

DOI:10.11829/j.issn.1001-0629.2015-0212

王梦琦, 陈志远, 马婷婷, 林淼. 3种饲草组合对湖羊瘤胃还原硝酸盐过程的影响. 草业科学, 2016, 33(3): 489-494.

Wang M Q, Chen Z Y, Ma T T, Lin M. Effect of three grass combinations on the nitrate reduction in rumen fluid of Hu sheep. Pratacultural Science, 2016, 33(3): 489-494.



3种饲草组合对湖羊瘤胃还原硝酸盐过程的影响

王梦琦, 陈志远, 马婷婷, 林淼

(扬州大学动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009)

摘要: 采用 3×3 拉丁方试验设计, 研究以燕麦 (*Avena sativa*) 或苜蓿 (*Medicago sativa*) 干草等比例替代羊草 (*Leymus chinensis*) 后, 对饲草中硝酸盐动态消失率及湖羊瘤胃发酵参数的影响。晨饲后 0、1、2、3、4、5 和 6 h 通过瘤胃瘘管采集湖羊瘤胃液, 测定瘤胃 pH 值以及硝酸盐 (NO_3^-)、亚硝酸盐 (NO_2^-)、氨态氮 ($\text{NH}_3\text{-N}$) 的浓度; 同时, 晨饲后 2 h 经颈静脉采血测定血清高铁血红蛋白含量。结果表明, 1) 3 组瘤胃液 NO_3^- 和 NO_2^- 浓度分别在喂后 1 和 2 h 达到最大值, 之后迅速降低; 2) pH 值、 NO_3^- 、 NO_2^- 浓度各组间均无显著差异 ($P > 0.05$); $\text{NH}_3\text{-N}$ 仅在饲喂 3 h 后全羊草组 (A 组) 显著低于其它两组 ($P = 0.018$); 3) 高铁血红蛋白含量均较低, 且无显著差异 ($P > 0.05$)。本研究选用的牧草组合对湖羊瘤胃还原硝酸盐过程没有显著影响。

关键词: 牧草; 硝酸盐; 瘤胃发酵; 动态变化; 湖羊

中图分类号: S826.4⁺3

文献标识码: A

文章编号: 1001-0629(2016)3-0489-06*

Effect of three grass combinations on the nitrate reduction in rumen fluid of Hu sheep

Wang Meng-qi, Chen Zhi-yuan, Ma Ting-ting, Lin Miao

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

Abstract: A 3×3 Latin square design was used to investigate the effect of feeding *Leymus chinensis* or equal proportion of alfalfa hay (*Medicago sativa*) and oat grass (*Avena sativa*) on dynamic changes of nitrate nitrogen content and fermentation characteristics of Hu sheep. Rumen fluid was obtained at 0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 h after feeding to determine the concentration of nitrate and nitrite and fermentation parameters. Blood samples were collected at 2 h after feeding to determine the blood methemoglobin content. The results showed that, 1) the concentrations of nitrate and nitrite in rumen fluid increased to the maximum level at 1 and 2 h after feeding, respectively, and then decreased rapidly. 2) There was no significant difference in the pH value and percentage of nitrate and nitrite among groups ($P > 0.05$); however, ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) concentration in group A was significantly lower than that in the other groups ($P = 0.018$). 3) All the groups had a low concentration of blood methemoglobin, and no significant difference was observed among them ($P > 0.05$). In conclusion, different grass combination in this study had no effect on nitrate reduction process in the rumen of Hu sheep.

Key words: grass; nitrate; ruminal fermentation; dynamic change; Hu Sheep

Corresponding author: Lin Miao E-mail: linmiao@yzu.edu.cn

* 收稿日期: 2015-04-14 接受日期: 2015-08-20

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程资助项目; 江苏省博士后科研资助计划(1402114C)

