

DOI:10.11686/cyxb2018577

<http://cyxb.magtech.com.cn>

张霞, 李妙善, 周恩光, 等. 西北地区 4 种优质饲草的肉牛体外瘤胃发酵性能研究. 草业学报, 2019, 28(9): 135—145.

Zhang X, Li M S, Zhou E G, et al. An *in vitro* study of fermentation properties of four high-quality forages and their mixtures treated with rumen fluid from beef cattle in northwest China. Acta Prataculturae Sinica, 2019, 28(9): 135—145.

西北地区 4 种优质饲草的肉牛体外瘤胃发酵性能研究

张霞, 李妙善, 周恩光, 王虎成*

(兰州大学草地农业生态系统国家重点实验室, 兰州大学农业农村部草牧业创新重点实验室, 兰州大学草地农业科技学院, 甘肃 兰州 730020)

摘要:本试验选用黄土高丘陵沟壑区推广应用的玉米、燕麦、苜蓿裹包青贮及苜蓿干草为试验材料, 旨在研究其在肉牛体外瘤胃发酵性能及组合效应, 为其科学应用提供技术支持。将 4 种优质饲草按干物质基础组成 7 种不同比例组合, 即 C₁(50%玉米青贮+50%燕麦青贮)、C₂(50%玉米青贮+50%苜蓿青贮)、C₃(80%玉米青贮+20%苜蓿干草)、C₄(50%燕麦青贮+50%苜蓿干草)、C₅(70%玉米青贮+10%燕麦青贮+20%苜蓿青贮)、C₆(65%玉米青贮+15%燕麦青贮+25%苜蓿青贮)和 C₇(50%玉米青贮+20%燕麦青贮+30%苜蓿青贮)共构成 11 种发酵底物。结果表明:4 种单一饲料在各时间点的产气量(GP)玉米青贮最高, 苜蓿青贮最低($P<0.05$);7 种组合不同时点产气特点为, C₃ 的 GP 最高, C₄ 最低($P<0.05$)。4 种单一饲料的快速降解部分产气量(a)和产气速率常数(c)分别为玉米青贮和苜蓿干草最高, 与其他单一饲料存在显著差异($P<0.05$);7 种组合中的 a 和 c 均以 C₂ 最高;慢速降解部分产气量(b)和潜在产气量(a+b)均以 C₃ 最高, 亦均显著高于其他组合($P<0.05$)。体外发酵 48 h 后, 4 种单一饲料中玉米青贮的干物质消失率(DMD)显著高于其他 3 种($P<0.05$);培养液的 pH 介于 6.27~6.72, 且各组间差异显著($P<0.05$);氨态氮(NH₃-N)浓度燕麦青贮最高($P<0.05$)。7 种组合的 DMDC₂ 显著低于 C₅ 和 C₇ ($P<0.05$);pH 介于 6.40~6.69, 其中 C₃ 显著低于其他 6 种($P<0.05$);NH₃-N 的浓度 C₁ 与 C₂ 显著高于其他 5 种($P<0.05$)。4 种单一粗饲料的总挥发性脂肪酸(TVFA)为玉米青贮显著高于苜蓿青贮和干草($P<0.05$);7 种组合培养 48 h 后, 培养液的 TVFA 浓度 C₂ 和 C₄ 显著低于 C₅ 和 C₆ ($P<0.05$)。综上, 玉米青贮的体外发酵 GP、DMD、TVFA 及乙酸浓度均最高;苜蓿青贮的体外发酵 GP 较低, 发酵速度慢;不同组合的综合组合效应值(MFAEI)均为正值, 由高到低依次为 C₄、C₂、C₅、C₁、C₃、C₆、C₇。

关键词:肉牛;玉米青贮;燕麦青贮;苜蓿青贮;组合效应

An *in vitro* study of fermentation properties of four high-quality forages and their mixtures treated with rumen fluid from beef cattle in northwest China

ZHANG Xia, LI Miao-shan, ZHOU En-guang, WANG Hu-cheng*

State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems, Key Laboratory of Grassland Livestock Industry Innovation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730020, China

Abstract: The aim of this study was to investigate the fermentation performance and combination effect of high-quality forages treated with beef cattle rumen fluid *in vitro*. The four forages studied were packaged silage of maize, oat and alfalfa, and alfalfa hay. The feeds were sourced from the Loess Plateau region. Seven mixtures of the four forages were also tested: C₁(50% maize silage+50% oat silage), C₂(50% maize silage+50% alfalfa silage),

收稿日期:2018-08-31; 改回日期:2018-10-08

基金项目:定西市科技计划“优质牧草高效育肥牛关键技术研发”(071100032)和定西市安定区草地农业试验示范区建设(GCLM2017)资助。

作者简介:张霞(1992-),女,甘肃定西人,在读硕士。E-mail: zhangx2016@lzu.edu.cn

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: wanghuch@lzu.edu.cn

fa silage), C₃(80% maize silage+20% alfalfa hay), C₄(50% oat silage+50% alfalfa hay), C₅(70% maize silage+10% oat silage+20% alfalfa silage), C₆(65% maize silage+15% oat silage+25% alfalfa silage) and C₇(50% maize silage +20% oat silage+30% alfalfa silage). It was found that: at each time point, the gas production (GP) was highest for maize silage and lowest for alfalfa silage, among the four forages tested singly ($P<0.05$). For the seven mixtures, the highest and lowest GP was from C₃ and C₄, respectively ($P<0.05$). Gas production was partitioned into a rapid degradation component (a), a slow degradation component (b), and a gas production rate constant (c). Among the four single feeds, maize silage had the highest value of a, while alfalfa hay had the highest value of c, and values differed significantly ($P<0.05$) between the four single feeds for both a and c. Among the seven feed mixtures, the highest values of a and c occurred in mixture C₂, while values of c, and potential gas production (a+b) were higher ($P<0.05$) in mixture C₃, than in the other mixtures. Among the four single feeds, the highest dry matter digestibility (DMD) after 48 h was for maize silage, and there were also significant differences among the other three forages ($P<0.05$); the pH values differed among the four feeds ($P<0.05$), and ranged from 6.27 to 6.72; while the NH₃-N concentration was the highest in oat silage ($P<0.05$). For the seven feed mixtures, the DMD of C₂ was lower than C₅ and C₇ ($P<0.05$); the pH values ranged from 6.40 to 6.69, and the pH value of C₃ was significantly lower than that of the other six feed mixtures ($P<0.05$); The NH₃-N concentration of C₁ and C₂ was higher than that of the other five feed mixtures ($P<0.05$). Among the four single forages, the total volatile fatty acids (TVFA) alfalfa silage and hay were significantly lower than for maize and oat silage ($P<0.05$). Among the feed mixtures, the TVFA concentrations of C₂ and C₄ were significantly lower than those of C₅ and C₆ ($P<0.05$). In conclusion, the GP, DMD, TVFA and acetic acid production from maize silage was the highest, while the lowest GP occurred in alfalfa silage. For the seven feed mixtures positive associative effects were detected, and according to the ‘MAFEI’ index, these effects ranked C₄>C₂>C₅>C₁>C₃>C₆>C₇.

