > 0.05$), D3 和 D2 组的乙酸浓度显著高于 D1 与 D 组 ($P < 0.05$); 3) D3 组的 β -葡萄糖苷酶、羟甲基纤维素酶、木聚糖酶及淀粉酶活性均显著高于其他 3 组 ($P < 0.05$)。D1 和 D2 组的 β -葡萄糖苷酶、果胶酶、羟甲基纤维素酶及淀粉酶活性与 D 组无显著差异 ($P > 0.05$)。D3 组蛋白酶活性显著高于 D 和 D2 组 ($P < 0.05$), 与 D1 组差异不显著 ($P > 0.05$), D1 和 D2 组的 β -葡萄糖苷酶、果胶酶、羟甲基纤维素酶、木聚糖酶、蛋白酶及淀粉酶活性均差异不显著 ($P > 0.05$); 4) 添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对黄色瘤胃球菌、栖瘤胃普雷沃氏菌、嗜淀粉瘤胃杆菌和原虫数量的影响不显著 ($P > 0.05$), D3 组的溶纤维丁酸弧菌数显著高于其他 3 组 ($P < 0.05$), 白色瘤胃球菌和产琥珀酸丝状杆菌显著高于 D 组 ($P < 0.05$), 但与 D1 和 D2 组差异不显著 ($P > 0.05$)。与对照组相比, 试验组产甲烷菌数量显著降低 ($P < 0.05$), 其中 D3 组最低。【结论】饲料中添加 6×10^{10} CFU/kg 酿酒酵母和 2×10^{10} CFU/kg 地衣芽孢杆菌均会对绵羊瘤胃发酵产生积极影响, 提高了瘤胃消化酶的活性, 增加了瘤胃有益菌的数量, 且二者组合饲喂效果更加显著。

关键词: 酿酒酵母; 地衣芽孢杆菌; 瘤胃发酵; 酶活性; 瘤胃微生物区系; 绵羊

Effects of *Saccharomyces Cerevisiae* and *Bacillus Licheniformis* on Growth Performance and Rumen Fermentation in Sheep

ZHENG WeiCai¹, HAO XiaoYan¹, ZHANG HongXiang², XIANG BinWei³,
ZHANG WenJia³, ZHANG ChunXiang¹, ZHANG JianXin¹

收稿日期: 2019-09-12; 接受日期: 2019-12-05

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFD0502104)、现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-38)、山西省“1331”工程建设项目 (J201811301)、山西省肉羊繁育工程技术中心项目、山西农业大学畜牧学学科建设专项课题资助

联系方式: 郑伟才, Tel: 18404983839; E-mail: 928156387@qq.com。通信作者张建新, E-mail: ypzjx@126.com

¹College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, Shanxi;

²Shanxi Xianghelingshang Farm Animal Husbandry Development Co, Ltd., Youyu 037200, Shanxi;

³Animal Husbandry Bureau of Youyu County, Youyu 037200, Shanxi)

Abstract: 【Objective】 The objective of this experiment was to study the effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus licheniformis* on growth performance and rumen fermentation in sheep. **【Method】** A total of 48 four-month-old healthy Dorper×Small Tail Han sheep ram lambs with similar body weight (22.96±2.00 kg) were randomly selected into 4 groups: D (the control group, without both bacteria); D1 (only adding *Saccharomyces cerevisiae*, 6×10¹⁰ CFU/kg), D2 (only adding *Bacillus licheniformis*, 2×10¹⁰ CFU/kg), and D3 (*Saccharomyces cerevisiae* 6×10¹⁰ CFU/kg + *Bacillus licheniformis* 2×10¹⁰ CFU/kg), with 12 sheep of each group. The experiment was conducted over 75d, with a 15d adaptation and a 60d the formal period. The experimental sheep were fed 2 times per day (08:00 a.m., 18:00 p.m.), free ingestion and free drinking water. During the normal feeding period, each experimental sheep were recorded accurately the amount of feed and residual of weight every day. The experimental sheep were weighed before the morning feeding on the 1st, 30th and 60th day, and the average daily intake, average daily gain (ADG) and Feed/Gain (F/G) value were calculated. At 08:00 on the day of the end of the experiment, the experimental sheep were fed normally. After 3 hours, the rumen fluid was collected and the rumen fermentation, digestive enzyme activities, and functional microorganisms were determined. **【Result】** The results showed as follows: (1) the addition of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus licheniformis* in the diet had no significant effect on the final body weight and average feed intake of the test sheep ($P>0.05$). The ADG of D3 group was significantly higher than that of D group ($P<0.05$), and F/G value of D3 group was significantly lower than that of D group ($P<0.05$). There was no significant difference between D1 and D2 groups in F/G value ($P>0.05$); (2) the addition of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus licheniformis* in the diet had no significant effect on the rumen pH value, the concentration of butyric acid, and the value of Acetate/Propionate (A/P). The concentration of NH₃-N for D3 group was significantly lower than D group, but the concentration of TVFA and propionic acid was significantly higher than D group ($P<0.05$), with no difference among three experimental groups ($P>0.05$). The concentration of acetic acid in D3 and D2 group was significantly higher than that in D1 and D groups ($P<0.05$). (3) The activity of β -glucosidase, carboxymethyl cellulose, xylanase, and amylase for D3 group was significantly higher than the other groups ($P<0.05$). There was no significant effect in the activities of β -glucosidase, pectase, carboxymethyl cellulose and amylase among D, D1 and D2 groups ($P>0.05$). The activity of protease in D3 group was significantly higher than D and D2 groups ($P<0.05$), with no significant difference between D3 and D1 groups ($P>0.05$). There was no significant difference in β -glucosidase, pectase, carboxymethyl cellulose, xylanase, protease and amylase activities between D1 and D2 groups ($P>0.05$); (4) the addition of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus licheniformis* in the diet had no significant effect on the amount of *R. flavefaciens*, *P. ruminicola*, *R. amylophilus*, and Protozoan ($P>0.05$). The amount of *B. fibrisolvens* for D3 group was significantly higher than the other 3 groups ($P<0.05$). The amount of *R. albus* and *F. succinogensin* D3 group were significantly higher than D group ($P<0.05$), with no significant difference among D1, D2 and D3 groups ($P>0.05$). Compared with the D group, the amount of *Methanogensin* experimental groups were significantly decreased ($P<0.05$), and the D3 group was lowest. **【Conclusion】** In conclusion, the dietary supplementation of *Saccharomyces cerevisiae* (6×10¹⁰ CFU/kg) and *Bacillus licheniformis* (2×10¹⁰ CFU/kg) had positive effects on rumen fermentation, which improved rumen digestive enzyme activity and increased the number of beneficial bacteria in rumen. Moreover, the combination of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus licheniformis* achieved better effect.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*; *Bacillus licheniformis*; rumen fermentation; enzyme activity; rumen microflora; sheep

