



聂春桃,尚相龙,杨梓曼,等.不同水平葛根素对肉牛瘤胃体外发酵指标及养分降解率的影响[J].江西农业大学学报,2021,43(6):1381-1387.

NIE C T,SHANG X L,YANG Z M,et al.Effects of puerarian at different levels on rumen fermentation indices and nutrient degradability of beef cattle in vitro[J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2021,43(6):1381-1387.

不同水平葛根素对肉牛瘤胃体外发酵指标及养分降解率的影响

聂春桃,尚相龙,杨梓曼,陈 环,瞿明仁,游金明,宋小珍*

(江西农业大学 江西省动物营养重点实验室,江西 南昌 330045)

摘要:【目的】试验旨在研究不同水平的葛根素对肉牛瘤胃体外发酵特性及养分降解率的影响。【方法】采集4头瘤胃瘘管牛瘤胃液,采用体外培养法,分别在基础日粮中添加0、0.01%、0.02%、0.04%、0.08%和0.16%的葛根素,检测体外培养24 h后瘤胃发酵指标和养分降解率的变化。【结果】葛根素各添加水平组的瘤胃液pH跟对照组相比无显著变化($P>0.05$),菌体蛋白(MCP)浓度显著升高($P<0.05$),0.02%、0.04%、0.08%和0.16%处理组的氨氮($\text{NH}_3\text{-N}$)含量和乙酸/丙酸均显著降低($P<0.05$);各试验组的乙酸含量比对照组显著降低($P<0.05$),丁酸和总酸含量均无显著变化($P>0.05$);0.04%处理组的丙酸含量显著升高($P<0.05$),其他处理组的丙酸含量无显著变化($P>0.05$);此外,各试验组的干物质(DM)降解率均显著升高($P<0.05$),0.04%、0.16%处理组的中性洗涤纤维(NDF)降解率以及0.04%、0.08%、0.16%处理组的粗蛋白(CP)降解率显著高于对照组($P<0.05$)。【结论】添加葛根素后可促进瘤胃 MCP 的合成,提高瘤胃对饲料养分的降解率,调控瘤胃发酵模式。其中,以0.04%的剂量效果最好。

关键词:葛根素;肉牛;瘤胃;体外发酵;养分降解率

中图分类号:S823.9*2 文献标志码:A 文章编号:1000-2286(2021)06-1381-07

Effects of Puerarian at Different Levels on Rumen Fermentation Indices and Nutrient Degradability of Beef Cattle in Vitro

NIE Chuntao, SHANG Xianglong, YANG Ziman, CHEN Huan,
QU Mingren, YOU Jinming, SONG Xiaozhen*

(Jiangxi Province Key Laboratory of Animal Nutrition, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: [Objective] This experiment was conducted to investigate the effects of puerarin at different levels on rumen fermentation characteristics and nutrient degradability of beef cattle in vitro. [Method] Rumen fluid was collected from 4 rumen fistulas cattle, with in vitro culture method, puerarin was added to the basal diet

收稿日期:2021-06-20 修回日期:2021-08-20

基金项目:国家自然科学基金项目(32060768)、现代农业产业技术体系资助项目(CARS-37)和江西省教育厅科学技术重点项目(GJJ150376)

Project supported by the National Natural Science Foundation of China(32060768), Modern Agricultural Industrial Technology System(CARS-37) and Science and Technology Key Project of Education Department of Jiangxi Province(GJJ150376)

作者简介:聂春桃, orcid.org/0000-0002-1405-3184, 1007426758@qq.com; *通信作者:宋小珍,教授,博士, orcid.org/0000-0002-7194-063X, songxz1234@163.com。