Key words: beef cattle; corn silage; oat silage; alfalfa silage; combination effect

近年来,我国反刍家畜养殖业发展迅速,40%~80%的粗饲料被用于反刍动物饲粮中,提供给宿主动物和瘤胃微生物重要的营养物质^[1-2],其次,苜蓿(*Medicago sativa*)、燕麦(*Avena sativa*)、饲用玉米(*Zea mays*)等优质饲草是我国建植栽培草地、也是黄土高原丘陵沟壑区进行饲草生产的主要资源,亦是反刍动物养殖的主要粗饲料;同时,充分利用优质饲草(玉米、燕麦、苜蓿青贮等)作为饲草资源,将有助于缓解草畜矛盾、充分利用非常规饲草资源,利用不同饲草的组合来改善进入反刍动物体内的营养平衡,加强我国特别是西北地区饲草资源合理利用,促进畜牧业的高效发展。然而,优质粗饲料相对而言存在较大的缺口。因此,如何更好地利用与提高研究区优质粗饲料的利用率被广泛关注。目前评定饲料营养价值的主要方法包括体内法、半体内法和体外法,其体外瘤胃发酵法因其方法简便、经济、快速而被广泛用于评定饲料的营养价值^[3-5]。据报道,韩肖敏等^[6]用体外产气法评价玉米秸秆、稻草(*Oryza sativa*)、玉米秸秆青贮与精料的组合效应,结果表明60%玉米秸秆+40%稻草、24%玉米秸秆+16%稻草+60%玉米秸秆青贮、9.6%玉米秸秆+6.4%稻草+24%玉米秸秆青贮+60%精料为最优组合;张建勋等^[7]研究饲粮精粗比对南江黄羊瘤胃体外发酵的影响结果表明高精料饲粮对南江黄羊体外发酵有显著的影响;孙国强等^[8]利用体外瘤胃发酵法研究全株玉米青贮与花生蔓(*Arachis hypogaea*)和羊草(*Leymus chinensis*)间的组合效应,结果表明全株玉米青贮与花生蔓比例为70:30的组合、全株玉米青贮—花生蔓—羊草比例为56:24:20的组合具有最大组合效应;张吉鵠等^[9]对稻草与多水平苜蓿混合瘤胃体外发酵组合效应的整体研究,结果表明稻草与苜蓿适宜添补量为40%~60%;李妍等^[10]对体外法评价玉米秸秆、谷草和玉米秸秆青贮饲料组合效应的研究,结果表明玉米秸秆和谷草的搭配比例为60:40,玉米秸秆、谷草、玉米秸秆青贮饲料的搭配比例为12:8:80为最优组合;孟梅娟等^[11]对小麦(*Triticum aestivum*)秸秆与米糠粕瘤胃体外发酵组合效应

研究表明小麦秸秆与米糠粕的最优组合是 75 : 25; 并且对相关氮源水平、半胱胺、植物精油、沙柳(*Salix cheiophila*)、苎麻(*Boehmeria nivea*)等的体外瘤胃发酵特性和饲用价值研究报道较多^[12-16]; 综合以上研究进展, 前人研究主要集中在利用体外瘤胃发酵法对秸秆、稻草、谷草、羊草类等粗饲料, 不同精粗比以及一些添加剂的研究、开发和利用。但以玉米、燕麦、苜蓿裹包青贮及苜蓿干草这 4 种优质粗饲料饲用价值和适宜配合比例尚未见系统研究报道。为此, 本研究选用黄土高原丘陵沟壑区推广应用的玉米、燕麦、苜蓿裹包青贮及苜蓿干草为试验材料, 利用体外产气法评价单一饲草及不同组合的肉牛瘤胃发酵性能及组合效应, 旨在为该研究区几种优质饲草的饲用价值及合理搭配做初步探究, 为正确进行肉牛日粮中粗饲料搭配积累数据和提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用饲草为玉米、苜蓿、燕麦裹包青贮, 均购自甘肃民祥牧草有限公司, 苜蓿干草以及供体动物饲用精料均有由养殖场提供, 采集的鲜样经冻干机冻干制成粉样, 干草直接制成粉样, 备作常规化学成分分析与体外产气试验, 饲草营养成分如表 1 所示。

表 1 饲草营养成分

Table 1 Nutrients of 4 kinds of forage (干物质基础 dry matter basis, %)

项目 Item	玉米青贮 Corn silage	燕麦青贮 Oat silage	苜蓿青贮 Alfalfa silage	苜蓿干草 Alfalfa hay
干物质 Dry matter (DM)	93.83	95.04	94.70	94.57
粗蛋白质 Crude protein (CP)	8.20	8.51	16.66	13.04
粗脂肪 Ether extract (EE)	1.74	3.36	2.35	1.29
粗灰分 Ash	7.72	7.54	16.47	7.71
中性洗涤纤维 Neutral detergent fibers (NDF)	47.57	52.43	46.75	49.87
酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber (ADF)	27.11	30.92	36.77	38.79

1.2 试验设计

采用单因子重复试验设计, 将 4 种优质饲草按干物质组成 7 种不同比例组合: 组合 1(50% 玉米青贮 + 50% 燕麦青贮, C₁)、组合 2(50% 玉米青贮 + 50% 苜蓿青贮, C₂)、组合 3(80% 玉米青贮 + 20% 苜蓿干草, C₃)、组合 4(50% 燕麦青贮 + 50% 苜蓿干草, C₄)、组合 5(70% 玉米青贮 + 10% 燕麦青贮 + 20% 苜蓿青贮, C₅)、组合 6(65% 玉米青贮 + 15% 燕麦青贮 + 25% 苜蓿青贮, C₆)、组合 7(50% 玉米青贮 + 20% 燕麦青贮 + 30% 苜蓿青贮, C₇), 共构成 11 种发酵底物。

1.3 试验用瘤胃液供体动物

试验于 2017 年 9 月在甘肃省定西市甲天下肉牛养殖场进行。选取 3 头健康状况良好, 体重约 600 kg 的西门塔尔牛作为瘤胃液供体动物。试验期间肉牛拴系饲养, 保持圈内清洁干燥, 定期进行消毒。全混合饲粮(total mixed rations, TMR)日饲喂 2 次(早上 7:30 和下午 16:00), 采食后自由饮水。

