

纤维素酶在反刍动物饲料中的应用研究进展

刘大森¹, 鞠涛¹, 杨方², 王燕¹

(1. 东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨 150030; 2. 河北科技师范学院, 河北 秦皇岛 066004)

摘要: 纤维素酶 (Cellulase) 作为一种绿色饲料添加剂, 能提高饲料的转化率以及动物的生产性能, 从而为养殖业提供相当数量的饲料来源。本文章主要从纤维素酶的分类、作用机理、在反刍动物饲料生产中的应用及其应用前景等方面作了论述, 以为生产实践提供理论依据。

关键词: 纤维素酶; 反刍动物; 应用

中图分类号: S826 文献标志码: A 文章编号: 1005-9369(2011)06-0007-05

Applied research progress of cellulase in ruminant animal feed/LIU Dasen¹, JU Tao¹, YANG Fang², WANG Yan¹ (1. College of Animal Sciences and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Hebei Normal University of Science & Technology, Qinhuangdao Hebei 066004, China)

Abstract: Cellulase as a green feed additive can increase the conversion rate of feed and performance of animal and supplies a considerable number of feed resource to livestock breeding. The categories of cellulase, mechanism, and application in ruminants feed productivity and application prospects were described in this paper, in order to supply theoretical basis for production practice.

Key words: cellulase; ruminant; apply

纤维素在植物体中的含量最多, 约占植物干重的 1/2, 是自然界数量最大的可再生自然资源。纤维素是由 2 000~10 000 个葡萄糖分子组成的长链大分子, 除反刍动物借瘤胃微生物可以利用纤维素外, 其他高等动物几乎不能消化和利用纤维素^[1], 饲料资源匮乏阻碍了我国畜牧业的发展, 因此, 成功开发这一潜在饲料资源显得尤为迫切和重要。纤维素酶作为一种绿色饲料添加剂, 能将饲料中的纤维素降解成可消化吸收的还原糖 (如: 二糖或葡萄糖), 提高饲料的营养价值。目前, 纤维素酶在反刍动物生产应用中取得了良好的生产效益和巨大的经济效益。

本文从纤维素酶的分类、作用机理和在反刍动物中的应用现状等方面进行了论述, 以为生产实践提供理论基础。

1 纤维素酶的分类和来源

1.1 纤维素酶的种类

纤维素酶包括多种水解酶, 纤维素酶是指能降解纤维素的一类酶的总称。是由多种水解酶组成的复杂酶系, 主要来自于真菌和细菌。根据纤维素酶的不同功能, 可分为三大类: 内切纤维素酶、外切纤维素酶和 β -葡萄糖苷酶。还有分解纤维素的其他酶类, 如木聚糖酶 (Xylase) 和果胶酶。

1.1.1 葡聚糖内切酶

又称为 C1 酶, 这类酶作用于纤维素内部的非结晶区, 随机水解 β -1, 4-糖苷键, 将长链纤维素分子截短, 产生大量带非还原性末端的小分子纤维素。葡聚糖内切酶相对分子质量介于 23~146 ku, 如真菌的异构酶 EGI 为 54 ku, EGIII 约为 49.8 ku,

收稿日期: 2011-01-19

基金项目: 黑龙江省博士后科研启动基金

作者简介: 刘大森(1961-), 男, 教授, 博士, 研究方向为反刍动物生产。E-mail: dasenliu@neau.cn

而纤维粘菌 EG 有两种菌的内切酶相对分子质量只有 6.3 ku。

1.1.2 葡聚糖外切酶

这类酶作用于纤维素线状分子末端，水解 1, 4- β -D 糖苷键，每次切下 1 个纤维二糖分子，故又称为纤维二糖水解酶^[2](Cellobio-hydrolase, CBH)，外切酶的相对分子质量介于 38~18 ku，如木酶的 CBH 有 2 种异构酶，CBHI 相对分子质量约为 66 ku，CBHII 约为 53 ku。