第一作者: 王梦琦(1993-), 女, 江苏徐州人, 在读本科生, 主要从事动物科学研究。E-mail: 770406499@qq.com

通信作者: 林淼(1984-), 女, 福建龙岩人, 副教授, 博士, 主要从事反刍动物营养与饲料研究。E-mail: linmiao@yzu.edu.cn

硝酸盐作为新鲜饲草中含有的非蛋白氮,在瘤胃中降解,一方面可以作为有效氮源,另一方面可以降低甲烷排放,提高微生物氮的合成量^[1]。但亚硝酸盐作为硝酸盐还原的中间产物,大量积累可能会影响动物健康甚至危及生命^[2]。如何降低亚硝酸盐中毒的风险是硝酸盐营养代谢研究中需要解决的重要问题。研究表明,影响硝酸盐瘤胃还原的因素有:动物适应日粮硝酸盐后,耐受性提高^[3];动物种类不同,其耐受力不同,羊的耐受力较强^[4];不同精粗比的饲料影响硝酸盐还原的速率^[5];不同来源的植物细胞壁影响体外瘤胃还原硝酸盐和亚硝酸盐的程度存在差异^[6]。目前,反刍动物饲料中常用的饲草主要包括禾本科和豆科饲草,不同饲草的发酵特性不尽相同^[7-8],常见的饲草组合对硝酸盐的瘤胃还原过程是否存在差异尚未明确。本研究选用羊草(*Leymus chinensis*)、燕麦(*Avena sativa*)和苜蓿(*Medicago sativa*)组合成 3 种不同的饲粮,研究瘤胃 NO₃⁻的动态变化规律及其对发酵参数、血液相关参数的影响,旨在为实践中合理选择饲草作为反

刍动物日粮提供一定参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物及试验设计

以同等比例的燕麦草或苜蓿干草替代羊草,设置 A、B 和 C 组(表 1),选取 3 头体况良好、体重相近(36.2±3.5)kg、安装永久性瘤胃瘘管的湖羊,采用 3×3 拉丁方试验设计。每个试验期 14 d,包括预试期 12 d,连续采样期 2 d。

1.2 试验饲粮及饲养管理

配制不同种类牧草组合(营养成分含量如表 2 所示)的 3 种饲粮,制成颗粒饲料,具体比例见表 1(其中,3%硝酸钾为饲喂时按具体采食量额外添加),精料:粗料=6:4。试验前检测牧草中 NO₃⁻含量(羊草 0.10%,燕麦 0.13%,苜蓿 0.12%),则折算后 3 组饲粮中总 NO₃⁻含量分别为 3.038%、3.041%、3.044%。每天饲喂两次(08:00 和 16:00),自由饮水。

表 1 试验饲粮组成(%)及营养水平(干物质基础)
Table 1 Ingredients(%) and nutrient levels of the basal diet (DM basis)

原料组成 Ingredient	组别 Group			营养水平 Nutrient levels ^②	组别 Group		
	A 组	B 组	C 组		A 组	B 组	C 组
	Group A	Group B	Group C		Group A	Group B	Group C
玉米 Corn	38	33	37	消化能 DE/MJ·kg ⁻¹	11.11	11.18	11.16
豆粕 Soybean meal	7	6	5	粗蛋白质 CP/%	13.49	13.87	13.36
大豆油 Soybean oil	1	1	1	粗脂肪 EE/%	4.38	5.00	4.44
小苏打 NaHCO ₃	1	1	1	NDF/%	28.85	33.54	30.12
硝酸钾 KNO ₃	3	3	3	ADF/%	13.65	16.69	16.27
玉米干酒糟 DDGS	7	11	8	非纤维碳水化合物 NFC/%	43.65	37.73	41.29
预混料 Premix ^①	5	5	5	NDF/NFC/%	66.09	88.89	72.95
羊草 <i>Leymus chinensis</i>	38	20	20	粗灰分 Ash/%	9.63	9.86	9.79
苜蓿 <i>Medicago sativa</i>	0	0	20				
燕麦 <i>Avena sativa</i>	0	20	0				

注:①预混料为每千克饲粮提供 VA 10 000 IU,VD₃ 3 500 IU,VE 15 IU,铁 110 mg,铜 17.5 mg,锌 75 mg,锰 50 mg,碘 1 mg,硒 0.3 mg,钴 0.7 mg;
②CP、EE、NDF、ADF 和 Ash 为实测值,DE 和 NFC 为计算值。
Note: ①The premix provided the following per kg of diets: VA 10 000 IU, VD₃ 3 500 IU, VE 15 IU, Fe 110 mg, Cu 17.5 mg, Zn 75 mg, Mn 50 mg, I 1 mg, Se 0.3 mg, Co 0.7 mg; ②CP, EE, NDF, ADF and Ash were measured value, DE and NFC was calculated value.