1.4 体外发酵

体外发酵试验参照 Menke 等^[17]推荐的方法进行。在晨饲前, 用瘤胃液采集器(科立博 A1164K)经口腔采集 3 只肉牛的瘤胃液共 1 L, 迅速装入充满 CO₂ 的密闭容器并保温 39 °C 尽快带回实验室。把取得的瘤胃液经 4 层纱布过滤, 得到滤液, 并与人工唾液以体积比 1 : 2 混合, 39 °C 恒温, 同时通入无氧 CO₂, 得到人工瘤胃液。然后将其置于 39 °C 磁力搅拌器上不断搅拌, 同时通入 CO₂ 气泡(需通入底部), 直至溶液颜色变为无色, 呈还原状态, 在液面以上持续通入 CO₂ 确保厌氧。准确称量试验饲料 0.4000 g 于已装入 10 g 左右玻璃珠的尼龙袋(0.048 mm)中, 封口后置入 100 mL 刻度玻璃注射器中; 将 40 mL 混合液迅速注入装样注射器, 密封、排气后于(39.0 ± 0.5) °C 水浴摇床连续培养 48 h, 每个样 3 个重复; 同一批次设定 3 个空白对照。

1.5 测定指标及方法

1.5.1 产气量及产气动力学 分别在培养 3、6、9、12、24、36、48 h 记录每个注射器活塞的位置并读数,以计算各时间点的产气量(gas production, GP)。计算公式为:

$$\text{某时间点的 GP} = \text{该段时间样品 GP} - \text{该段时间空白样 GP}$$

根据 Ørskov 等^[18]的产气模型,将各种样品在 3、6、9、12、24、36、48 h 时的产气量代入下列公式计算各部分产气量。

$$GP = a + b(1 - \exp^{-ct})$$

式中:GP, t 时间的产气量($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$);a, 快速降解部分产气($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$);b, 慢速降解部分产气量($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$);c, 产气速率($\% \cdot \text{h}^{-1}$);a+b, 潜在产气量($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)。

1.5.2 干物质消失率(dry matter disappearance, DMD) 在体外 48 h 发酵结束后,迅速放置冷水中终止发酵,将已编号并称重的尼龙布用蒸馏水冲洗数次直至干净,然后将尼龙布小心无损的转移到烘箱中以 105 °C 烘 24 h 至恒重,计算干物质消失率。

$$\text{饲料干物质消失率} = [\text{样本干物质量} - \text{消化后残渣干物质量}] \times 100\% / \text{样本干物质量}$$

1.5.3 体外发酵参数 培养 48 h 后,用 SX-620 型酸度计测定培养液 pH 值;采用苯酚一次氯酸钠显色法测定氨态氮(NH₃-N)浓度,具体程序参照周建伟^[19]的方法;挥发性脂肪酸(volatile fatty acid, VFA)浓度参照李晓亚^[20]的方法,使用 Agilent-6890A 型气相色谱仪测定。

1.5.4 组合效应指数的计算 参照王旭^[21]所使用的方法计算指标的单项组合效应指数(single factors associative effects index, SFAEI)与多项组合效应指数(multiply factors associative effects index, MFAEI),具体公式如下:

$$SFAEI = (\text{组合后实测值} - \text{加权估算值}) / \text{加权估算值}$$

$$MFAEI = \sum \text{单项组合效应值}$$

式中:加权估算值=某种饲料的实际测定值×所占比例+另一种饲料的实际测定值×所占比例。

1.6 数据分析

数据经 Excel 2010 初步处理后,使用 SPSS 20.0 软件的一般线性模型进行方差分析,分别对 4 种单一原料和 7 种组合饲料进行 Duncan 氏多重比较;用非线性回归参数估计程序求出产气动力学参数;结果用“平均值±标准误”表示,以 $P < 0.05$ 作为差异显著性判断标准。

2 结果与分析

2.1 优质饲草的肉牛瘤胃体外发酵产气性能

随培养时间的延长,各组产气量逐渐上升,其中发酵初期增长速度较快(表 2)。4 种单一饲料在各时间点的 GP 玉米青贮最高,苜蓿青贮最低($P < 0.05$),其中 48 h 的 GP,玉米青贮比其他 3 种分别提高了 29.15%(燕麦青贮)、66.17%(苜蓿青贮)和 38.04%(苜蓿干草)。7 种组合在各时间点产气特点为,C₃ 的 GP 最高,C₄ 最低($P < 0.05$),其中 C₃ 比其他各组合分别提高了 24.07%(C₁)、30.12%(C₂)、39.08%(C₄)、12.81%(C₅)、22.57%(C₆) 和 25.52%(C₇),且其他各组合间亦存在显著差异($P < 0.05$)。

4 种单一饲料的慢速降解部分产气量和潜在产气量依玉米青贮、燕麦青贮、苜蓿青贮、苜蓿干草的次序降低,且存在显著差异($P < 0.05$)(表 3);快速降解部分产气量和产气速率常数分别为玉米青贮($-9.47 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$)和苜蓿干草($0.04\% \cdot \text{h}^{-1}$)最高,与其他单一饲料存在显著性差异($P < 0.05$)。7 种组合中的快速降解部分产气量和产气速率常数均以 C₂ 最高,分别为 $-17.56 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $0.07\% \cdot \text{h}^{-1}$;慢速降解部分产气量和潜在产气量均以 C₃ 最高,分别为 167.69 和 $165.00 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$,均显著高于其他组合($P < 0.05$)。

2.2 优质饲草在肉牛体外瘤胃发酵 48 h 的 DMD 与发酵参数

体外发酵 48 h 后,4 种单一饲料中玉米青贮的干物质消失率(DMD)最高(81.73%),显著高于其他 3 种粗饲料($P < 0.05$);培养液的 pH 介于 6.27~6.72,苜蓿青贮 pH 最高,且各组间差异显著($P < 0.05$);NH₃-N 浓度,

燕麦青贮($38.12 \text{ mg} \cdot \text{dL}^{-1}$)显著高于其他 3 种粗饲料($P < 0.05$)。7 种组合的 DMD 以 C₂ 显著低于 C₅ 和 C₇ ($P < 0.05$); pH 介于 6.40~6.69, 其中 C₃ 显著低于其他 6 种($P < 0.05$), 其中 C₅ 和 C₆ 最高; NH₃-N 的浓度 C₁ 与 C₂ 显著高于其他 5 种, 其中 C₇ 最低(表 4)。

表 2 优质饲草的肉牛体外瘤胃发酵产气量

Table 2 *In vitro* gas production of high-quality forage treated with rumen fluid of beef cattle (mL · g⁻¹)