0 引言

【研究意义】 益生菌作为饲料添加剂已成为禁抗时代的热门研究方向,它具有天然、无害、无残留、无副作用、安全可靠等特点,主要包括乳酸菌类微生物生态制剂、芽孢杆菌类微生物生态制剂、酵母菌类微生物生态制剂、光合细菌类微生物生态制剂及复合微生物生态制剂等^[1]。

【前人研究进展】 酿酒酵母和地衣芽孢杆菌作为常用的微生态制剂,单独饲喂具有提高反刍动物营养物质利用率、改善瘤胃发酵、增强免疫力、提高生产性能等作用^[2-4],前期体外试验结果^[5]表明酿酒酵母和地衣芽孢杆菌组合应用可以提高产气量、稳定瘤胃液pH、提高氮的利用以及提高能量利用率,【本研究切入点】但二者组合应用对反刍动物生产性能、瘤胃

代谢方面的研究甚少，仍需进一步探索。【拟解决的关键问题】通过饲喂酿酒酵母和地衣芽孢杆菌探究其对绵羊生长性能和瘤胃发酵的影响作用，旨在为酿酒酵母和地衣芽孢杆菌在肉羊饲料中的合理应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验时间及地点

试验于 2018 年 1 月 1 日至 3 月 16 日在山西省晋中市太谷县山西农业大学牧站进行。

1.2 试验设计及饲料

试验选用 48 只 4 月龄、体重相近 (22.96 ± 2.00) kg、健康的杜泊×小尾寒羊杂交 F₁ 代公羔，根据饲喂添加剂不同随机分为 4 组：D（对照组，两种菌均不添加）；D1（酿酒酵母， 6×10^{10} CFU/kg）；D2（地衣芽孢杆菌， 2×10^{10} CFU/kg）；D3（酿酒酵母 6×10^{10} CFU/kg+地衣芽孢杆菌 2×10^{10} CFU/kg）；酿酒酵母购买于安琪酵母股份有限公司的成品颗粒状制剂，实测活菌数 2×10^{10} CFU/g；地衣芽孢杆菌购于天津坤禾生物科技集团股份有限公司的成品粉状制剂，实测活菌数 2×10^{10} CFU/g，饲料精粗比为 60：40，参考 NRC(2007)绵羊营养需要中体重 20 kg、日增重 300 g 公羔的营养需要配制，其组成及营养水平见表 1。

1.3 饲养管理

试验羊单栏饲养，每天分别于 08:00 和 18:00 进行饲喂，自由采食和饮水，预饲期 15 d，正饲期 60 d。

表 1 饲料组成及营养水平（干物质基础）
Table 1 Composition and nutrient level of diets (DM basis, %)

项目 Item	营养水平 Nutrient level
原料 Ingredients	干物质 DM 94.99
玉米 Corn 30.00	粗蛋白质 CP 13.14
米糠 Rice bran 7.00	粗灰分 Ash 8.27
豆粕 Soybean meal 18.00	粗脂肪 EE 2.23
预混料 Premix ¹ 5.00	中性洗涤纤维 NDF 41.84
玉米秸秆 Corn straw 20.00	酸性洗涤纤维 ADF 22.29
谷草 Millet straw 20.00	钙 Ca 0.35
合计 Total 100.00	磷 P 0.29

¹ 饲料中微量元素添加量 (mg·kg⁻¹): Cu 15, Fe 55, Zn 25, Mn 40, Se 0.3, I 0.5, Co 0.2; 饲料中维生素添加量 (IU·kg⁻¹): VA 20 000, VD 4 000, VE 40. 饲料各营养成分均为实测值
Additive mineral premix (mg·kg⁻¹): Cu 15, Fe 55, Zn 25, Mn 40, Se 0.3, I 0.5, Co 0.2; Additive vitamin premix (IU·kg⁻¹): VA 20 000, VD 4 000, VE 40. The compositions of diet are measured values

1.4 生长性能的测定

正饲期内每天准确称量记录每只试验羊的喂料量和剩料量，计算平均日采食重 (ADFI, 非 DM 基础)。在正饲期第 1、30、60 天晨饲前对试验羊进行称重，计算平均日增重 (ADG)。根据 ADFI 和 ADG 计算料重比 (F/G)=ADFI/ADG。

1.5 样品采集

于正饲期结束当天 08:00 正常饲喂试验羊，3 h 后通过口腔插管采集瘤胃液 50 mL，经 4 层纱布过滤后分装，-80℃ 保存一份用于瘤胃微生物定量分析；测定 pH 后，剩余样品 -20℃ 保存，用于测定瘤胃各发酵指标。