表 2 不同牧草的营养成分含量(%DM)
Table 2 The nutrient content (%DM) of different forages

牧草 Forage	有机物 OM	粗蛋白 CP	中性洗涤纤维 NDF	酸性洗涤纤维 ADF
羊草 <i>Leymus chinensis</i>	94.29	7.06	78.16	42.18
燕麦 <i>Avena sativa</i>	95.58	6.85	52.59	27.54
苜蓿 <i>Medicago sativa</i>	83.04	20.14	44.22	28.18

1.3 样品的采集与分析

1.3.1 样品采集及测定指标 在正式进入拉丁方试验期前,为了防止湖羊出现亚硝酸盐中毒,采用逐级递增的添加方式,以 1%、2%和 3%的梯度,每隔 5 d 升高一个梯度,直至达到硝酸盐的最终添加水平。采取连续两天采样测定的方式,采样当天,晨喂前通过真空负压装置,从瘤胃上下左右不同位点采集约 30 mL 瘤胃液,经 4 层纱布过滤,立即采用 pH S-3C 型 pH 计测定其 pH 值,之后分装于 10 mL 离心管中,−20 ℃冰箱中保存待测。采集喂前样本后,将 3%的硝酸盐溶于水,通过在瘤胃上下左右不同点直接注入,同时喂料,并继续采集喂后 1、2、3、4、5、6 h 的瘤胃液,样品处理同前述,6 h 内静止饮水。采样期每日晨饲后 2 h,颈静脉采血,静置获得血清,待测高铁血红蛋白含量。

1.3.2 指标测定方法 硝酸盐浓度采用紫外分光光度法测定^[9];亚硝酸盐浓度采用比色法(南京建成生物工程研究所试剂盒);NH₃-N 浓度采用采用酚一次氯酸钠比色法^[10];高铁血红蛋白含量按照 Benesch 和 Benesch^[11]方法进行。

1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 软件整理,采用 SAS 9.0 软

件的 PROC MIXED 程序进行分析,并用 Tukey 法进行差异性比较,结果以“平均值”表示。

2 结果与分析

2.1 不同牧草组合对湖羊瘤胃硝酸盐动态消失率的影响

3 组的瘤胃 NO₃[−] 浓度在喂后 1 h 最高,之后逐渐下降,至 5 h 时达到最低,之后略有回升,但 3 组间差异不显著($P>0.05$)(表 3)。

2.2 不同牧草组合对湖羊瘤胃亚硝酸盐动态消失率的影响

3 组的 0 h 瘤胃液中 NO₂[−] 浓度均很低,后逐渐升高至 2 h 达到最大值后,逐渐消失,但 3 组间无显著差异($P>0.05$)(表 4)。

2.3 不同牧草组合对湖羊瘤胃液氨态氮动态消失率及高铁血红蛋白的影响

6 h 内氨态氮浓度在羊草组(A 组)和燕麦草组(B 组)均先上升至 3 h 后下降;而在苜蓿草组(C 组)则呈现波动趋势。喂后 3 h,羊草组显著低于其它两组($P<0.05$)(表 5)。3 组湖羊血液高铁血红蛋白含量分别为 0.39%、0.31%和 0.32%,无显著性差异($P>0.05$)。

表 3 不同牧草组合对湖羊瘤胃液硝酸盐含量(mg · L^{−1})的影响
Table 3 Effects of grass combination on the nitrate concentration (mg · L^{−1}) in rumen fluid