1.1.3 β -葡萄糖苷酶

这类酶一般将纤维二糖和短链的纤维寡糖水解生成葡萄糖分子，一般不直接作用于纤维素分子， β -葡萄糖苷酶相对分子质量约为 76 ku。内切酶首先切割纤维素链使暴露出末端，然后外切酶连续切割纤维二糖单位，而 β -葡萄糖苷酶通过水解纤维二糖或纤维糊精完成协同反应全过程^[3]。

1.2 纤维素酶的来源

纤维素酶按其来源主要有微生物来源^[4]，动物性来源和生物工程来源。

1.2.1 微生物来源

能分泌产生纤维素酶的微生物主要有霉菌、担子菌等真菌、也包括少量细菌、放线菌，人们研究的纤维素酶主要来自丝状真菌，如绿色木霉、李氏木霉、根霉、青霉等、其中木霉应用最为广泛。丝状真菌能产生大量的纤维素酶(20 g·L⁻¹)，其中尤以木霉属的产量最高^[5]。

真菌产生的纤维素酶三类酶都有、能分泌到菌体外、一般、但相互间发生强烈的协同作用不聚集形成多酶复合体。而细菌分泌的纤维素酶量少(低于 0.1 g·L⁻¹)，而且产生的酶会吸附于细胞壁上难以分离、故很少用细菌作纤维素酶的产生菌种^[6]。

1.2.2 动物性来源

反刍动物依靠瘤胃微生物消化饲料中的纤维物质因此可以利用瘤胃液获得纤维素酶的粗酶制剂。在瘤胃微生物生态体系中，主要的纤维分解菌有产琥珀酸拟杆菌、黄化瘤胃球菌、和白色瘤胃球菌，溶纤维丁酸弧菌也可产生纤维素酶^[7]。

1.2.3 生物工程来源

生物技术的发展，使饲用纤维素酶有了新的来源。迄今，人们已从四十多种细菌和数种真菌中克隆纤维素酶基因，其中一些纤维素酶基因已在大肠杆菌和酵母在得到表达^[8]。

2 纤维素酶的营养机理

2.1 摧毁植物细胞壁，使营养物质能很好地被吸收利用

细胞内的营养物质由细胞壁包裹，植物细胞壁主要是由纤维素、半纤维素和果胶组成，纤维素酶与半纤维素酶、果胶酶共同作用，以破坏植物的细胞壁，使胞内原生质暴露出来，由内源酶进一步降解，提高了胞内物质的消化率，由纤维素酶半纤维素酶和果胶酶的协同作用，可有效破坏植物细胞壁结构使细胞内容物溶解释放出来，由淀粉酶和蛋白酶进一步降解^[9]，纤维素的结晶结构被打乱导致变形，使纤维素酶能深入纤维素分子界面之间，从而使纤维素孔壁、腔壁和微裂隙壁的压力增大。Savory 用 ¹⁴C 标记单糖研究外源酶对饲料中植物细胞壁的降解作用，认为从纤维素中释放出的葡萄糖可能是酶降解细胞壁而促进能量利用的方式^[10]。韩东等在电子显微镜下观察到纤维素酶使部分细胞因胞间层的分解而离散，结构规则的细胞破解，用 DNS 法测定酶解后鼓皮中还原糖的含量，是未酶解前的两倍左右^[11]。水分子的介入又使纤维素分子之间的氢键被破坏，产生部分可溶性的纤维的微结晶，利于进一步降解。

2.2 可补充草食动物内源酶的不足

在草食动物胃中虽有一定量的能分解纤维素的微生物存在，可以分解一定量的纤维素，但产生的纤维素酶量有限，使粗纤维的消化吸收受到限制。添加纤维素酶后，动物消化道酶系的组成、酶分泌量及活性可以得到改善，并改善消化道环境，增加酸度，激活胃蛋白酶。幼龄动物及病态和应激状态(如断奶、接种疫苗和环境应激)下的成年畜禽消化酶分泌量明显下降，因此，在日粮中添加纤维素酶以补充幼龄动物消化酶的不足^[12]。钱利纯也认为日粮中添加适宜的外源酶制剂可使胃肠道内环境发生变化，使肠壁变薄并减少肠道微生物数量，改善营养吸收^[13]。牛雪佳等通过研究不同水平纤维素酶对绵羊血液中生化指标的影响，试验结果表明日粮中添加 0.2% 纤维素酶没有损害绵羊各组织器官^[14]。