at the levels of 0, 0.01%, 0.02%, 0.04%, 0.08% and 0.16%, respectively. The changes in rumen fermentation indexes and nutrient degradability were detected 24 hours after in vitro culture. [Results] There was no significant differences in rumen fluid pH between the puerarin group and the control group ($P>0.05$), the concentration of microbial protein (MCP) increased significantly ($P<0.05$), and the ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) concentration and acetic acid/propionic acid in the 0.02%, 0.04%, 0.08% and 0.16% groups decreased significantly ($P<0.05$); the acetic acid concentration in all the experimental groups were significantly lower than that in the control group ($P<0.05$), but the concentration of butyric acid and total acid did not change significantly ($P>0.05$); the propionic acid concentration in the 0.04% treatment group increased significantly ($P<0.05$), while the concentration of propionic acid in other treatment groups had no significant differences ($P>0.05$); in addition, the degradability of dry matter (DM) in all the experimental groups increased significantly ($P<0.05$), the degradability of neutral detergent fiber (NDF) in the 0.04% and 0.08% puerarin groups and that of crude protein (CP) in the 0.04%, 0.08% and 0.16% puerarin groups were significantly higher than that in the control group ($P<0.05$). [Conclusion] Puerarin can promote the synthesis of MCP, improve the rumen degradability of feed nutrients, and regulate rumen fermentation mode. The best dosage is 0.04%.

Keywords: puerarin; beef cattle; rumen; in vitro fermentation; nutrient degradability

【研究意义】瘤胃是反刍动物营养物质消化代谢的主要场所,瘤胃中包含原虫、细菌和真菌等微生物,这些微生物可降解饲料纤维,产生挥发性脂肪酸,并利用含氮物质合成微生物蛋白,为动物提供蛋白质和能量^[1]。因此,瘤胃微生物发酵对反刍动物营养意义重大,瘤胃发酵功能也成为研究反刍动物消化代谢的一大热点。在过去的几十年里,一些化学饲料添加剂如抗生素、离子载体等被应用于反刍动物饲养,以调节瘤胃发酵,促进动物生长。但抗生素的滥用导致细菌出现耐药性,且其药物残留及毒副作用对畜禽和人类的健康造成了很大的负面影响。自2020年1月1日起,我国农业农村部已发布公告,明确禁止在饲料中添加抗生素。因此,近年来,寻找替代抗生素的天然饲料添加剂,在动物生产及改善瘤胃微生物发酵方面具有重大意义。【前人研究进展】植物提取物是采用适当的溶剂或方法,以植物为原料提取或加工而成的含有一种或多种有效成分的混合物^[2]。研究表明,植物提取物具有高效、天然、无毒副作用的特性,且含有多种具有抗菌活性的次级化合物,如皂苷、生物碱、黄酮类化合物等^[3],这些次生代谢产物可调控并改善反刍动物的瘤胃发酵模式,提高饲料消化率及饲料中蛋白质的利用率,改善动物健康,从而成为化学饲料添加剂的天然替代品^[4]。其中,黄酮类化合物是普遍存在于豆科植物中的多酚类次生代谢化合物,具有抗氧化、抗菌、预防瘤胃酸中毒等作用,可以促进动物的生产性能和机体健康。研究表明,黄酮类化合物能对反刍动物瘤胃微生物的主要消化酶活性产生影响,进而对瘤胃消化代谢发挥调控作用^[5]。还有研究表明,异黄酮类化合物可以升高反刍动物的血液睾酮水平,改善瘤胃的微生物代谢,从而来促进反刍动物的生长^[6]。

【本研究的切入点】葛根素(Puerarin, Pue)是葛根的主要活性成分,属异黄酮物质,由豆科植物葛及野葛的根中提取而得。现代药理研究表明,葛根素具有提高免疫力、改善微循环及心脏保护等作用。龚志刚等^[7]研究报道,在糖尿病大鼠体内补充葛根素能够改善其抗氧化能力,清除自由基,降低糖尿病大鼠血糖。李奕萱等^[8]也有研究表明葛根素注射液可以降低模型小鼠的高血糖和高血脂。尚含乐等^[9]研究表明葛根素可以提高肉牛在高温环境下中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维的表观消化率,促进肉牛脂肪的代谢。【拟解决的关键问题】目前国内外关于葛根素对反刍动物瘤胃发酵功能的影响的报道很少,所以本试验以4头瘤胃瘘管牛为研究对象,采用体外培养法,探究不同水平葛根素对肉牛瘤胃体外发酵特性及养分降解率的影响,旨在筛选葛根素的适宜添加浓度,为开发葛根素作为饲料添加剂在肉牛生产上的应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验动物、饲料及饲养管理

选用4头健康的安装有瘤胃瘘管的锦江黄牛(体质量大约250 kg),作为试验中瘤胃液的供体。肉牛

单栏饲养,每天饲喂 2 次(08:00, 18:00),自由饮水。基础饲粮精粗比为 5:5。饲粮组成及营养水平见表 1。

表 1 基础饲粮组成及营养水平(风干基础)