采样时间 Sample collecting time/h	组别 Group			SEM	P
	A 组 Group A	B 组 Group B	C 组 Group C		
0	1.41	1.31	1.16	0.255	0.712
1	3.20	2.55	2.96	0.984	0.887
2	1.66	1.90	1.92	0.168	0.259
3	0.95	1.38	1.37	0.437	0.676
4	1.08	0.89	0.98	0.190	0.813
5	0.64	0.52	0.44	0.371	0.858
6	1.02	0.79	0.56	0.238	0.441

表 4 不同牧草组合对湖羊瘤胃液亚硝酸盐含量(mg · L^{−1})的影响
Table 4 Effects of grass combination on the nitrite concentration(mg · L^{−1}) in rumen fluid

采样时间 Sample collecting time/h	组别 Group			SEM	P
	A 组 Group A	B 组 Group B	C 组 Group C		
0	0.002	0.001	0.002	0.001	0.797
1	0.265	0.335	0.297	0.046	0.641
2	0.269	0.406	0.404	0.107	0.311
3	0.115	0.136	0.236	0.039	0.351
4	0.078	0.144	0.224	0.081	0.544
5	0.085	0.021	0.003	0.049	0.636
6	0.082	0.001	0.001	0.047	0.635

表 5 不同牧草组合对湖羊瘤胃液氨态氮含量($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的影响
Table 5 Effects of grass combination on the $\text{NH}_4\text{-N}$ concentration ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) in rumen fluid

采样时间 Sample collecting time/h	组别 Group			SEM	P
	A 组 Group A	B 组 Group B	C 组 Group C		
0	40.48	19.66	40.90	5.864	0.538
1	59.29	57.03	81.49	12.692	0.559
2	56.34	64.07	63.24	12.561	0.756
3	79.70b	99.03a	107.56a	0.514	0.018
4	61.82	68.83	78.97	1.987	0.081
5	46.51	59.52	49.26	6.327	0.725
6	26.09	49.17	39.17	6.526	0.230

注:不同小写字母表示同行处理间差异显著($P<0.05$)。
Note: Different lower case letters within the same row show significant difference among different treatments at 0.05 level.

2.4 不同牧草组合对湖羊瘤胃 pH 值动态消失率的影响
羊草组(A 组)、燕麦组(B 组)和苜蓿组(C 组)分别在 2、4 和 3 h 达到最低值,并且 3 组间瘤胃液 pH 值无显著差异($P>0.05$)(表 6)。

各处理组的湖羊瘤胃液 pH 值均先下降后升高,

表 6 不同牧草组合对湖羊瘤胃液 pH 值的影响
Table 6 Effects of grass combination on the pH value in rumen fluid

采样时间 Sample collecting time/h	组别 Group			SEM	P
	A 组 Group A	B 组 Group B	C 组 Group C		
0	6.81	6.92	6.75	0.044	0.264
1	6.54	6.66	6.57	0.055	0.083
2	6.26	6.36	6.38	0.013	0.073
3	6.29	6.29	6.18	0.026	0.069
4	6.55	6.16	6.34	0.139	0.546
5	6.57	6.52	6.60	0.138	0.880
6	6.61	6.86	6.51	0.118	0.800

3 讨论

本研究中,瘤胃硝酸盐、亚硝酸盐的动态消失率与林森^[12]的研究结果相似,均在 2 h 内达到最大值,然后下降。瘤胃还原硝酸盐和亚硝酸盐的过程必须要有氢源的参与,氢主要来自糖类的降解过程,饲料中的糖类分为纤维性和非纤维性两类。其中林森等^[5]的研究表明,不同 NDF/NFC 的饲料对湖羊瘤胃硝酸盐含量无显著影响,但饲料 NDF/NFC=0.71 时有利于亚硝酸盐的还原。采用半体内法测定发现,以苜蓿为代表的豆科牧草 DM 和 CP 消化率高于禾本科牧草,同时燕麦的消化率高于羊草^[13];而体外研究表明,燕麦:羊草为 1:1 时有利于瘤胃的发酵以及纤维的降解^[14]。此外,豆科牧草与秸秆类饲草有着协同作用,可以提高瘤胃消化率^[15]。张吉鹏等^[8]报道,山羊日粮以稻草为基础同时补饲 25%~50%苜蓿,瘤胃及后肠