项目 Item	3 h	6 h	9 h	12 h	24 h	36 h	48 h
玉米青贮 Corn silage	5.63±0.06a	19.02±0.05a	29.06±0.12a	37.44±0.06a	77.20±0.05a	108.87±0.12a	121.20±0.22a
燕麦青贮 Oat silage	4.33±0.07b	11.20±0.03b	17.01±0.20b	22.31±0.02c	50.15±0.07b	73.62±0.03b	85.87±0.04b
苜蓿青贮 Alfalfa silage	1.43±0.07d	3.23±0.06c	7.06±0.12c	9.52±0.02d	24.70±0.03d	32.46±0.34d	41.00±0.07d
苜蓿干草 Alfalfa hay	3.40±0.09c	10.33±0.40b	18.71±0.02b	24.80±0.04b	41.10±0.13c	51.18±0.04c	58.31±0.04c
<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
C ₁	5.08±0.05d	19.43±0.07f	32.74±0.13d	43.82±0.13e	70.43±0.07d	89.83±0.04e	103.11±0.12d
C ₂	5.08±0.07d	20.40±0.03e	35.73±0.13c	47.91±0.02c	78.60±0.15c	88.75±0.07f	94.90±0.04f
C ₃	11.17±0.13a	30.72±0.08a	46.88±0.07a	57.09±0.04a	89.82±0.09a	118.46±0.11a	135.80±0.05a
C ₄	5.14±0.22d	19.44±0.07f	30.64±0.12f	39.82±0.09g	61.27±0.09f	73.50±0.10g	82.73±0.07g
C ₅	11.16±0.10a	26.64±0.08b	37.75±0.13b	51.04±0.10b	80.64±0.13b	104.14±0.11b	118.40±0.03b
C ₆	9.22±0.07c	21.53±0.06d	32.64±0.12d	45.92±0.04d	67.34±0.08e	92.87±0.08c	105.15±0.15c
C ₇	10.20±0.06b	22.54±0.13c	31.67±0.10e	42.82±0.09f	70.46±0.05d	90.79±0.05d	101.15±0.10e
<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$), 相同字母表示差异不显著($P > 0.05$), 下同。

Note: Different small letters in the same column indicate significant difference between the treatments($P < 0.05$), while same letter in the same column indicate not significant difference between the treatments ($P > 0.05$), the same below.

表 3 优质饲草的肉牛体外瘤胃发酵产气动力学参数

Table 3 *In vitro* gas production kinetic parameters of high-quality forage treated with rumen fluid of beef cattle

项目 Item	快速降解部分产气量 GP of quickly degraded part (mL · g ⁻¹)	慢速降解部分产气量 GP of slowly degraded part (mL · g ⁻¹)	潜在产气量 Potential GP (mL · g ⁻¹)	产气速率常数 Constant of GP rate (% · h ⁻¹)
玉米青贮 Corn silage	-9.47±0.005d	185.98±0.06a	176.51±0.050a	0.03±0.001b
燕麦青贮 Oat silage	-5.28±0.011b	172.99±0.17b	167.72±0.160b	0.02±0.002c
苜蓿青贮 Alfalfa silage	-3.77±0.007a	83.29±0.01c	79.52±0.001c	0.02±0.003c
苜蓿干草 Alfalfa hay	-5.59±0.002c	71.89±0.11d	66.30±0.009d	0.04±0.004a
<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
C ₁	-8.97±0.004c	127.40±0.05d	118.44±0.050e	0.04±0.001c
C ₂	-17.56±0.350d	117.15±0.17e	99.59±0.150f	0.07±0.003a
C ₃	-2.69±0.020ab	167.69±0.34a	165.00±0.350a	0.03±0.002d
C ₄	-8.69±0.010c	96.60±0.40f	87.91±0.390g	0.05±0.003b
C ₅	-2.92±0.030b	146.11±0.11b	143.19±0.140b	0.04±0.001c
C ₆	-2.34±0.010a	135.72±0.01c	133.39±0.110c	0.03±0.002d
C ₇	-3.12±0.060b	126.15±0.18d	123.03±0.120d	0.04±0.001c
<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: “-”表示产气滞后, 快速降解部分产气量大小由绝对值确定。

Note: “-” indicates gas production lag, and partial gas production of rapid degradation is determined by absolute value.

表 4 优质饲草在肉牛体外瘤胃发酵 48 h 的 DMD、pH 及 NH₃-N 浓度Table 4 The pH and NH₃-N concentration of fermentation fluid and DMD of high-quality forage treated 48 h *in vitro* with rumen fluid of beef cattle

项目 Item	干物质消失率 DMD (%)	pH	氨态氮 NH ₃ -N (mg · dL ⁻¹)
玉米青贮 Corn silage	81.73±0.75a	6.57±0.003c	18.87±1.87c
燕麦青贮 Oat silage	70.53±0.74b	6.27±0.002d	38.12±2.71a
苜蓿青贮 Alfalfa silage	58.93±0.96c	6.72±0.003a	24.45±3.57bc
苜蓿干草 Alfalfa hay	47.85±0.76d	6.66±0.005b	28.86±2.59b
P 值 P-value	<0.001	<0.001	<0.001
C ₁	73.69±5.51ab	6.55±0.030b	22.53±2.20a
C ₂	64.92±4.52b	6.56±0.030b	21.43±1.41a
C ₃	73.46±7.00ab	6.40±0.060c	15.92±1.15b
C ₄	72.98±6.61ab	6.55±0.030b	15.82±0.16b
C ₅	81.46±0.79a	6.69±0.005a	14.73±0.06b
C ₆	77.09±1.97ab	6.69±0.003a	6.00±1.36c
C ₇	83.74±3.37a	6.59±0.003b	5.69±0.25c
P 值 P-value	0.190	<0.001	<0.001

4 种单一粗饲料培养 48 h 后培养液的总挥发性脂肪酸(TVFA)和丁酸浓度均为玉米青贮显著高于苜蓿青贮和干草($P<0.05$)；丙酸浓度玉米青贮显著高于其他 3 种，且燕麦青贮显著高于苜蓿青贮和干草($P<0.05$)；乙酸/丙酸(acetic acid/propionic acid, A/P)玉米青贮和燕麦青贮显著低于其他 2 种($P<0.05$)（表 5）。7 种组合培养 48 h 后，培养液的 TVFA 浓度 C₂ 和 C₄ 显著低于 C₅ 和 C₆ ($P<0.05$)；乙酸含量 C₁ 显著低于 C₂、C₄ 和 C₇ ($P<0.05$)，且 C₇ 最高；丙酸含量 C₁、C₅、C₆ 显著高于 C₂、C₄、C₇ ($P<0.05$)；A/P 值 C₇ 显著高于 C₁、C₃、C₅、C₆ ($P<0.05$)，且 C₁ 最低；丁酸含量 C₅ 显著高于 C₂、C₃、C₄、C₇ ($P<0.05$)，且 C₇ 最低；戊酸含量 C₇ 显著低于其他 6 组($P<0.05$)，且 C₄ 最高。

表 5 优质饲草在肉牛体外瘤胃发酵 48 h 的总挥发性脂肪酸构成

Table 5 The volatile fatty acid profile of fermentation fluid of high-quality forage treated 48 h *in vitro* with rumen fluid of beef cattle