2.3 消除抗营养因子

果胶、半纤维素、葡聚糖和戊聚糖部分溶解在水中产生黏性，增加了动物胃肠道内容物的黏度，对内源酶而言是一个物理障碍，导致饲料消化吸收

利用率降低，同时黏稠的消化道内容物容易引起有害微生物的滋生，增加胃肠疾病的发生率。添加纤维素酶可减低黏稠度，促进内源酶的扩散，增强养分的消化吸收，增大肠道内容物的流动性，有效降低有害微生物附着生长的可能性。在非淀粉多糖含量比较高的饲料中，添加多糖降解酶不仅可以非淀粉多糖转化为营养物质还消除其抗营养作用^[15]。秸秆青贮添木聚糖酶是其中较为重要的一种酶。首先，它可以降低胃肠道内容物的粘性，而发挥促进生长和提高饲料转化率的作用。其次，它能够提高内源性消化酶的活性，促进养分的消化吸收，还能减少肠道微生物的数量，减少疾病，利于健康，并能减少粪便排泄物，降低污染。

2.4 维持小肠绒毛形态完整、促进营养物质吸收

纤维素酶可促进有益微生物生长，提高微生物对饲料的分解，同时增加单细胞蛋白含量，还具有维持小肠绒毛形态完整，促进营养物质吸收的功能。赵恒波等研究纤维素复合酶提高羔羊饲料消化率的消化道组织学基础，试验研究表明纤维素酶提高3月龄十二指肠肠绒毛的长度，并且纤维素酶有增加小肠隐窝深度和黏膜厚度的趋势，但未达到显著水平^[16]。

3 纤维素酶在反刍动物营养中的应用

3.1 对反刍动物瘤胃的影响

在瘤胃微生物中，对纤维素降解起主要作用的是瘤胃细菌。反刍动物利用其瘤胃中固有的细菌、原生动物和真菌来消化草料中的纤维，主要是通过这此细菌产生的大量的酶的作用来分解植物细胞壁。Nsereko 等研究发现，在饲料中添加分解纤维素酶制剂可以显著增加瘤胃微生物数量，分解纤维一糖的细菌数猛增；分解木聚糖酶的细菌数量也剧增；不过，分解纤维素的瘤胃细菌数量变化不大^[17]。纤维素酶能与半纤维素酶、果胶酶，葡聚糖酶等其它内源酶协同作用改善瘤胃内环境^[18]。另外焦平林等在治疗患前胃迟缓的黄牛病例中，每天服纤维素40 g有良好的治愈效果^[19]。

3.2 对反刍动物饲料消化率的影响

Martins 等用来自黑曲霉和长枝木霉的纤维素酶处理青贮玉米和秸秆。结果表明，纤维素酶能提高青贮玉米可溶性干物质和粗蛋白含量，提高秸秆的酸性洗涤纤维和总氮水平，但不改变青贮玉米酸