1.6 样品测定

1.6.1 饲料常规养分测定 参考 AOAC (2000) [6] 方法测定饲料的 DM、粗灰分 (Ash)、粗脂肪 (EE) 和粗蛋白质 (CP) 含量，参考 VAN SOEST 法 [7] 测定饲料的中性洗涤纤维 (NDF) 和酸性洗涤纤维 (ADF) 含量，采用原子吸收分光光度计测定饲料的钙 (Ca) 含量 [8]，采用钒钼黄比色法测定饲料的磷 (P) 含量 [9]。

1.6.2 瘤胃液指标测定 瘤胃发酵指标的测定：参考 WANG 等 [10] 方法利用气相色谱仪 (Agilent 7890B, 美国) 测定 VFA 浓度；采用亚硝基铁氰化钠-次氯酸钠法并利用紫外分光光度计 (UV-1800PC, Mapada) 测定 NH₃-N 浓度 [11]。

瘤胃酶活的测定：参照 AGARWAL 等 [12] 方法测定 β-葡萄糖苷酶、果胶酶、羟甲基纤维素酶、木聚糖酶和淀粉酶的活性，胃蛋白酶采用试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 测定。

瘤胃微生物的测定：采用珠磨-CTAB 法提取瘤胃微生物 DNA [13]，用核酸蛋白测定仪测定 DNA 浓度，并用 TE buffer 将 DNA 稀释至 100 ng·mL⁻¹。通过文献查找瘤胃分解菌的 16SrDNA 序列，由北京六合华大基因科技股份有限公司合成引物序列 (表 2)。根据 TaKaRa 公司 SYBR® Primic Ex TaqTM (TliRNaseH Plus) 试剂盒说明书以及 ABI stepone plus 实时荧光定量聚合酶链式反应 (PCR) 仪器说明操作，对目的基因进行 Real-time PCR。PCR 反应体系 20.0 μL: 10.0 μLSYBR®PrimicExTaq™ (TliRNaseH Plus) (2x)，0.3 μLPCR Forward Primer (10 μmol·L⁻¹)，0.3 μLPCR Reverse Primer (10 μmol·L⁻¹)，0.4 μLROX Reference Dye (50x) × 2, 7.0 μLDH₂O (灭菌蒸馏水)，2.0 μLDNA 模板。

表 2 基因引物序列
Table 2 Primer sequences of genes

基因 Gene name	引物序列 (5'→3') Primer sequence(5'→3')	产物大小 Product/bp	参考文献 References
总菌 Total bacterial	F:CGGTGAATACGTTTCYCGG R:GGWTACCTTGTTACGACTT	123	DENMAN 等 ^[14]
黄色瘤胃球菌 <i>flavefaciens</i>	F:ATTGTCCCAGTTCAGATTGC R:GGCGTCCTCATTGCTGTTAG	173	DENMAN 等 ^[14]
白色瘤胃球菌 <i>albus</i>	F:CCCTAAAAGCAGTCTTAGTTTCG R:CCTCCTTGCGGTTAGAACA	176	KOIKE 等 ^[15]
产琥珀酸丝状杆菌 <i>succinogens</i>	F:GGCGGGATTGAATGTACCTTGAGA R:TCCGCCTGCCCTGAACTATC	204	DENMAN 等 ^[14]
溶纤维丁酸弧菌 <i>fibrisolvens</i>	F:TAACATGAGAGTTTGATCCTGGCTC R:CGTTACTCACCCGTCCGC	136	FORSTER 等 ^[16]
嗜淀粉瘤胃杆菌 <i>R. amylophilus</i>	F:CTGGGGAGCTGCCTGAATG R:GCATCTGAATGCGACTGGTTG	100	JAMI 等 ^[17]
栖瘤胃普雷沃氏菌 <i>P. ruminicola</i>	F:GAAAGTCGGATTAATGCTCTATGTTG R:CATCCTATAGCGGTAAACCTTTGG	74	JAMI 等 ^[17]
产甲烷菌 <i>Methanogens</i>	F:TTCGGTGGATCDCARAGRGC R:GBARGTCGWAWCCGTAGAATCC	140	ZHANGI 等 ^[18]
原虫 <i>Protozoan</i>	F:GCTTTCGWTGGTAGTGATT R:CTTGCCCTCYAATCGTWCT	223	ZHANGI 等 ^[18]

1.7 数据处理与统计分析

数据用 Excel 2010 进行初步整理,采用 SPSS 22.0 进行单因素方差分析,当差异显著时用 Duncan 氏法进行多重比较,以 $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 饲粮中添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对绵羊生长性能的影响

由表 3 可知,添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对试

验羊终末体重及平均采食量的影响均不显著 ($P>0.05$)。D3 组的 ADG 显著高于 D 组 ($P<0.05$)。与 D 组相比,D3 组的 F/G 显著降低 ($P<0.05$),但 D1 和 D2 组差异不显著 ($P>0.05$)。

2.2 饲粮中添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对绵羊瘤胃发酵参数的影响

由表 4 可知,添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对瘤胃液 pH、丁酸浓度及乙丙比的影响均不显著 ($P>0.05$)。D3 组的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度显著低于 D 组 ($P<0.05$),

表 3 饲粮中添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对绵羊生长性能的影响

Table 3 Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus licheniformis* in diets on growth performance of sheep