Tab.1 Composition and nutrient levels of basal diets(air-dry basis)

原料 Ingredients	含量/% Content	营养水平 Nutrient levels	含量/% Content
稻草 Rice straw	50.00	干物质 DM	89.12
玉米 Corn	19.75	综合净能(MJ/kg)	4.28
小麦麸 Wheat bran	26.60	粗蛋白质 CP	9.95
豆粕 Soybean meal	2.40	中性洗涤纤维 NDF	51.77
小苏打 NaHCO ₃	0.17	酸性洗涤纤维 ANF	26.79
食盐 NaCl	0.08	粗灰分 Ash	4.78
4% 预混料 Premix	1.00	钙 Ca	0.28
合计	100	磷 P	0.27

每千克预混料含:VD₃ 1 000 000 IU,VA 30 000 000 IU,VE 80 000 IU,VB₁ 10 000 mg,VB₂ 25 000 mg,VK₃ 10 000 mg,Mn 64 mg,Fe 170 mg,Zn 88 mg,Cu 40 mg,Co 20 mg,I 30 mg;综合净能、钙、磷为计算值,其余为实测值。

One kilogram of premix contained the following:VD₃ 1 000 000 IU,VA 30 000 000 IU,VE 80 000 IU,VB₁ 10 000 mg,VB₂ 25 000 mg,VK₃ 10 000 mg,Mn 64 mg,Fe 170 mg,Zn 88 mg,Cu 40 mg,Co 20 mg,I 30 mg;Nemf、Ca、P was a calculated value and others were measured values.

1.2 试验材料

葛根素采购于西安某生物公司,其中葛根素含量经过 HPLC 检测为 98%。

1.3 样品的采集与制备

于晨饲前 1 h,每头牛取等量瘤胃内容物样品,混合后用 4 层纱布快速过滤至预热处理后的保温瓶,用缓冲液(2:1,V/V)稀释,该缓冲溶液按 Menke 和 Steingass^[10]的描述制备。稀释后迅速分装至提前预热好的发酵瓶中(发酵瓶中装有粉碎过 40 目的基础饲粮 0.4 g 及对应比例的葛根素),每个发酵瓶中加 40 mL 混合液,将其置于(39±0.50)℃的水浴摇床中进行体外发酵培养,培养 24 h。

根据基础日粮中葛根素添加量的不同,将试验分为 6 组,葛根素的添加水平分别为 0(对照)、0.01%、0.02%、0.04%、0.08%、0.16%,每组设 8 个重复。

1.4 测量指标与方法

从培养开始,每隔 2 h 记录 1 次产气量,累计 24 h 的产气量之和即为总的产气量。培养 24 h 后采集样品,立即用 S-320 型酸度计测定体外瘤胃液的 pH。然后将培养液用 400 目尼龙袋过滤(尼龙网的质量已知),用蒸馏水将培养瓶内的残余物冲入尼龙袋上,封好口后将尼龙袋放入 65℃烘箱中烘 8 h,干燥器中冷却 30 min 后称质量。氨氮浓度用比色法测定。VFA 采用气相色谱仪器测定。瘤胃微生物蛋白(MCP)用考马斯亮蓝比色法进行测定。饲粮及瘤胃液残渣中粗蛋白质(CP)、干物质(DM)、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)等指标,其测定方法参照张丽英主编的《饲料分析及饲料质量检测技术》进行。

瘤胃养分降解率=[(降解前日粮某养分含量-降解 24 h 后某养分含量)/降解前日粮某养分含量]×100%

1.5 数据分析

采用 Excel 2004 对所有试验数据进行初步整理,用 SPSS 23 中的单因素方差分析(one-way ANOVA)进行差异显著性分析。 $P<0.05$ 表示差异显著, $P>0.05$ 表示差异不显著。