道的纤维物质的消化率显著提高。侯玉洁等^[16]对体外结果表明,以玉米(*Zea mays*)青贮为基础,NDF/NFC 相同的情况下,燕麦、羊草、苜蓿和稻草的体外营养物质消化率无显著差异。本研究中,以燕麦或苜蓿等比例替代羊草后,瘤胃硝酸盐、亚硝酸盐动态消失率均没有显著差异($P>0.05$),可能是因为本研究条件下,3 种饲料的整体瘤胃发酵没有显著差异。

氨态氮是瘤胃中蛋白质和尿素等非蛋白氮成分降解的终产物,其浓度受日粮组成、日粮精粗比、饲料氮含量、瘤胃菌体蛋白合成速度及含氮物溶解度等因素的影响。氨态氮为瘤胃微生物的生存提供氮源,直接影响瘤胃菌体蛋白的合成^[17]。氨的产生与底物 CP 含量之间呈正相关关系,而与 NDF 和 ADF 含量呈负相关关系^[18],而 3 种牧草的蛋白质的瘤胃降解率为苜蓿>燕麦>羊草^[13],因此推测,尽管本研究的 3 组日粮的 CP 含量相近,但苜蓿和燕麦的蛋白质降解率高,

导致发酵过程中氨态氮的含量较高。

体外研究发现,不同氮源和适应 NO_3^- 前后的瘤胃 pH 均没有显著差异 ($P>0.05$)^[19-20]。瘤胃液 pH 值综合反映瘤胃微生物代谢产物有机酸的产生、吸收、排泄和中和的情况^[21]。它受日粮的组成及处理方式、采食速度、瘤胃内挥发性脂肪酸和其它有机酸的生成、瘤胃的吸收和排除等因素的影响^[22]。瘤胃液 pH 值的正常范围为 5.8~7.2,低于或者超过此范围都会影响瘤胃的正常发酵^[23]。纤维分解菌对瘤胃 pH 十分敏感,当 pH 值为 6.5 时纤维分解菌活性最大,而且瘤胃对 NDF、ADF 的消化主要依赖于纤维分解菌^[24]。本研究的 3 组 pH 值范围是 6.16~6.92,组别之间的 pH 值之间没有显著差异,这说明湖羊采食不同牧草组合的饲料,瘤胃发酵均正常。但 pH 值达到最低值的时间不同,表现为 $A>C>B$,A 组最先达到最低值,这可能是由于本研究所配制的羊草组的颗粒料中 NDF 和 ADF 含量较低而 NFC 含量较高所致。ADF

含量与饲料的消化率呈负相关关系,同时 NFC 主要包括有机酸、淀粉和可溶性糖等,降解速度快。徐俊^[25]的研究表明,在 36 h 内,苜蓿的 NDF 降解率较高,各牧草的降解率关系为苜蓿>燕麦>羊草。这种慢速降解成分较少导致羊草组的瘤胃发酵速率较其余两组稍快;而 C 组却比 B 组先达到最低值,可能原因是苜蓿含有丰富的果胶和矿物质,矿物质有很好的缓冲作用,而果胶在瘤胃中的降解速度很快,也具有很强的缓冲能力^[26],从而可以使 C 组的 pH 值先达到最低值然后恢复稳定。

4 结论

本研究选用燕麦和苜蓿等比例替代羊草进行活体试验,比较结果表明,其对湖羊瘤胃硝酸盐和亚硝酸盐动态消失率没有显著影响,对瘤胃发酵参数也没有显著影响。

参考文献 (References)