项目 Items	组别 Groups				SEM	P 值 P value
	D	D1	D2	D3		
初始体重 IBW (kg)	23.08	22.22	23.58	22.97	1.20	0.73
终末体重 FBW (kg)	39.91	40.04	40.92	43.23	2.77	0.61
平均日增重 ADG ($\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$)	280.42d	297.38b	289.34c	337.40a	35.22	0.01
平均日采食量 ADFI ($\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$)	1827.11	1768.90	1759.31	1705.04	165.49	0.91
料重比 F/G	6.57a	5.98ab	6.02ab	5.01b	0.27	0.02

同行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 ($P<0.05$)。下同
In the same row, 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

TVFA 和丙酸浓度显著高于 D 组 ($P<0.05$)，且 D3 组与 D1 和 D2 组均差异不显著 ($P>0.05$)。D3 与 D2 组的乙酸浓度显著高于 D1 与 D 组 ($P<0.05$)，D 组乙酸浓度最低。

2.3 饲料中添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对绵羊瘤胃液中消化酶活性的影响

由表 5 可知，D3 组的 β -葡萄糖苷酶、羟甲基纤维素酶、木聚糖酶及淀粉酶活性均显著高于其他 3 组 ($P<0.05$)。D 组与 D1 和 D2 组的 β -葡萄糖苷

酶、果胶酶、羟甲基纤维素酶及淀粉酶活性均无显著差异 ($P>0.05$)。D3 组蛋白酶活性显著高于 D 和 D2 组 ($P<0.05$)，与 D1 组差异不显著 ($P>0.05$)。D1 和 D2 组的各消化酶活性差异均不显著 ($P>0.05$)。

2.4 饲料中添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对绵羊瘤胃功能微生物的影响

由表 6 可知，添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对黄色瘤胃球菌、栖瘤胃普雷沃氏菌、嗜淀粉瘤胃杆菌和

表 4 饲料中添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对绵羊瘤胃发酵的影响

Table 4 Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus licheniformis* in diets on rumen fermentation of sheep

项目 Items	组别 Groups				SEM	P 值 P value
	D	D1	D2	D3		
pH	6.76	6.58	6.52	6.74	0.14	0.11
氨态氮 $\text{NH}_3\text{-N}$ ($\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$)	25.09a	22.94ab	23.02ab	19.87b	1.60	0.03
总挥发性脂肪酸 TVFA ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	48.03b	51.81ab	54.37a	54.86a	2.22	0.02
乙酸 Acetate ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	35.25c	38.01b	39.69a	40.09a	0.58	<0.001
丙酸 Propionate ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	11.44b	12.07ab	12.99a	13.39a	0.51	0.004
丁酸 Butyrate ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	6.67	6.94	6.78	6.92	0.66	0.97
乙丙比 Acetate/Propionate	3.08	3.15	3.07	3.01	0.13	0.69

表 5 饲料中添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对绵羊瘤胃液中消化酶活的影响

Table 5 Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus licheniformis* in diets on rumen digestion enzyme activity of sheep (U/mL)

项目 Items	组别 Groups				SEM	P 值 P value
	D	D1	D2	D3		
β -葡萄糖苷酶 β -glucosidase	0.08b	0.09b	0.09b	0.17a	0.01	<0.001
果胶酶 Pectase	0.62b	0.73ab	0.88b	0.93a	0.08	0.002
羟甲基纤维素酶 Carboxymethyl cellulose	0.09b	0.15b	0.16b	0.25a	0.03	0.001
木聚糖酶 Xylanase	0.23c	0.26bc	0.29b	0.46a	0.01	<0.001
蛋白酶 Protease	15.77c	19.54ab	17.43bc	21.21a	0.11	<0.001
淀粉酶 Amylase	0.24b	0.25b	0.26b	0.30a	0.01	0.002

表 6 饲料中添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对绵羊瘤胃功能微生物的影响

Table 6 Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus licheniformis* in diets on ruminal functional microbiota of sheep (%)

项目 Items	组别 Groups				SEM	P 值 P value
	D	D1	D2	D3		
白色瘤胃球菌 <i>R. albus</i>	0.68b	1.59ab	2.08a	2.54a	0.37	0.001
产琥珀酸丝状杆菌 <i>F. succinogenes</i>	6.53b	10.49ab	9.27ab	15.05a	2.59	0.04
黄色瘤胃球菌 <i>R. flavefaciens</i>	3.29	3.43	4.34	5.19	1.04	0.27
溶纤维丁酸弧菌 <i>B. fibrisolvens</i>	9.47b	10.66b	10.45b	13.49a	0.46	<0.001
栖瘤胃普雷沃氏菌 <i>P. ruminicola</i>	1.55	2.06	2.57	2.59	0.57	0.26
嗜淀粉瘤胃杆菌 <i>R. amylophilus</i>	0.90	1.11	0.98	1.33	0.18	0.20
产甲烷菌 <i>Methanogens</i> $\times 10^{-2}$	29.19a	18.74bc	20.26b	11.62c	2.08	<0.001
原虫 Protozoan	6.44	5.74	5.84	5.49	1.38	0.94

原虫数量的影响不显著 ($P>0.05$), D3 组的溶纤维丁酸弧菌数显著高于其他 3 组 ($P<0.05$), 白色瘤胃球菌和产琥珀酸丝状杆菌数显著高于 D 组 ($P>0.05$), 但与 D1 和 D2 组差异不显著 ($P>0.05$)。与 D 组相比, 试验组产甲烷菌数量显著降低 ($P<0.05$), 其中 D3 组最低。