2 结果分析

2.1 葛根素对肉牛瘤胃体外养分降解率的影响

由表 2 可知:与对照组相比,试验组的 DM 降解率分别显著升高了 17.65%、26.47%、29.41%、23.53%、23.53%($P<0.05$)。各处理组的 ADF 降解率都无显著变化($P>0.05$)。0.04% 葛根素组和 0.16% 葛根素组的 NDF 降解率分别显著升高了 30.77%、53.85%($P<0.05$),其他组无显著变化($P>0.05$)。0.04%、0.08% 和 0.16% 处理组的粗蛋白降解率分别显著升高了 10.64%、8.51%、8.51%($P<0.05$),0.01%、0.02% 处理组的粗蛋白降解率变化不明显($P>0.05$)。

表 2 葛根素对肉牛瘤胃体外养分降解率的影响

Tab.2 The effect of puerarin on on rumen nutrient degradability in vitro of beef cattle

项目 Items	处理 Treatments						SEM	P 值 P-value
	0	0.01%	0.02%	0.04%	0.08%	0.16%		
DM 降解率 DM degradation rate	0.34 ^c	0.40 ^b	0.43 ^{ab}	0.44 ^a	0.42 ^{ab}	0.42 ^{ab}	0.01	<0.001
ADF 降解率 DM degradation rate	0.53	0.50	0.52	0.52	0.54	0.52	0.01	0.419
NDF 降解率 NDF degradation rate	0.13 ^c	0.13 ^c	0.13 ^c	0.17 ^b	0.15 ^{bc}	0.20 ^a	0.01	<0.001
CP 降解率 CPdegradation rate	0.47 ^c	0.48 ^{bc}	0.49 ^{abc}	0.52 ^a	0.51 ^{ab}	0.51 ^{ab}	0.01	0.02

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Values in the same row with different small letter superscripts mean significant difference($P<0.05$).

2.2 葛根素对肉牛瘤胃发酵指标的影响

由表 3 可知,总产气量和 pH:试验组的总产气量和 pH 跟对照组相比均无显著变化($P>0.05$),并且 pH 都维持在正常范围内(6~7)。菌体蛋白:添加葛根素后,试验组的菌体蛋白含量分别显著升高了 8.64%、11.73%、9.26%、8.64%、8.02%($P<0.05$)。氨态氮:0.02%、0.04%、0.08% 和 0.16% 处理组的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量显著下降,分别比对照组降低 14.20%、14.02%、9.73%、8.50%($P<0.05$)。VFA:跟对照组相比,乙酸含量分别显著降低 1.98%、2.43%、2.53%、2.43%、2.19%($P<0.05$)。0.04% 处理组的丙酸显著升高 6.08% ($P<0.05$),其他处理组无显著变化($P>0.05$)。所有处理组的丁酸无显著变化($P>0.05$)。0.02%、0.04%、0.08% 和 0.16% 处理组的乙酸/丙酸值分别显著下降 5.59%、7.94%、6.76%、5.59%($P<0.05$)。总挥发性脂肪酸的含量无显著变化($P>0.05$)。

表 3 葛根素对肉牛瘤胃体外发酵指标的影响

Tab.3 Effects of puerarin on rumen fermentation indexes in vitro of beef cattle

项目	处理 Treatments						SEM	P 值 P-value
	0	0.01%	0.02%	0.04%	0.08%	0.16%		
总产气量/mL Total gas production	65.33	65.53	66.70	65.35	65.27	65.68	0.21	0.364
pH	6.94	6.92	6.84	6.88	6.81	6.83	0.02	0.624
菌体蛋白/($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) MCP	1.62 ^b	1.76 ^a	1.81 ^a	1.77 ^a	1.76 ^a	1.75 ^a	0.02	0.008
氨态氮/($\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$) $\text{NH}_3\text{-N}$	11.41 ^a	10.83 ^{ab}	9.79 ^c	9.81 ^c	10.30 ^{bc}	10.44 ^{bc}	0.13	<0.01
乙酸/($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) Cetic acid	41.95 ^a	41.12 ^b	40.93 ^c	40.89 ^c	40.93 ^c	41.03 ^{bc}	0.08	<0.01
丙酸/($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) Propionic acid	12.34 ^b	12.41 ^{ab}	12.77 ^{ab}	13.09 ^a	12.94 ^{ab}	12.78 ^{ab}	0.08	0.023
丁酸/($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) Butyric acid	5.37	5.10	5.14	5.20	5.25	5.07	0.05	0.596
乙酸/丙酸 Acetic acid/propionic acid	3.40 ^a	3.32 ^{ab}	3.21 ^{bc}	3.13 ^c	3.17 ^{bc}	3.21 ^{bc}	0.02	0.001
总挥发性脂肪酸/($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) TVFA	61.52	60.94	61.15	61.66	61.62	61.23	0.11	0.373

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Values in the same row with different small letter superscripts mean significant difference($P<0.05$).