项目 Item	总挥发性脂肪酸 TVFA (mmol · L ⁻¹)	乙酸 Acetic acid (%)	丙酸 Propionic acid (%)	乙酸/丙酸 A/P	丁酸 Butyrate acid (%)	戊酸 Valeric acid (%)
玉米青贮 Corn silage	96.22±7.14a	61.58±4.93	27.55±1.600a	2.23±0.05b	7.37±0.40a	0.97±0.05
燕麦青贮 Oat silage	82.81±10.01ab	64.19±6.01	24.61±2.050b	2.61±0.03b	6.82±0.95ab	1.14±0.19
苜蓿青贮 Alfalfa silage	64.34±2.05b	70.00±3.65	16.47±0.001c	4.25±0.34a	6.96±0.64b	1.54±0.13
苜蓿干草 Alfalfa hay	64.14±4.19b	69.46±2.55	18.90±1.070c	3.69±0.11a	6.81±0.31b	1.59±0.09
P 值 P-value	0.050	0.200	0.004	0.004	0.100	0.950
C ₁	105.61±5.52ab	55.50±0.31d	28.14±0.060a	1.97±0.02d	9.49±0.19ab	1.79±0.02ab
C ₂	94.58±6.61b	61.28±2.60ab	23.76±1.480c	2.60±0.27ab	8.05±0.54cd	1.71±0.11ab
C ₃	105.11±6.55ab	58.66±0.27bcd	26.25±0.030ab	2.23±0.01bcd	8.50±0.25bcd	1.80±0.01ab
C ₄	88.27±3.89b	60.52±0.89abc	24.20±0.100bc	2.50±0.03abc	8.02±0.60cd	1.92±0.10a
C ₅	117.21±3.75a	56.90±0.53cd	26.52±0.110a	2.14±0.01cd	9.82±0.31a	1.84±0.08ab
C ₆	116.57±6.59a	57.68±0.02bcd	27.30±0.510a	2.11±0.04d	9.18±0.19abc	1.63±0.08b
C ₇	107.49±5.87ab	63.90±0.05a	24.20±0.530bc	2.64±0.06a	7.68±0.17d	1.17±0.09c
P 值 P-value	0.060	0.010	0.010	0.020	0.020	0.004

2.3 优质饲草的肉牛体外瘤胃发酵 48 h 的组合效应

GP 和乙酸含量只有 C₁ 出现负组合效应, 其他 6 种组合均为正组合效应; DMD 在 C₁、C₂ 和 C₃ 均为负组合效应, 其余 4 组均为正组合效应, 且 C₄ 最大(0.2330); pH 在 C₂ 和 C₃ 时为负组合效应, 其余组合间均为正组合效应; NH₃-N 浓度在各组合均出现负组合效应; 丙酸与丁酸含量在各组合均为正组合效应, 且均在 C₄ 时达到最大, 分别为 0.4892 和 0.6008(表 6)。所有组合的综合组合效应均为正效应, 由高到低依次为 C₄、C₂、C₅、C₁、C₃、C₆、C₇。故而, 本试验条件下, C₄ 为最佳组合(50% 燕麦青贮 + 50% 苜蓿干草), C₂(50% 玉米青贮 + 50% 苜蓿青贮)次之, 且玉米青贮、燕麦青贮、苜蓿青贮三者配比以 70 : 10 : 20 较优。

表 6 不同比例优质饲草的组合效应

Table 6 The combination effect of different proportion of high-quality forage treated

48 h *in vitro* with rumen fluid of beef cattle

项目 Item	48 h 指标 48 h Indicators	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇
单项组合效应指数 SFAEI	产气量 GP	-0.0041	0.1702	0.2502	0.1476	0.1650	0.0970	0.1236
	干物质消失率 DMD	-0.0321	-0.0769	-0.0199	0.2330	0.0711	0.0369	0.1526
	pH	0.0202	-0.0128	-0.0285	0.0131	0.0183	0.0194	0.0053
	氨态氮 NH ₃ -N	-0.4147	-0.3231	-0.4843	-0.6362	-0.5321	-0.8190	-0.8346
	乙酸 Acetic acid	-0.0125	0.1752	0.0417	0.2388	0.0197	0.0529	0.1884
	丙酸 Propionic acid	0.2003	0.2805	0.1108	0.4892	0.1675	0.2631	0.1799
	丁酸 Butyrate acid	0.4898	0.3915	0.2985	0.6008	0.5286	0.4755	0.2760
多项组合效应指数 MFAEI		0.2469	0.6046	0.1685	1.0863	0.4382	0.1258	0.0912

3 讨论

3.1 优质饲草的肉牛体外瘤胃发酵产气性能

饲料在瘤胃中产生的气体主要来源于微生物对饲料中碳水化合物和蛋白质含碳部分的分解, 体外产气量是反映瘤胃中微生物活性、饲料降解率及饲料总体可发酵程度的指标。其大小取决于可发酵有机物含量和瘤胃微生物活力, 产气量大说明瘤胃微生物的活性高, 对底物发酵越充分, 若产气量低, 则主要由于底物中可供微生物发酵产物不足所致^[17, 21-23]。快速降解产气量和慢速降解产气量反映饲料发酵前期和后期可降解部分, 其值越大表示该阶段可发酵成分含量高。研究表明饲料中蛋白质、NDF、ADF 等不易发酵成分含量越高, 则产气量越低^[24]。通常情况下, 易发酵碳水化合物含量高的能量饲料在 24 h 之内 GP 就可达到最高峰, 蛋白质饲料在 48 h 内产气量可达到高峰, 但含结构性碳水化合物较多的粗饲料的产气量最高峰在 48 h 以后才出现^[25]。本研究中的粗饲料为玉米青贮、燕麦青贮、苜蓿青贮和苜蓿干草, 其结构性碳水化合物含量相较秸秆等低品质粗饲料较高, 各粗饲料的最高 GP 均在 48 h 之后出现, 且玉米青贮和燕麦青贮的发酵启动时间短, 主要因为禾本科饲料相对豆科饲草含有更多的易发酵碳水化合物。其次, 因不同饲料组合, 其非结构性碳水化合物与碳水化合物比例及其碳水化合物与蛋白质比例间有所差异, 致使在不同比例组合间的产气规律也有所不同。本试验中, C₄(50% 燕麦青贮 + 50% 苜蓿干草)产气量相对最低, 可能是该组合中的 ADF 和 NDF 含量相对较高, 可供微生物发酵产物不足所致, 降低了体外发酵的产气速率, 从而产气量降低; 同时 C₃(80% 玉米青贮 + 20% 苜蓿干草)产气量相对最高, 究其原因可能是该组合玉米青贮含量高, 且其含有更多的可发酵碳水化合物, 并且 CP 和 ADF 含量较低等, 有利于微生物发酵, 提高其微生物活性, 与杨志林等^[26]的研究结果一致。

3.2 优质饲草在肉牛体外瘤胃发酵 48 h 的干物质消失率与发酵参数

饲料 DMD 是反映其被动物利用程度大小的重要指标, 也是表示反刍动物机体消化利用饲料中有机物能力的重要指标, 降解率越高, 饲料的可利用程度就越高^[27]。DM 的降解主要是 CP、EE 和 CF 等物质的降解^[28], 瘤胃碳氮比适中, 更有利于微生物活动, 亦对应高的 DMD。本研究条件下, 玉米青贮和燕麦青贮的 DMD 分别为