3 讨论

前人研究表明益生菌可以促进小肠发育, 有利于维持幼龄反刍动物小肠绒毛形态结构完整, 并且可以产生多种酶类和非特异性免疫调节因子, 如蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶和 B 族维生素等, 这些物质能提高动物对饲料的利用率^[19-20]。芽孢杆菌可以改善动物肠上皮紧密连接, 是保护动物肠道免疫的第一道“防火墙”, 同时可以直接作用于肠道黏膜免疫系统, 提高肠粘膜 sIgA 分泌水平, 抑制有害菌的繁殖, 从而促进肠道健康和机体对营养物质的吸收利用^[21], 提高动物的生长速度。耿春银等^[22]和董晓丽^[23]的研究表明分别向育肥牛和哺乳期犊牛添加 $50\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ 的酵母制剂和 2.0×10^8 CFU/(h·d) 的枯草芽孢杆菌均对 ADG 影响差异不显著, 但是具有增高的趋势, 这与本试验中单独添加酿酒酵母组或地衣芽孢杆菌组较对照组 ADG 有改善但差异不显著的结果相似。但 FRANCIA 等^[24-25]的研究表明添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌均使得 ADG 高于对照组, 不同研究结果存在一定差异的原因可能是因为添加水平、试验动物或者试验饲料组成等因素。但两种菌共同作用对绵羊的生长产生了正组合效应, 作用效果明显好于其他 3 组。

瘤胃作为反刍动物独特的消化器官, 在整个消化过程中起着非常重要的作用, pH、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度和 VFA 的组成比例等指标, 基本反映了瘤胃的内环境及饲料在瘤胃内的发酵过程。反刍动物对饲料中碳水化合物的消化吸收是以在瘤胃内生成 VFA 为主, VFA 是反刍动物重要的能量来源, 主要由乙酸、丙酸和丁酸组成^[26]。动物采食后由于饲料中碳水化合物的发酵产生大量 VFA, 导致瘤胃 pH 下降。机体对 VFA 的不断吸收、碱性唾液的不断输入以及瘤胃代谢过程碱性产物缓冲作用, 使瘤胃 pH 在一定范围内波动, 而过高过低的瘤胃 pH 均会影响瘤胃内环境的稳定。瘤胃 pH 的变动范围一般在 6.0—7.0, 最佳范围为 6.2—6.8, 此时瘤胃微生物活性最强。本试验饲喂不同益生菌对 pH 的影响虽然不显著, 但都处于最佳 pH 的范围内。

在正常的瘤胃 pH 环境下, 陈亮^[27]等研究在黑牛饲料中添加 120 和 $240\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 酿酒酵母, 结果表明酿酒酵母对湘中黑牛的瘤胃液 TVFA 浓度无显著影响; 黄帅^[25]的研究结果却表明添加酿酒酵母组的 TVFA 高于对照组。芽孢杆菌会促进碳水化合物的消化代谢, 丁洪涛等^[28]在奶牛饲料中添加枯草芽孢杆菌可以显著提高 TVFA 的含量。一方面可能是益生菌本身代谢产生的酶类促进营养物质的降解, 另一方面, 益生菌能够刺激瘤胃中有益菌的生长, 提高饲料瘤胃降解率。乙酸是反刍动物体内脂肪合成的主要前体物, 丙酸是唯一能净生成葡萄糖的 VFA, 足够的丙酸能满足动物对葡萄糖的需要^[29], 本试验中, D3 组的乙酸、丙酸、TVFA 浓度高于对照组, 为机体提供更多的能量物质, 本团队还发现两种益生菌的添加降低了粪和尿能的损失 (数据未呈现), 因此 D3 组能量利用率较高, 日增重最高。A/P 值常作为评价瘤胃发酵类型的标志, 一般认为 A/P 值小于 3 属于丙酸发酵类型, 而大于 3 为乙酸发酵类型^[30]。本试验瘤胃的 A/P 值均在 3 以上, 说明酿酒酵母和地衣芽孢杆菌没有改变瘤胃发酵类型。

稳定的瘤胃内环境有助于微生物蛋白的合成。 $\text{NH}_3\text{-N}$ 是瘤胃微生物降解饲料蛋白质生成的, 是合成菌体蛋白的主要前体物质^[27]。有前人的试验证明, 酿酒酵母可以刺激瘤胃微生物菌群利用 $\text{NH}_3\text{-N}$ 合成蛋白质^[3,31]。PROHASZKA 等^[32]在猪饲料中添加芽孢杆菌后, 发现肠道内 NH_3 浓度降低。肖怡^[33]研究表明添加 2.4×10^{10} CFU/kg 的地衣芽孢杆菌使肉羊瘤胃 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度降低, 本试验中仅添加酿酒酵母和地衣芽孢杆菌也降低瘤胃中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度, 原因可能是酿酒酵母促进微生物利用氨氮合成微生物蛋白, 且这一结果与瘤胃中有益菌数量增加、试验羊生长性能提高的结果相吻合。

瘤胃微生物对饲料的降解作用依赖于各种消化酶的活性, 瘤胃微生物可以分泌产生各种消化酶以分解饲料中的营养物质^[34], 白色瘤胃球菌、黄色瘤胃球菌、产琥珀酸丝状杆菌和溶纤维丁酸弧菌是反刍动物瘤胃中主要的纤维分解菌, 具有很强的纤维降解能力。溶纤维丁酸弧菌和栖瘤胃普雷沃氏菌能够分泌分解蛋白的酶, 尤其是栖瘤胃普雷沃氏菌, 在蛋白质和多肽类的代谢中起重要的作用。嗜淀粉瘤胃杆菌只能利用 α -葡萄糖作为能量来源, 对瘤胃淀粉降解至关重要^[35]。有研究表明, 酵母菌和芽孢杆菌能够刺激瘤胃中琥珀酸丝状杆菌、白色瘤胃球菌、溶纤维丁酸弧菌脂解厌氧