3 讨论与结论

3.1 葛根素对肉牛营养物质瘤胃降解率的影响

瘤胃养分降解率代表着该饲料中营养物质在瘤胃中被微生物转化和利用的能力。一般情况下,降解率越高,动物对饲料的利用越好^[11]。本结果显示,添加一定水平的葛根素可提高饲料干物质、粗蛋白、ADF的降解率,分析可能与葛根素的类雌激素作用有关。葛根素属异黄酮类化合物,化学名称为4,7-二羟基-8-β-D-葡萄糖基异黄酮,由于它们与17β-雌二醇相似,这些多酚类化合物属于植物雌激素组,具有类雌激素的作用^[12]。先前的研究表明,异黄酮植物雌激素能够提高动物的机体免疫力和繁殖性能、促进动物生长,提高其饲料转化率,影响瘤胃的代谢^[13-14]。任皓威等^[15]也有研究表明,饲料中的黄酮类化合物对反刍动物瘤胃微生物主要消化酶的活性有直接影响作用,可以促进瘤胃的消化代谢,对瘤胃发酵产生调控作用。牟晓玲等^[16]研究大豆黄酮对瘤胃体外发酵参数的影响,研究表明30 mg/kg和50 mg/kg大豆黄酮能显著提高DM降解率和粗蛋白降解率。这些都与本研究结果一致。

3.2 葛根素对肉牛瘤胃发酵参数的影响

发酵产气量与瘤胃中的饲料养分水平及成分有关,反刍动物瘤胃微生物的活性越高,饲料中可发酵养分含量越多,则发酵总产气量越高^[17]。所以瘤胃微生物的活性和饲料可发酵的程度也可以通过总产气量来反映。白齐昌等^[18]研究沙棘黄酮对绵羊体外产气量的影响时发现,沙棘黄酮添加水平越高,绵羊体外产气量越多。在本试验发现,添加葛根素后,瘤胃总产气量无显著变化,其原因可能是不同类型的黄酮类化合物对反刍动物瘤胃微生物的作用效果不同。刘春龙等^[19]研究发现,高水平的大豆黄酮在一定程度上降低了瘤胃产气量,但低水平的大豆黄酮有增加产气量的趋势,并分析黄酮类化合物可能对瘤胃氮代谢的影响有剂量依赖性,高水平黄酮类化合物抑制消化酶的活性,低水平的黄酮类化合物能促进瘤胃微生物的代谢。

瘤胃的pH值对饲料在瘤胃中的消化吸收有很重要的影响,它是评价瘤胃发酵的重要指标,一般情况下,瘤胃中适宜微生物生长繁殖的pH值为6~7。瘤胃内pH的稳态不仅影响着动物的机体健康,还决定了反刍动物瘤胃最终产品的营养价值和瘤胃生态系统的生物多样性。过酸过碱的环境都有可能对反刍动物机体健康失调。本试验添加葛根素后,pH没有显著变化,pH在6.81~6.94变动,说明添加一定水平内的葛根素不会对瘤胃内环境的稳定产生负面影响。

瘤胃中的MCP和NH₃-N浓度反映了反刍动物对饲料中的氮源的分解利用情况。反刍动物机体所需蛋白质的主要来源是微生物蛋白。有研究表明,反刍动物60%~70%的蛋白质由瘤胃微生物蛋白提供^[20]。任皓威^[19]在研究大豆黄酮对小尾寒羊增重瘤胃代谢的影响时指出,大豆黄酮可提高小尾寒羊瘤胃MCP含量。陈杰等^[21]报道,在雄性湖羊皮下连续7 d注射大豆黄酮后,瘤胃微生物含量极显著升高。本研究中,各个添加水平的葛根素均显著增高了瘤胃菌体蛋白的含量,这与上述研究结果一致。分析可能是因为葛根素影响了瘤胃微生物的含量和活性,从而促使它们合成更多的MCP。瘤胃液中氨态氮既是瘤胃微生物合成MCP的主要氮源,也是内源性蛋白质、日粮蛋白质和非蛋白氮分解的终产物^[22]。反刍动物瘤胃MCP的合成效率跟瘤胃中NH₃-N的水平息息相关。有研究表明,NH₃-N影响着瘤胃微生物的正常生长,其最适浓度为6.3~27.5 mg/dL^[23]。本试验中瘤胃液NH₃-N浓度跟对照组相比均显著降低,这与MCP的变化趋势是相反的,也进一步提示了添加葛根素可能促进了瘤胃微生物对NH₃-N的利用。刘春龙等^[24]通过体内试验也发现,奶牛饲喂染料木黄酮4 h后,瘤胃氨态氮浓度显著降低。