81.73%、70.53%，相对较高，其玉米青贮的 DMD 高的原因是青贮后的玉米富含非结构性碳水化合物，可消化的有机物含量高，很容易被瘤胃微生物发酵利用；而燕麦青贮 DMD 高的原因可能是其碳氮比合适，更易被微生物利用。此外，亦有研究表明较低的饲料粗灰分和 ADF 含量会对应较高的 DMD^[29]，故而这也是玉米青贮和燕麦青贮 DMD 较高的原因之一。其次，C₂(50%玉米青贮+50%苜蓿青贮)DMD 最低，可能是因为含有较高苜蓿青贮，其非结构性碳水化合物含量低，不易被瘤胃微生物发酵利用。

瘤胃液 pH 是反映瘤胃内部环境与发酵水平的一项综合指标，瘤胃 pH 大小影响瘤胃微生物蛋白合成和微生物区系的稳定性，保证瘤胃正常发酵所需的 pH 范围为 6~7^[30]，其大小由诸多因素共同决定，包括日粮类型、唾液分泌和瘤胃代谢产物等^[31]。一般情况，体外发酵培养液 pH 随着饲料发酵时间的延长而显著下降，主要因为发酵产酸增加及累积^[32]。本试验中，虽然 pH 受粗饲料类型的影响，但 4 种单一饲料培养液 pH (6.27~6.72) 和 7 种组合培养液 pH (6.40~6.69) 均在适宜范围内，表明发酵 48 h 不会影响瘤胃微生物生长繁殖。

瘤胃液中氨态氮(NH₃-N)不仅是瘤胃微生物分解含氮物质的产物，也是合成微生物蛋白的主要氮来源^[33]。NH₃-N 浓度为瘤胃微生物合成菌体蛋白提供氮源，最佳 NH₃-N 浓度有利于微生物生长繁殖的环境，若供应不足，则微生物合成受阻，动物生产性能降低，相反，过高则会加重机体氮代谢的负担^[34]。一般情况下，瘤胃氨氮水平处于动态平衡状态，但瘤胃 NH₃-N 的含量变动很大，其最佳范围为 6.58~36.7 mg·dL⁻¹^[35]。Hoover^[30]则认为，瘤胃微生物生长适宜氨氮浓度为 3.3~8.0 mg·100 mL⁻¹，由于日粮蛋白质及碳水化合物(CHO)发酵的差异，实际上瘤胃液中氨氮的变化幅度多在 1~76 mg·100 mL⁻¹，从而影响瘤胃微生物活性。本研究中，4 种单一饲料和 7 种组合饲料的 NH₃-N 浓度变化范围分别为 18.87~38.12 mg·dL⁻¹ 和 5.69~22.53 mg·dL⁻¹，其均在有关文献报道的范围内^[30,36]，这说明其浓度可以确保瘤胃微生物的正常生长。其次，C₆ 和 C₇ 发酵 48 h 时 NH₃-N 浓度低于微生物发酵的最佳浓度下限。体外发酵体系中 NH₃-N 的主要来源为微生物对底物含氮物质的降解，而生成的 NH₃-N 有 2 个主要去向，一部分被微生物用来合成微生物蛋白(microbial protein, MCP)，另一部分溶解在发酵液中(发酵瓶不具有吸收和排出 NH₃-N 的能力)。碳水化合物是限制瘤胃微生物利用 NH₃-N 的主要因素。结合产气量及 DMD 指标，C₆ 和 C₇ 发酵 48 h 时 NH₃-N 浓度最低的原因可能生成的 NH₃-N 被微生物所利用，与王珊等^[37] 研究报道相一致。

挥发性脂肪酸(VFA)是反刍动物的主要能量来源，为瘤胃微生物增殖提供主要碳架来源^[38~39]，可为反刍动物提供 60%~80% 的可消化能^[40]。挥发性脂肪酸浓度的高低说明了瘤胃中碳水化合物消化率大小^[41]，同时，其含量及组成比例是反映瘤胃消化代谢活动的重要指标之一。乙酸作为合成体脂和乳脂的原料，能为动物提供所需的部分能量；葡萄糖合成的前体物质为丙酸，能量转化效率均高于其他酸，因此丙酸型发酵能为机体提供生长和生产所需的能量^[34]，从而可以进一步提高动物的生产水平和饲料利用率；而丁酸大部分以酮体的形式氧化。VFA 浓度及比例的影响因素众多，有发酵底物结构(如纤维素和半纤维素发酵产生的乙酸比例较高，而淀粉等易发酵的碳水化合物发酵产生的丙酸比例较高^[42])和各种微生物菌群的活性。反刍动物瘤胃内乙酸、丙酸、丁酸占总挥发性脂肪酸的比例分别为 50%~65%、18%~25% 和 12%~20%^[43]，据此推算，乙酸/丙酸范围应为 2.0~3.6，且其值受到动物、饲料及饲养条件等因素的影响。本试验中，4 种单一饲料和 7 种组合饲料的 VFA 的各成分中皆以乙酸的浓度为最高，乙酸、丙酸含量均介于上述范围的上限或偏高；其中玉米青贮的 TVFA 最高，A/P 最低，表明玉米青贮在瘤胃中消化利用率高，进一步表明禾本科饲料易被消化吸收，与史卉玲等^[44] 研究结果相一致。

3.3 优质饲草的肉牛体外瘤胃发酵 48 h 的组合效应

本试验中不同比例饲草的组合效应指数可以看出，某一项指标的单项组合效应指数并不一定与综合组合效应指数结果相一致。诸多早期研究结果表明，只有结合多项指标对组合效应结果进行综合评定，才能从整体水平上得出更为准确、客观的结论^[24,39,42]。此外，韩肖敏等^[6]指出，饲料以相对适宜的比例组合后，营养成分间通过互补促进了微生物的生长，有利于促进养分的高效利用。本试验中各处理的组合效应指数均为正值，其中两两组合以 C₄(50%燕麦青贮+50%苜蓿干草)为最优，三者组合以 C₅(70%玉米青贮+10%燕麦青贮+20%苜蓿青贮)为

最佳,表明合理的饲粮搭配,更有利于动物胃肠道微生态的平衡,进而有利于其对饲料养分的消化利用,相关机理有待进一步研究。

4 结论

本研究条件下,玉米青贮的体外发酵 GP、DMD、TVFA 及乙酸浓度均最高,发酵速度快;苜蓿青贮的体外发酵 GP 较低,发酵速度慢。各处理的组合效应由高到低依次为:50%燕麦青贮+50%苜蓿干草,50%玉米青贮+50%苜蓿青贮,70%玉米青贮+10%燕麦青贮+20%苜蓿青贮,50%玉米青贮+50%燕麦青贮,80%玉米青贮+20%苜蓿干草,65%玉米青贮+15%燕麦青贮+25%苜蓿青贮,50%玉米青贮+20%燕麦青贮+30%苜蓿青贮。

参考文献 References:

- [1] Mazzenga A, Giancesella M, Brscic M, et al. Feeding behaviour, diet digestibility, rumen fluid and metabolic parameters of beef cattle fed total mixed rations with a stepped substitution of wheat straw with maize silage. *Livestock Science*, 2009, 122(1): 16—23.
- [2] Yang D Y, Hao L Z, Liu S J, et al. Research progress on nutritional value of roughage commonly used in ruminants in Qinghai Province. *Feed Industry*, 2018, 39(1): 20—23.
杨得玉,郝力壮,刘书杰,等.青海省反刍动物常用粗饲料营养价值研究进展. 饲料工业, 2018, 39(1): 20—23.
- [3] Jin E W, Zhou L Y, Bu D P, et al. Advances in the application of *in vitro* gas production in animal nutrition. *Chinese Animal Husbandry and Veterinary Surgeons*, 2012, 39(10): 128—133.
金恩望,周凌云,卜登攀,等.体外产气法在动物营养学中应用的研究进展. 中国畜牧兽医, 2012, 39(10): 128—133.
- [4] Mauricio R M, Mould F L, Dhanoa M S, et al. A semiautomated *in vitro* gas production technique for ruminant feed stuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*, 1999, 79(4): 321—330.
- [5] Guo Y J, Long R J, Zhang D G, et al. The dry matter degradation rate of alpine forage and shrub was determined by *in vitro* gas production method. *Journal of Grass Industry*, 2003, 12(2): 54—60.
郭彦军,龙瑞军,张德罡,等.利用体外产气法测定高山牧草和灌木的干物质降解率. 草业学报, 2003, 12(2): 54—60.
- [6] Han X M, Cao Y F, Li Q F, et al. Evaluation of the combined effects of corn stover, straw, corn stover silage and concentrate by *in vitro* gas production. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(2): 699—711.
韩肖敏,曹玉凤,李秋凤,等.用体外产气法评价玉米秸秆、稻草、玉米秸秆青贮与精料的组合效应. 动物营养学报, 2017, 29(2): 699—711.
- [7] Zhang J X, Liu J B, Xue B, et al. Effects of diet ratio on the rumen *in vitro* fermentation of Nanjiang Yellow Sheep. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2013, 25(4): 870—877.
张建勋,刘江波,薛白,等.饲粮精粗比对南江黄羊瘤胃体外发酵的影响. 动物营养学报, 2013, 25(4): 870—877.
- [8] Sun G Q, Lü Y Y, Zhang J J. Study on the combined effect of whole plant corn silage and peanut vine and *Leymus chinensis* by *in vitro* rumen fermentation. *Acta Prataculturae Sinica*, 2014, 23(3): 224—231.
孙国强,吕永艳,张杰杰.利用体外瘤胃发酵法研究全株玉米青贮与花生蔓和羊草间的组合效应. 草业学报, 2014, 23(3): 224—231.
- [9] Zhang J Z, Zou Q H, Wang J F, et al. Integrated study on the combined effects of straw and multi-level sputum mixed rumen *in vitro* fermentation. *Feed Industry*, 2011, 32(17): 40—48.
张吉鹏,邹庆华,王金芬,等.稻草与多水平苜蓿混合瘤胃体外发酵组合效应的整体研究. 饲料工业, 2011, 32(17): 40—48.
- [10] Li Y, Han X M, Li J G, et al. Evaluation of the combined effects of corn stover, cereal grass and corn stover silage *in vitro*. *Acta Prataculturae Sinica*, 2017, 26(5): 213—223.
李妍,韩肖敏,李建国,等.体外法评价玉米秸秆、谷草和玉米秸秆青贮饲料组合效应研究. 草业学报, 2017, 26(5): 213—223.
- [11] Meng M J, Tu Y L, Bai Y F, et al. Study on the combined effect of wheat straw and rice rumen *in vitro* fermentation. *Acta Prataculturae Sinica*, 2016, 25(9): 161—172.
孟梅娟,涂远璐,白云峰,等.小麦秸秆与米糠粕瘤胃体外发酵组合效应研究. 草业学报, 2016, 25(9): 161—172.
- [12] He Y, Wang H R, Xu J H, et al. Evaluation of the feeding value of ramie by *in vitro* gas production method and nylon bag method. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(2): 690—698.
贺瑶,王洪荣,徐进昊,等.体外产气法和尼龙袋法评定苎麻的饲用价值. 动物营养学报, 2017, 29(2): 690—698.
- [13] Jin E W, Wang J Q, Bu D P, et al. Effects of plant essential oils on rumen *in vitro* fermentation and methane production by