弧杆菌的生长和繁殖^[24,35]。本试验中, 仅饲喂酿酒酵母组和仅饲喂地衣芽孢杆菌组与对照组相比均提高了瘤胃中纤维分解菌的数量, 这与前人的研究结果一致^[36-37], 说明这两种菌可以促进瘤胃有益菌的生长。酶活性反映了瘤胃中各类微生物的数量和活力^[38], 且有研究表明益生菌会提高瘤胃蛋白酶、淀粉酶和纤维素酶的活性^[39]。本试验中单独饲喂酿酒酵母和地衣芽孢杆菌组与对照组相比, 酶活均有所提高, 且组合饲喂组的酶活优于单独添加组, 说明两种菌共同作用时产生正向组合效应, 而且酵母菌和芽孢杆菌在消化道内还可以产生蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶、木聚糖酶和几丁质酶等^[28,40], 提高饲料的利用率。

反刍动物 CH_4 生成量主要受日粮结构、瘤胃发酵类型及微生物区系等因素的影响, 瘤胃发酵趋于丙酸型发酵或甲烷菌数量的减少, 可降低瘤胃 CH_4 的产量。原虫和产甲烷菌之间属于共生关系, 瘤胃中原虫的表面通常有甲烷菌与之结合, 甲烷菌以寄生的方式在原虫体上生存^[41]。PLATA^[42]报道添加酵母菌能增加原虫数, 但更多的报道表明酵母菌的添加对原虫没有显著影响^[43-44], 与本试验结果一致。孙鹏^[45]研究结果表明日粮添加纳豆枯草芽孢杆菌可以降低产甲烷菌, 在一定程度上可以减少甲烷的生成, 从而提高能量利用率。酿酒酵母和地衣芽孢杆菌共同作用在促进瘤胃细菌优势菌生长、抑制甲烷菌生长方面呈现正组合效应, 可能与细菌之间的协同作用有关, 其具体机理还有待进一步研究。

4 结论

饲料中添加 $6 \times 10^{10} \text{CFU/kg}$ 酿酒酵母和 $2 \times 10^{10} \text{CFU/kg}$ 地衣芽孢杆菌均会对绵羊瘤胃发酵产生积极影响, 提高了瘤胃 VFA 浓度和消化酶的活性, 增加了瘤胃有益菌的数量, 从而提高饲料利用率, 促进动物消化吸收, 且两种益生菌组合饲喂对瘤胃发酵和生长性能改善效果更佳。

References

- [1] 张民, 刁其玉. 益生菌的营养和免疫特性及其应用. 饲料研究, 2002(10): 6-8.
ZHANG M, DIAO Q Y. Nutritional and immune characteristics of probiotics and their application. *Feed Research*, 2002(10): 6-8. (in Chinese)
- [2] 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. 中国畜牧兽医, 2006(5): 11-14.
QIAO G H, SHAN A S. The effect of different direct-fed microbial culture on methane production *in vitro* and production performance in dairy cattle. *Chinese Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2006(5): 11-14. (in Chinese)
- [3] 邵广, 李红宇, 黄帅, 苗树君. 酿酒酵母对奶牛瘤胃内环境及血液生化指标的影响. 中国牛业科学, 2011, 37(2): 24-26.
SHAO G, LI H Y, HUANG S, MIAO S J. Effect of aspergillus oryzae on rumen degradation rate and nutrient digestibility in dairy cow. *China Cattle Science*, 2011, 37(2): 24-26. (in Chinese)
- [4] 张海涛, 王加启, 卜登攀, 栾绍宇, 邓露芳, 周凌云, 周振峰, 魏宏阳, 孙鹏. 日粮中添加纳豆枯草芽孢杆菌对犊牛消化道发育的影响. 中国畜牧兽医, 2010, 37(1): 5-9.
ZHANG H T, WANG J Q, BO D P, LUAN S Y, DENG L F, ZHOU L Y, ZHOU Z F, WEI H Y, SUN P. Effect of supplementation of *Bacillus subtilis* Natto on the development of digestive tract in Calves. *Chinese Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2010, 37(1): 5-9. (in Chinese)
- [5] 郑玮才, 郝小燕, 张春香, 项斌伟, 张文佳, 温瀚宇, 张建新. 酿酒酵母和地衣芽孢杆菌对绵羊瘤胃体外发酵的影响. 中国畜牧兽医, 2019, 46(11): 3208-3215.
ZHENG W C, HAO X Y, ZHANG C X, XIANG B W, ZHANG W J, WEN H Y, ZHANG J X. Effects of *Saccharomyces Cerevisiae* and *Bacillus Licheniformis* on rumen fermentation in sheep *in vitro*. *Chinese Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2019, 46(11): 3208-3215. (in Chinese)
- [6] AOAC. Official methods of analysis of AOAC International[M]. 17th ed. Gaithersburg: AOAC International, 2000.
- [7] VAN SOEST P J, ROBERTSON J B, LEWIS B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 1991, 74(10): 3583-3597.
- [8] 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. 化学工程师, 2015(11): 22-25.
SHAO J. Determination of the calcium content in foods by dry ssh and wet digestion-flame atomic absorption spectrophotometry. *Chemical Engineer*, 2015(11): 22-25. (in Chinese)
- [9] 李会娟. 2 种植物磷含量的检测方法比较研究. 现代农业科技, 2012(11): 16-17.
LI H J. Comparative study on determination of phosphorus content in two kinds of plants. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2012(11): 16-17. (in Chinese)
- [10] WANG C, LIU Q, GUO G, HUO W J, MA L, ZHANG Y L, PEI C X, ZHANG L S, WANG H. Effects of rumen-protected folic acid on ruminal fermentation, microbial enzyme activity, cellulolytic bacteria