性洗涤纤维和总氮水平。在电镜下观察，纤维素酶的添加增加了细菌在粗料细胞壁上的定值，但对粗料细胞壁的降解和瘤胃降解没有明显影响^[20]。Pinos-Rodriguez 等添加外源性纤维素酶对不同混合比例的牧草以及羔羊消化和瘤胃发酵的影响，发现外源性纤维素酶能提高瘤胃对干物质和中性洗涤纤维的降解率^[21]。Avellaneda 等用羊草饲喂装有瘤胃、十二指肠瘘管的萨福克羊羔^[22]，结果表明，纤维素酶降低了十二指肠中性洗涤纤维含量，促进了前胃对饲草的消化。反刍动物主要以粗纤维含量较高的植物茎叶等粗饲料为主要饲料，焦平林用阉牛作对照试验，在日粮中每头牛添加纤维素酶40 g·d⁻¹饲喂60 d，结果加酶组日增重892.78 g，对照组日增重746.8 g，差异极显著。荷斯坦奶牛添加50 g纤维素酶制剂时，产奶量提高6.17%^[23]。尹清强奶牛日粮中加入50 g纤维素酶时，奶量提高8.30%，每千克产奶量的耗料量下降10%，同时纤维素酶对牛奶的营养成分无明显影响^[24]。苏辉在奶牛精料中添加50 g纤维素酶，结果表明，在同等饲养管理条件下，纤维素酶能增强奶牛食欲，增加粗饲料的采食量，提高饲料的消化率、利用率，提高产奶，同时，还能降低奶牛消化道的发病率^[25]。李晓东等利用复合酶制剂对羔羊进行试验，结果表明在低能日粮基础上添加酶制剂并没有提高羔羊对于干物质、粗纤维的消化率及磷的吸收率，但能显著提高脂肪的消化率和对钙的吸收率^[26]。郑晓灵等研究表明，添加纤维素酶0.2 g·kg⁻¹能显著提高青贮甘蔗梢干物质和粗灰分含量，同时提高了粗脂肪、无氮浸出物和可溶性糖的含量，降低青贮料粗纤维、粗蛋白质、钙、磷、氨态氮和游离水的含量，但对pH和乳酸无显著影响^[27]。饲用纤维素酶之所以具有提高反刍动物体增重、降低肉肉比的功效，还因为纤维素酶制剂本身是一种由蛋白酶、淀粉酶、果胶酶和纤维素酶等组成的多酶复合物。在这种多酶复合体系中一种酶的产物可以成为另一种酶的底物，从而使消化道内的消化作用得以顺利进行。纤维素酶除直接降解纤维素，促进其分解为易被动物所消化吸收的低分子化合物外，还可与其他酶共同作用以提高反刍动物对饲料营养物质的分解和消化。

3.3 对反刍动物生产性能的影响

在瘤胃微生物区系结构正常的情况下，添加纤维素酶能以几倍的效率提高粗纤维和其他营养物质

的酵解强度,提高其消化吸收水平。在瘤胃发生病理变化即微生物区系失去平衡进入腐解过程时,高活性纤维素酶能迅速调整微生物区系结构,恢复平衡关系和正常酵解、吸收、合成过程。张学成等^[28]以添加纤维素复合酶 0.1%的玉米秸秆为粗饲料饲喂荷斯坦奶牛 60 d,奶牛的标准乳量提高了 63.03%,平均乳脂率提高了 18.29%;Beauchemm等对 16 头杂交奶牛进行研究发现,添加纤维素酶制剂的奶牛较对照组每天摄入干物质质量增加 1.6 kg,且产奶量每天增加 1.3 kg,增幅为 4.2%,在奶牛饲料中添加纤维素降解酶制剂不仅能提高饲料利用率,而且还能提高产奶量^[29]。刘建昌等在奶牛的精饲料中添加复合酶,测定每头奶牛平均日产奶量,试验组比对照组提高 14.89%,差异较显著^[30]。在饲料中添加纤维素酶,在降低采食量的同时会提高产奶量,其主要原因是奶牛的摄食主要受血液内的挥发性脂肪酸(VFA)的浓度的调节,VFA 是纤维素的分解产物。外源纤维素酶增加了瘤胃中 VFA 的生成量,而瘤胃对 VFA 的吸收较快,大量的 VFA 进入血液且随其浓度的升高反馈性作用于食物调节中枢,导致采食量下降。一般认为奶牛的产奶量和乳脂率呈负相关,而试验表明,在奶牛口粮中添加纤维素酶后,随着产奶量的上升乳脂率也呈上升趋势。这说明,纤维素酶通过提高奶牛血液中的各种营养物质的含量,增强乳腺细胞对各种营养物质的摄取能力,从而维持牛奶中的各种营养物质的含量始终处于平衡状态。Schingoelhe 等报道了泌乳早期的奶牛饲喂草料前在草料中添加木聚糖酶和纤维素酶的混合物并没有影响奶牛的采食量,并且与饲喂没有用此方法处理的草料相比,消耗率是基本相似的,具体原因有待于进一步研究^[31]。