- [1] Guo W S, Schaefer D M, Guo X X, Ren L P, Meng Q X. Nitrate as a sole dietary nitrogen source to improve rumen microbial nitrogen synthesis and to inhibit methane production in vitro. *Asian-Australasian Journal Animal Sciences*, 2009, 22(4): 542-549.
- [2] Bruning-Fann J S, Kaneene J B. The effects of nitrate, nitrite, and N-nitroso compounds on animal health. *Veterinary and Human Toxicology*, 1993, 35: 237-253.
- [3] Allison M J, Reddy C A. Adaptations of gastrointestinal bacteria in response to changes in dietary oxalate and nitrate. In: Klug M J, Reddy C A. (eds). *Proceedings of the Third International Symposium on Microbial Ecology*. Washington DC: American Society for Microbiology, 1984: 248-256.
- [4] O'Hara P J, Fraser A J. Nitrate poisoning in cattle grazing crops. *New Zealand Veterinary Journal*, 1975, 23: 45-53.
- [5] 林森, 张建刚, 陈志远, 赵国琦. 饲料中性洗涤纤维与非纤维性碳水化合物比例对湖羊瘤胃还原硝态氮的影响. *动物营养学报*, 2014, 26(12): 3659-3665.
Lin M, Zhang J G, Chen Z Y, Zhao G Q. Effects of dietary neutral detergent fiber to non-fiber carbohydrates ratio on ruminal nitrate reduction of Hu Sheep. *Acta Zoonutrientia Sinica*, 2014, 26(12): 3659-3665. (in Chinese)
- [6] 林森, 王严, 姚文成. 饲料纤维性糖类来源对奶牛体外瘤胃还原硝态氮的影响. *饲料研究*, 2014(23): 51-55.
Lin M, Wang Y, Yao W C. Effects of dietary fiber carbohydrate sources on ruminal nitrate reduction of dairy cows in vitro. *Feed Research*, 2014(23): 51-55. (in Chinese)
- [7] 邱晓, 王晓光, 刘亚红, 吴江鸿, 刘永志. 荒漠草原区饲草组合对苏尼特羔羊的饲喂效果. *草业科学*, 2013, 30(6): 935-939.
Qiu X, Wang X G, Liu Y H, Wu J H, Liu Y Z. Effects of different forage combinations on Sunit lamb feeding in desert steppe. *Pratacultural Science*, 2013, 30(6): 935-939. (in Chinese)
- [8] 张吉鹏, 谷德平, 吴文旋, 李龙瑞, 邹庆华. 稻草秸秆与苜蓿的日粮组合对山羊消化道各部位营养物质消化率的影响. *草业科学*, 2014, 31(6): 1167-1172.
Zhang J K, Gu D P, Wu W X, Li L R, Zou Q H. Effects of rice straw basic diet supplemented with varying level of alfalfa hay on nutrients digestibility in different segments of digestive tract for goat. *Pratacultural Science*, 2014, 31(6): 1167-1172. (in Chinese)
- [9] 罗雪华, 蔡秀娟. 紫外分光光度法测定蔬菜硝酸盐含量. *华南热带农业大学学报*, 2004, 10(1): 13-16.
Luo X H, Cai X J. Determination of nitrate content in vegetables by UV-Spectrophotometric method. *Journal of South China University of Tropical Agriculture*, 2004, 10(1): 13-16. (in Chinese)
- [10] 冯宗慈, 高民. 通过比色测定瘤胃液氨氮含量方法的改进. *畜牧与饲料科学*, 2010(4): 37.