- and urinary excretion of purine derivatives in growing beef steers. *Animal Feed Science & Technology*, 2016, 221:185-194.
- [11] 金亚倩, 赵俊星, 刘文忠, 任有蛇, 张春香, 张文佳, 项斌伟, 张建新. 酿酒葡萄皮渣对绵羊瘤胃代谢及发育的影响. *畜牧兽医学报*, 2017, 48(9): 1683-1693.
- JIN Y Q, ZHAO J X, LIU W Z, REN Y S, ZHANG C X, ZHANG W J, XIANG B W, ZHANG J X. Effect of dietary wine grape pomace supplementation on rumen metabolism and development in lambs. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2017, 48(9): 1683-1693. (in Chinese)
- [12] AGARWAL N, KAMRA D N, CHAUDHARY L C, AGARWAL I, SAHOO A, PATHAK N N. Microbial status and rumen enzyme profile of crossbred calves fed on different microbial feed additives. *Letters in Applied Microbiology*, 2002, 34(5):329-336.
- [13] YU Z, MORRISON M. Improved extraction of PCR-quality community DNA from digesta and fecal samples. *Biotechniques*, 2004, 36(5):808-812.
- [14] DENMAN S E, MCSWEENEY C S. Development of a real-time PCR assay for monitoring anaerobic fungal and cellulolytic bacterial populations within the ruminal. *FEMS Microbiology Ecology*, 2006, 58(3): 572-582.
- [15] KOIKE S, KOBAYASHI Y. Development and use of competitive PCR assays for the ruminal cellulolytic bacteria: *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* and *Ruminococcus flavefaciens*. *FEMS Microbiology Letters*, 2001, 204(2): 361-366.
- [16] FORSTER R, TEATHER R, GONG J, DENG S J. 16s rDNA analysis of *Butyrivibrio fibrisolvens*: phylogenetic position and relation to butyrate - producing anaerobic bacteria from the ruminal of white - tailed deer. *Letters in Applied Microbiology*, 1996, 23(4): 218-222.
- [17] JAMI E, MIZRAHI I. Composition and similarity of bovine ruminal microbiota across individual animals. *PLoS One*, 2012, 7(3): 306.
- [18] ZHANG C M, GUO Y Q, YUAN Z P, WU Y M, WANG J K, LIU J X, ZHU W Y. Effect of octadeca carbon fatty acids on microbiota fermentation, methanogenesis and microbiota flora *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 2008, 146(3-4): 259-269.
- [19] 闫晓刚. 酵母培养物和颗粒精料对荷斯坦犊牛生长发育的影响 [D]. 吉林: 吉林农业大学, 2005.
- YAN X G. The effect of yeast culture and pellet concentrate on the growing development of Holstein calves [D]. Jilin: Jilin Agricultural University, 2005. (in Chinese)
- [20] 李栋, 姜宁. 益生菌在反刍动物生产中的应用. *现代畜牧科技*, 2015(5):149.
- LI D, JIANG N. Application of probiotics in ruminant production. *Technical Advisor for Animal Husbandry*, 2015(5): 149. (in Chinese)
- [21] ZHANG H L, LI W S, XU D N, ZHENG W W. Mucosa-repairing and microbiota-balancing therapeutic effect of *Bacillus subtilis* alleviates dextrate sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2016. DOI: 10.3892/etm.2016.3686.
- [22] 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]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- GENG C Y. Comparison of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and yeast culture for growth performance, carcass traits and meat quality in finishing cattle [D]. Beijing: China Agricultural University, 2015. (in Chinese)
- [23] 董晓丽. 益生菌的筛选鉴定及其对断奶仔猪、犊牛生长和消化道微生物的影响 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
- DONG X L. Identification of probiotics and effects of probiotics on weaned piglets, calves and the gastrointestinal microbiota [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2013. (in Chinese)
- [24] FRANCA A D, MASUCCI F, ROSA G D, VARRICCHIO M L, PROTO V. Effects of *Aspergillus oryzae* extract and a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on intake, body weight gain and digestibility in buffalo calves. *Animal Feed Science and Technology*, 2008, 140(1-2):67-77.
- [25] 符运勤, 刁其玉, 屠焰, 王建红, 许先查. 不同组合益生菌对 0~8 周龄犊牛生长性能及血清生化指标的影响. *动物营养学报*, 2012, 24(4): 753-761.
- FU Y Q, DIAO Q Y, TU Y, WANG J H, XU X C. Effects of different combinations of probiotics on growth performance and serum biochemical parameters in dairy calves aged from 0 to 8 weeks. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(4): 753-761. (in Chinese)
- [26] 庞德公. 枯草芽孢杆菌、产朊假丝酵母与屎肠球菌对奶牛瘤胃微生物消化代谢和甲烷排放的影响 [D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2014.
- PANG D G. Effects of *Bacillus subtilis*, *Candida utilis* and *Enterococcus faecium* on *in vitro* rumen microbial digestion and metabolism and methane emission of dairy cows [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2014. (in Chinese)
- [27] 陈亮, 揭红东, 任傲, 周传社, 谭支良, 李斌. 酿酒酵母对湘中黑牛营养物质消化率、瘤胃发酵及血浆生化指标的影响. *动物营养学报*, 2017, 29(9): 3359-3365.
- CHEN L, JIE D H, REN A, ZHOU C S, TAN Z L, LI B. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on nutrient digestibility, rumen fermentation and plasma biochemical parameters of Xiangzhong black beef. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(9): 3359-3365. (in Chinese)
- [28] 丁洪涛, 夏冬华, 秦珊珊, 杨新艳. 枯草芽孢杆菌对奶牛体外瘤胃发酵的影响. *饲料研究*, 2012(1): 57-59.