4 纤维素酶在生产应用中存在的问题与展望

纤维素酶作为绿色饲料添加剂,其应用前景非常广阔,但在目前推广应用中还存在如下问题:

a. 生产纤维素酶的菌株产量低,成本偏高。要加强菌种选育和发酵提取工艺等基础研究工作,提高产酶活性,降低生产成本,特别注意利用基因重组技术选育高活性菌株。

b. 纤维素酶对饲料的作用机制尚未清楚,对不同饲料最佳添加量、添加时间和方式也不十分清

楚。国内外有关纤维素酶应用的研究报道很多,但纤维素酶对畜禽消化生理的影响,对于不同酶活性的产品、不同动物种类、不同发育阶段动物消化酶系的变化及纤维素酶添加后对内源酶活力影响的研究尚不够深入,因此在实际应用中往往因用量不当而影响应用效果。

c. 稳定性问题纤维素酶是一种微生物制剂,对温度、湿度、酸和碱等敏感,处理不当易失活,而对其进行稳定化处理的研究还不多,导致饲用效果不稳定。

d. 没有统一的纤维素酶活性标准与检测方法,其生物学评价试验方法不规范。因此,须加强科研部门间的协作,尽快制定我国统一的纤维素酶质标准和检测方法。

5 小 结

纤维素酶是一种无毒、无害、无副作用的绿色生物制剂,是可再生的重要资源和能源。动物饲料中添加适量纤维素酶可提高饲料利用率,在促进动物生长、减少粪便排放、改善生态环境和防治动物疾病等方面均有明显效果,且在很大程度上避免了因添加抗生素、激素等物质所产生的负面影响,有明显的经济效益和环保意义。随着生物技术的发展 and 酶应用技术的深入研究,必将加速纤维素酶在饲料工业中的广泛应用。

[参 考 文 献]

- [1] Lewis G E, Profa V A. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the lactational performance of dairy cows[J]. J Daily Sci, 1999, 82(3): 611-617.
- [2] William M F, Catherine Kelly T. Microbial enzymes and biotechnology[M]. 2nd Edition Dublin: Kluwer Academic Pub, 1990: 1-4.
- [3] 黄立本, 诸葛健. 近年来纤维素酶研究的进展[J]. 科学通报, 1976, 21(2): 53-60.
- [4] 崔艳红, 孟庆辉, 王艳荣. 饲用纤维素酶的研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2006, 34(15): 3705-3707.
- [5] 槐川博. 反刍家畜营养学最新动向[J]. 乳业科学与技术, 2001, 55(2): 279-283.
- [6] 郭松林. 纤维素酶及其在畜禽生产中的应用[J]. 中国饲料, 2001(9): 23-24.
- [7] 吴显民, 穆小民. 纤维素酶分子生物学研究进展及趋向[J]. 生物