- Feng Z C, Gao M. Improved assay method of ammonia nitrogen content in rumen fluid by colorimetry. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2010(4): 37. (in Chinese)
- [11] Benesch R E, Benesch Y S. Equations for the spectrophotometric analysis of hemoglobin mixtures. *Analytical Biochemistry*, 1973, 55(1): 245-248.
- [12] 林森. 饲粮硝酸钾对湖羊瘤胃硝态氮浓度和瘤胃发酵特性的影响. *动物营养学报*, 2014, 26(9): 2590-2598.
Lin M. Effects of dietary potassium nitrate on nitrate nitrogen concentration and ruminal fermentation of Hu Sheep. *Acta Zoonutrientia Sinica*, 2014, 26(9): 2590-2598. (in Chinese)
- [13] 陈晓琳, 刘志科, 孙娟, 王月超, 李艳玲, 姜成钢, 屠焰, 刁其玉. 不同牧草在肉羊瘤胃中的降解特性研究. *草业学报*, 2014, 23(2): 268-276.
Chen X L, Liu Z K, Sun J, Wang Y C, Li Y L, Jiang C G, Tu Y, Diao Q Y. Ruminal degradability characteristics of different forages in sheep. *Acta Prataculturae Sinica*, 2014, 23(2): 268-276. (in Chinese)
- [14] 潘美娟. 燕麦草、羊草及其组合 TMR 日粮对奶牛瘤胃消化代谢的影响. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2012.
Pan M J. The impact of TMR composed with oat hay or *Leymus chinensis* on rumen digestion and metabolism. Master Thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012. (in Chinese)
- [15] Oldham J D, Broster W H, Napper D J, Siveter J W. The effect of a low protein ration on milk yield and plasma metabolites in Friesian heifers during early lactation. *British Journal of Nutrition*, 1979, 42(1): 149-162.
- [16] 侯玉洁, 徐俊, 苏衍菁, 赵国琦, 邵辰旭, 钱金花. 体外法研究 FNDF、NFC 浓度相同的不同粗饲料来源日粮对瘤胃发酵、纤维消化和微生物蛋白合成的影响. *中国奶牛*, 2013(1): 1-6.
Hou Y J, Xu J, Su Y J, Zhao G Q, Shao C X, Qian J H. Effects of different dairy ration which has different roughage sources but with same concentration of NFC and FNDF on ruminal fermentation, digestibility and microbial protein synthesis in vitro. *China Dairy Cattle*, 2013(1): 1-6. (in Chinese)
- [17] Bandle S, Gupta B N. Rumen fermentation bacterial and total volatile fatty acid production rates in cattle fed on urea-molasses minerable licks supplement. *Animal Feed Science and Technology*, 1997, 65: 275-286.
- [18] 余苗. 不同生长时期两种牧草瘤胃降解率及体外发酵特性的研究. 长沙: 湖南农业大学硕士学位论文, 2013.
Yu M. Research on rumen degradability and in vitro fermentation characteristics of two forages at different growth stages. Master Thesis. Changsha: Hunan Agricultural University, 2013. (in Chinese)
- [19] Lin M, Schaefer D M, Guo W S, Ren L P, Meng Q S. Comparisons of in vitro nitrate reduction, methanogenesis, and fermentation acid profile among rumen bacterial, protozoal and fungal fractions. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2011, 24(4): 471-478.
- [20] Lin M, Schaefer D M, Zhao G Q, Meng Q X. Effects of nitrate adaptation by rumen inocula donors and substrate fiber proportion on in vitro nitrate disappearance, methanogenesis, and rumen fermentation acid. *Animal*, 2013, 7(7): 1099-1105.
- [21] 刘圈炜. 苜蓿青饲对波尔山羊瘤胃代谢及生产性能的影响. 郑州: 河南农业大学硕士学位论文, 2006.
Liu Q W. Effects of fresh alfalfa on ruminant metabolism and production performance of Boer Goat. Master Thesis. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2006. (in Chinese)
- [22] Church D C. The Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1988: 2-11.
- [23] Nocek J E. Feeding sequence and strategy effects on ruminal environment and production performance in first lactation cows. *Journal of Dairy Science*, 1992, 75: 3100-3108.
- [24] 冀一伦. 实用养牛科学. 北京: 中国农业出版社, 2001: 156-159.
Ji Y L. Practical Cattle Science. Beijing: China Agriculture Press, 2001: 156-159. (in Chinese)
- [25] 徐俊. 不同牧草来源的 NDF 在瘤胃中降解特性及其对细菌群落结构的影响. 扬州: 扬州大学博士学位论文, 2014.
Xu J. Effect of forage sources on NDF rumen fermentation characteristics and bacterial community structure. PhD Thesis. Yangzhou: Yangzhou University, 2014. (in Chinese)
- [26] 茹彩霞. 模拟瘤胃条件下苜蓿对粗饲料产气特性和发酵特性的研究. 杨凌: 西北农林科技大学博士学位论文, 2006.
Ru C X. Effect alfalfa on characteristics of gas and ferment of forage. PhD Thesis. Yangling: Northwest A&F University, 2006. (in Chinese)

(责任编辑 武艳培)