- DING H T, XIA D H, QIN S S, YANG X Y. Effect of *Bacillus subtilis* on rumen fermentation of dairy cattle *in vitro*. *Feed Research*, 2012(1): 57-59. (in Chinese)
- [29] 肖宇, 王利华, 程明, 祁茹, 褚永康, 林英庭. 功能性寡糖对奶山羊瘤胃发酵功能的影响. *动物营养学报*, 2011(12): 2203-2209.
- XIAO Y, WANG L H, CHENG M, QI R, CHU Y K, LIN Y T. Functional oligosaccharides affect rumen fermentation of dairy goats. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2011(12): 2203-2209. (in Chinese)
- [30] SMAGALA A M. The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, 1998, 81(5):1322-1330.
- [31] WILLIAMS P E V, NEWBOLD C J, GAMSWORTHY P C. Rumen probiosis: the effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. *Recent Advances in Animal Nutrition*, 1990:211-227.
- [32] PROHASZKA' L, JAYARAO B M, FABIAN'A, KOVACS' S. The role of intestinal volatile fatty acids in the Salmonella shedding of pigs. *ZentralblattFürVeterinärmedizin.reiheB. Journal of Veterinary Medicine*, 2010, 37(1-10):570-574.
- [33] 肖怡. 三种益生菌对肉羊甲烷排放、物质代谢和瘤胃发酵的影响[D]. 塔里木:塔里木大学, 2016.
- XIAO Y. Effects of three probiotics on methane emission, nutrient metabolism and rumen fermentation in mutton sheep[D]. Aral: Tarim University, 2016. (in Chinese)
- [34] 李鹤琼, 刘强, 王聪, 张延利, 裴彩霞, 王永新, 郭刚, 霍文婕, 张拴林, 刘建新. 2-甲基丁酸对断奶前后犊牛瘤胃发酵、酶活及纤维分解菌菌群的影响. *畜牧兽医学报*, 2015, 46(12): 2218-2226.
- LI H Q, LIU Q, WANG C, ZHANG Y L, PEI C X, WANG Y X, GUO G, HUO W J, ZHANG S L, LIU J X. Effects of 2 methylbutyrate supplementation on rumen fermentation, enzyme activities and cwwlulolytic bacteria in pre and post weaning dairy calves. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2015, 46(12): 2218-2226. (in Chinese)
- [35] EMMANUEL D G, JAFARI A, BEAUCHEMIN K A, LEEDLE J A Z, AMETAJ B N. Feeding live cultures of *Enterococcus faecium* and *Saccharomyces cerevisiae* induces an inflammatory response in feedlot steers. *Journal of Animal Science*, 2007, 85(1):233-239.
- [36] DAWSON K A, NEWMAN K E, BOLING J A. Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities. *Journal of Animal Science*, 1990, 68(10): 3392-3398.
- [37] 于萍, 王加启, 卜登攀, 刘开朗, 李旦, 赵圣国, 魏宏阳, 周凌云. 日粮添加纳豆芽孢杆菌对断奶后犊牛胃肠道纤维分解菌的影响. *中国农业大学学报*, 2009, 14(1): 111-116.
- YU P, WANG J Q, BO D P, LIU K L, LI D, ZHAO S G, WEI H Y, ZHOU L Y. Effects of *Bacillus subtilis* natto in diets on quantities of gastrointestinal cellulytic bacteria in weaning calves. *Journal of China Agricultural University*, 2009, 14(1): 111-116. (in Chinese)
- [38] 黄庆生, 王加启. 添加不同酵母培养物对瘤胃纤维分解菌群和纤维素酶活的影响. *畜牧兽医学报*, 2005, 36(2): 144-148.
- HUANG Q S, WANG J Q. Effect of yeast cultures on fibrolyticbacterial population and activities of fiber hydrolytic enzymes in the rumen. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2005, 36(2): 144-148. (in Chinese)
- [39] 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]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2011.
- HUANG S. The effects of *Aspergillus Oryzae* and *Saccharomyces cerevisiae* on the rumen fermentation and the blood parameters of dairy cow[D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2011. (in Chinese)
- [40] 纪宁, 孔繁东, 祖国仁, 季瑛, 黄朝明. 纳豆菌抗菌作用的研究现状与展望. *食品研究与开发*, 2006, 27(1): 138-141.
- JI N, KONG F D, ZU G R, JI Y, HUANG C M. Thepresent situatin and developmental tendency of antimicrobial function of *Bacillusnatto*. *Food Research and Developmen*, 2006, 27(1): 138-141. (in Chinese)
- [41] STUMM C K, GIJZEN H J, VOGELS G D. Association of methanogenic bacteria with ovine rumen ciliates. *Applied & Environmental Microbiology*, 1982, 47(1):95-99.
- [42] PLATAP F, MENDOZA M GD, BFIRCENA-GAMA JR, GONZFILEZ M S. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on neutral detergent fiber digestion in steers fed oat straw based diets. *Animal Feed Science & Technology*, 1994, 49(3-4): 203-210.
- [43] YOON I K, STERM M D. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* cultures on ruminal fermentation in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 1996, 79(3):411.
- [44] NEWBOLD C J, WALLACE R J, CHEN X B, MCLNTOSH F M. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers *in vitro* and in sheep. *Journal of Animal Science*, 1995, 73(6):1811-1818.
- [45] 孙鹏. 日粮添加纳豆枯草芽孢杆菌对奶牛生产性能、瘤胃发酵及功能微生物的影响. *中国畜牧兽医*, 2012(9): 168.
- SUN P. Effects of *Bacillus subtilis* natto on performance, rumen fermentation and functional microorganisms in dairy cows. *Chinese Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2012(9): 168. (in Chinese)

(责任编辑 林鉴非)