- 工程进展, 2000, 14(4): 25-28.
- [8] 李祥, 刘亚力, 苏纯阳, 等. 酶制剂在饲料配方设计中的应用技术[J]. 中国饲料, 2002(3): 24-27.
- [9] 史占全, 蒋林树, 刘建新, 等. 添加酶制剂对青贮玉米秸采食量和瘤胃内降低的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2001, 37(5): 5-7.
- [10] Savory C J. Enzyme supplementation, degradation and metabolism of three U-4C-labelled cell-wall substrates in the fowl[J]. British Journal of Nutrition, 1992, 67: 91-102.
- [11] 韩东等. 复合酶制剂破解植物细胞壁的效果研究[J]. 中国饲料 1992(12): 30.
- [12] 李椒荣, 陈祖洁. Sn-9106 纤维素酶性质载体筛选及喂饲效果的研究[J]. 沈阳农业大学学报, 1993, 24(增): 4-15.
- [13] 钱利纯. 可溶性非淀粉多糖对畜禽消化的影响 [J]. 中国饲料, 1992(8): 23-24.
- [14] 牛雪佳, 郑国萍, 李茫雪, 等. 日粮阴阳离子和纤维素酶对绵羊血液中生化指标的影响[J]. 核农学报, 2007, 21(5): 514-517.
- [15] 王安, 刘朋军. 纤维素复合酶作为青贮饲料添加剂的研究[J]. 东北农业大学学报, 1997, 28(4): 358-365.
- [16] 赵恒波, 罗海玲, 朱虹, 等. 纤维素复合酶对羔羊消化道组织结构的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2007, 38(10): 1054-1059.
- [17] Nsereko V L, Beuuchemin K A, Morgavi D P, et al. Effect of a fibrolytic enzyme preparation from *Trichoderma longibrachiatum* on the rumen microbial population of dairy cow[J]. Can J Microbial, 2002, 48: 14-20.
- [18] 方俊. 纤维素酶在奶牛饲料中的研究与应用[J]. 饲料博览, 2003 (8): 34-36
- [19] 焦平林, 张秀乾. 纤维素酶治疗黄牛胃肠疾病试验报告[J]. 畜牧兽医杂志, 1991(15): 25-26.
- [20] Martins A S, Vieira P F, Berchielli T T, et al. Ruminal degradation of corn silage and rice straw using exogenous fibrolytic enzymes[J]. Anim Sci, 2008, 30 (4): 435-442
- [21] Pinos-Podreguez J M, Moreno R, Gonze Llez S S, et al. Effects of xogenous fibrolytic enzymes on ruminal fermentation and digestibility of total mixed rations fed to lambs[J]. Anim Feed Sci Tech, 2008, 142 (3-4): 210-219.
- [22] Avellaneda J H, Pinos Podreguez J M, GonzeLlez S S, et al. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal fermentation and digestion of Guinea grass hay[J]. Anim Feed Sci Tech, 2009, 149(1-2): 70-77.
- [23] 焦平林. 纤维素酶制剂对肉牛及奶牛生产性能的影响[J]. 畜牧兽医杂志, 1997, 33(2): 43.
- [24] 尹清强. 纤维素酶制剂对奶牛产量和饲料效率的影响[J]. 吉林畜牧兽医, 1991(6): 1.
- [25] 苏辉. 在奶牛精料中添加纤维素酶增奶效果明显[J]. 中国奶牛, 1997(3): 25-29.
- [26] 李晓东, 罗海玲, 徐永锋, 等. 添加纤维素复合酶制剂对羔羊日粮营养物质消化的影响[J]. 中国草动物, 2007, 27(4): 28-29.
- [27] 郑晓灵, 刘艳芬, 刘铀, 等. 纤维素酶对甘蔗梢青贮品质的影响[J]. 饲料工业, 2007. 28(12): 39-41.
- [28] 张学成, 李文琴, 辛总秀. 纤维素复合酶在秸秆饲喂奶牛中的应用效果研究[J]. 青海大学学报: 自然科学版, 2008, 26 (4): 54-57.
- [29] Beauchemin K A, Rode L M, Sewalt, et al. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forage[J]. J Anim Sci, 1995, 75: 641-644.
- [30] 刘建昌, 林洁荣, 苏水金. 添加纤维素酶制剂对奶牛产奶性能的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2001(3): 31-32.
- [31] Schingoelhe D J, Slegeman R J. Rresponse of lactating dairy cow to cellulase and xylanase enzyme mixture applied to forage at the time of feeding[J]. J Dairy Sci, 1999, 82: 996-1003.