- in vitro* gas production. Journal of China Agricultural University, 2013, 18(3): 120–127.
- 金恩望, 王加启, 卜登攀, 等. 利用体外产气法研究植物精油对瘤胃体外发酵和甲烷生成的影响. 中国农业大学学报, 2013, 18(3): 120–127.
- [14] Huang Y L, Zou C X, Wei S J, et al. Effects of cysteamine on rumen fermentation parameters and methane production in buffalo by *in vitro* gas production. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(1): 125–133.
- 黄雅莉, 邹彩霞, 韦升菊, 等. 体外产气法研究半胱胺对水牛瘤胃发酵参数和甲烷产量的影响. 动物营养学报, 2014, 26(1): 125–133.
- [15] Li M S, Xue S Y, Wang C, et al. *In vitro* gas production method to study the effects of mixed fertilizer of *Salix psamophila* on rumen environmental parameters in sheep. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(6): 1943–1953.
- 李满双, 薛树媛, 王超, 等. 体外产气法研究沙柳混合发酵饲料对绵羊瘤胃内环境参数的影响. 动物营养学报, 2015, 27(6): 1943–1953.
- [16] Chen Z L, Wang Z S, Xue B, et al. Effect of nitrogen source and level on rumen fermentation characteristics of beef cattle *in vitro*. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2012, 24(6): 1150–1156.
- 陈智亮, 王之盛, 薛白, 等. 氮源和水平对肉牛体外瘤胃发酵特性的影响. 动物营养学报, 2012, 24(6): 1150–1156.
- [17] Menke K H, Steingawss H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. Animal Research, 1988, 28: 7–55.
- [18] Ørskov E R, McDonald I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agricultural Science, 1979, 92(2): 499–503.
- [19] Zhou J W. Adaptability of Tibetan sheep to nitrogen nutrition stress on the Qinghai–Tibet Plateau. Lanzhou: Lanzhou University, 2015.
- 周建伟. 藏羊对青藏高原氮素营养胁迫的适应性研究. 兰州: 兰州大学, 2015.
- [20] Li X Y. Effects of feeding time of flaxseed diet on growth and fattening performance and meat quality of lambs. Lanzhou: Lanzhou University, 2017.
- 李晓亚. 亚麻籽饲粮饲喂时间对羔羊生长育肥性能和肉品质的影响. 兰州: 兰州大学, 2017.
- [21] Wang X. Study on the scientific matching of roughage and the optimization technology of sheep diet formula system by using GI technology. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2003.
- 王旭. 利用GI技术对粗饲料进行科学搭配及绵羊日粮配方系统优化技术的研究. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2003.
- [22] Lei D Z, Jin S G, Wu R T N. Evaluation of the combined effects of different roughages and the same concentrate by *in vitro* gas production. Feed Industry, 2009, 30(3): 30–33.
- 雷冬至, 金曙光, 乌仁塔娜. 用体外产气法评价不同粗饲料与相同精料间的组合效应. 饲料工业, 2009, 30(3): 30–33.
- [23] Menke K H, Raab L, Salewskl A, et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ru-minant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. Journal of Agriculture Science, 1979, 93(1): 217–222.
- [24] Bu T L. Evaluation of the combined effects of silage corn, *Leymus chinensis* and alfalfa by *in vitro* gas production method. Hangzhou: Zhejiang University, 2006.
- 布同良. 体外产气法评定青贮玉米、羊草和苜蓿草之间的组合效应. 杭州: 浙江大学, 2006.
- [25] Rocha J L, Baker J F, Womack J E, et al. Statistical associations between restriction fragment length polymorphisms and quantitative traits in beef cattle. Journal of Animal Science, 1992, 70(11): 3360–3370.
- [26] Yang Z L, Li Q F, Cao Y F, et al. Study on the combined effect of whole plant corn silage and cereal grass by *in vitro* gas production method. Chinese Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2017, 44(3): 698–707.
- 杨志林, 李秋凤, 曹玉凤, 等. 体外产气法评定全株玉米青贮与谷草的组合效应研究. 中国畜牧兽医, 2017, 44(3): 698–707.
- [27] Zhao X, Dong K H, Wang Y X, et al. Degradation dynamics of different fine-to-roughage mixed feeds in rumen of sheep. Acta Prataculturae Sinica, 2005, 14(3): 9–11.
- 赵祥, 董宽虎, 王永新, 等. 不同精粗比全混合饲料在绵羊瘤胃内的降解动态. 草业学报, 2005, 14(3): 9–11.
- [28] Xue H F, Meng Q X. Progress in research on neutral detergent fiber nutrition of dairy cows. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2007, 19(1): 454–458.
- 薛红枫, 孟庆翔. 奶牛中性洗涤纤维营养研究进展. 动物营养学报, 2007, 19(1): 454–458.
- [29] Li Y F, Hao J X, Ma Y Y, et al. Evaluation of nutritional value of different types of feed by rumen fermentation *in vitro*. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2013, 25(10): 2403–2413.
- 李袁飞, 郝建祥, 马艳艳, 等. 体外瘤胃发酵法评定不同类型饲料的营养价值. 动物营养学报, 2013, 25(10): 2403–2413.
- [30] Hoover W H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. Journal of Dairy Science, 1986, 69: 2755–2766.

- [31] Hu M, Lu D X, Niu W Y, et al. Effects of different anions and cations on the rumen environmental parameters of sheep. Animal Husbandry and Feed Science, 2002, 23(5): 7—8.
胡明, 卢德勋, 牛文艺, 等. 不同阴阳离子水平日粮对绵羊瘤胃内环境参数的影响. 畜牧与饲料科学, 2002, 23(5): 7—8.
- [32] Di B. *In vitro* gas production method to evaluate the combined effect of yak cold season supplement forage and natural grass in Yushu area. Xining: Qinghai University, 2013.
刁波. 体外产气法评价牦牛冷季补饲草料与玉树地区天然牧草的组合效应. 西宁: 青海大学, 2013.
- [33] Chen W J, Sun P F, Zhang X D, et al. Effect of nitrogen-energy balance on the associative effects of feedstuffs *in vitro*. Journal of Animal and Feed Sciences, 2007, 16(2): 139—144.
- [34] Feng Y L. Nutrition of ruminant animals. Beijing: Science Press, 2004: 136—138.
冯仰廉. 反刍动物营养学. 北京: 科学出版社, 2004: 136—138.
- [35] Xiong B H, Pang Z H, Luo Q Y. China feed ingredients and nutritional value table (22 Edition). China Feed, 2011, (21): 37—43.
熊本海, 庞之洪, 罗清尧. 中国饲料成分及营养价值表(22 版). 中国饲料, 2011, (21): 37—43.
- [36] Zhang J J. Modeling of roughage grading index parameters and combined effects of roughage scientific collocation. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2004.
张吉鹏. 粗饲料分级指数参数的模型化及粗饲料科学搭配的组合效应研究. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2004.
- [37] Wang S, Shi L F, Zhang Z B, et al. Effects of the ratio of ramie and ramie on the rumen microbial fermentation parameters *in vitro*. Chinese Journal of Animal Ecology, 2018, 39(4): 39—43.
王珊, 史良峰, 张振斌, 等. 麻叶荨麻和羊草比例对体外培养瘤胃微生物发酵参数的影响. 家畜生态学报, 2018, 39(4): 39—43.
- [38] Wang D L, Fang J, Xing F, et al. Alfalfa as a supplement of dried cornstalk diets: Associative effects on intake, digestibility, nitrogen metabolism, rumen environment and hematological parameters in sheep. Livestock Science, 2008, 113(1): 87—97.
- [39] Spears J W, Schlegel P, Seal M C, et al. Bioavailability of zinc from zinc sulfate and different organic zinc sources and their effects on ruminal volatile fatty acid proportions. Livestock Production Science, 2004, 90(2): 211—217.
- [40] Hu W L. Study on the effect of saponin on rumen fermentation and methane production and animal performance. Hangzhou: Zhejiang University, 2005.
胡伟莲. 皂甙对瘤胃发酵与甲烷产量及动物生产性能影响的研究. 杭州: 浙江大学, 2005.
- [41] Mo F. Nutritional needs of ruminants and evaluation and application of feed nutrient value. Beijing: China Agricultural University Press, 2011.
莫放. 反刍动物营养需要及饲料营养价值评定与应用. 北京: 中国农业大学出版社, 2011.
- [42] Zhang S J, Chandhy A S, Osman A. Associative effects of ensiling mixtures of sweet sorghum and alfalfa on nutritive value, fermentation and methane characteristics. Animal Feed Science and Technology, 2015, 206: 29—38.
- [43] Li J G, An Y F. Standardized production technology of dairy cows. Beijing: China Agricultural University Press, 2003: 105.
李建国, 安永福. 奶牛标准化生产技术. 北京: 中国农业大学出版社, 2003: 105.
- [44] Shi H L, Wang L Q, Xi L Q, et al. Study on the rumen fermentation characteristics of the combination effect of alfalfa silage and corn silage by *in vitro* gas production. Xinjiang Agricultural Sciences, 2013, 50(7): 1353—1359.
史卉玲, 王连群, 席琳乔, 等. 利用体外产气法研究苜蓿青贮与玉米青贮组合效应的瘤胃发酵特征. 新疆农业科学, 2013, 50(7): 1353—1359.