挥发性脂肪酸是瘤胃微生物发酵的最终产物,代表了反刍动物代谢能量的主要来源,VFA可提供反刍动物总能量需要的70%~80%,其产量和组成是评价瘤胃发酵方式和能力的直接指标^[25]。因此,VFA的减少不利于动物的营养需要。Mao等^[26]报道,饲料中添加10 mg/L大豆黄酮时,丙酸含量显著升高,乙酸/丙酸下降,而总挥发性脂肪酸没有显著变化,并提出大豆黄酮可通过调控瘤胃微生物菌群增加丙酸的产量。刘艳丰等^[27]研究发现,跟对照组相比,添加沙棘叶黄酮可使绵羊瘤胃VFA、丙酸、丁酸显著升高。陆燕等^[28]研究表明,在体外培养试验中添加植物提取物能够改变瘤胃的发酵模式,表现为丙酸和丁酸浓度的显著升高和乙酸浓度的显著降低。本试验结果表明,日粮中添加葛根素后总VFA没有显著变化,但乙酸含量显著降低,丙酸含量升高,乙酸/丙酸显著下降,这表明葛根素可以调控体外瘤胃发酵模式。

本试验结果表明,添加0.02%、0.04%的葛根素提高了瘤胃微生物蛋白的含量,并能对瘤胃发酵模式产生影响。添加0.04%的葛根素提高了干物质、NDF和粗蛋白的降解率。综合考虑,在本试验条件下,葛根素的最适添加量为0.04%。

参考文献:

- [1] 曹涵文,陈晓英,信金伟,等.不同水平过瘤胃氨基酸对泌乳牦牛生产性能及乳成分的影响[J].江西农业大学学报, 2021,43(3):640-648.
CAO H W, CHEN X Y, XIN J W, et al. Effects of different levels of rumen-protected amino acids on production performance and milk composition of lactating yaks[J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2021, 43(3): 640-648.
- [2] 张华,童津津,孙铭维,等.植物提取物对反刍动物瘤胃发酵、生产性能及甲烷产量的调控作用及其机制[J].动物营养学报, 2018, 30(6): 2027-2035.
ZHANG H, TONG J J, SUN M W, et al. Regulation of plant extracts on rumen fermentation, performance and methane production in ruminants and its mechanisms[J]. Chinese journal of animal nutrition, 2018, 30(6): 2027-2035.
- [3] BENCHAAR C, GREATHEAD H. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants[J]. Animal feed science & technology, 2011, 166-167(3): 338-355.
- [4] BENCHAAR C, PETIT H V, BERTHIAUME R, et al. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage[J]. Journal of dairy science, 2007, 90: 886-897.
- [5] 韩正康.异黄酮植物雌激素调控动物神经内分泌及生产性能的研究[J].中国农业科技导报, 1999(1): 61-66.
HAN Z K. Studies on the isoflavonic phytoestrogens controlling animal endocrine function and performance[J]. Journal of agricultural science and technology, 1999(1): 61-66.
- [6] 朱泽远,周维仁,乐国伟.异黄酮植物雌激素对动物生长的影响及其作用机制[J].兽药与饲料添加剂, 2003, 8(5): 25-27.
ZHU Z Y, ZHOU W R, YUE G W. Effect of isoflavone phytoestrogen on animal growth and its mechanism [J]. Veterinary pharmaceuticals & feed additives, 2003, 8(5): 25-27.
- [7] 龚志刚,胡红霞,朱笃,等.葛根素对糖尿病大鼠血糖和抗氧化能力的影响[J].食品科学, 2006(11): 498-501.
GONG Z G, HU H X, ZHU D, et al. Effects of puerarin on blood glucose and serum antioxidant capacity in diabetic rats[J]. Food science, 2006(11): 498-501.
- [8] 李奕萱,王岩飞,李姝玉,等.黄芪注射液与葛根素注射液联用对2型糖尿病小鼠心脏损害的干预作用[J].世界中医药, 2018, 13(4): 940-943.
LI Y X, WANG Y F, LI S Y, et al. Effects of astragalus injection conjunction with puerarin injection on cardiac injury in mice with type 2 diabetes mellitus[J]. World Chinese medicine, 2018, 13(4): 940-943.
- [9] 尚含乐,宋小珍,刘博,等.葛根素对夏季高温条件下肉牛生产性能及血液生化指标的影响[J].江西农业大学学报, 2018, 40(4): 803-809.
SHANG H L, SONG X Z, LIU B, et al. Effects of puerarin on production performance and blood biochemical indexes of beef cattle under hot environment[J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2018, 40(4): 803-809.
- [10] MENKE K H. Estimation of the energetic feed value obtained by chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid[J]. Animal research and development, 1988, 28: 7-55.
- [11] 闵力,瞿明仁,戈婷婷,等.不同组合功能性寡糖对稻草在锦江黄牛瘤胃降解率的影响[J].江西农业大学学报, 2012, 34(3): 550-555.
MIN L, QU M R, GE T T, et al. Effects of different combinations of functional oligosaccharides on rumen degradability of rice straw in Jinjiang yellow cattle [J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2012, 34(3): 550-555.
- [12] 高靖,高腾云,王荷香,等.葛根提取物对奶牛生产性能和血液生化指标的影响[J].中国畜牧兽医, 2012, 39(7): 216-218.
GAO J, GAO T Y, WANG H X, et al. Effects extracts of of puerariae radix on productive performance and blood biochemical parameters of dairy cow[J]. China animal husbandry & veterinary medicine, 2012, 39(7): 216-218.
- [13] GREINER L L, STAHLY, et al. The effect of dietary soy daidzein on pig growth and viral replication during a viral challenge.

- [J].Journal of animal science,2001,79(12):3113.
- [14] YAO W,ZHU W Y,HAN,Z K,et al.Analysis of rumen bacterial diversity of goat by denaturing gradient gel electrophoresis and 16S rDNA sequencing[J].Scientia agricultura Sinica,2004,37(9):1374-1378.
- [15] 任皓威.不同剂量大豆黄酮对小尾寒羊瘤胃代谢及免疫的影响[D].哈尔滨:东北农业大学,2006.
- REN H W.The influence of different dosage of daidzein on rumen metabolize and immunity of little tail han sheep[D].Harbin:Northeast Agricultural University,2006.
- [16] 牟晓玲,刘大森.大豆黄酮对体外模拟瘤胃发酵参数的影响[J].饲料与畜牧,2008(2):31-33.
- MOU X L,LIU D S.The effect of daidzein on in vitro simulated rumen fermentation parameters[J].Feed and animal husbandry,2008(2):31-33.
- [17] QIAO,F Q,WANG F,REN L P,et al.Effect of steam-flaking on chemical compositions, starch gelatinization, in vitro fermentability, and energetic values of maize, wheat and rice[J].Journal of integrative agriculture,2015,14(5):949-955.
- [18] 白齐昌,郝小燕,项斌伟,等.沙棘黄酮对绵羊体外产气量、瘤胃发酵参数和微生物菌群的影响[J].动物营养学报,2020,32(3):1405-1414.
- BAI Q C,HAO X Y, XIANG B W, et al.Effects of sea buckthorn flavone on gas production, rumen fermentation parameters and microflora population of sheep in vitro[J].Chinese journal of animal nutrition,2020,32(3):1405-1414.
- [19] 刘春龙,李忠秋,张帆,等.短期人工瘤胃发酵法研究不同水平大豆黄酮和染料木素对奶牛瘤胃液的影响[J].动物营养学报,2008,20(3):349-354.
- LIU C L,LI Z Q,ZHANG F,et al.Effects of different levels of daidzein and genistein on rumen liquor of dairy cows by using short-term artificial rumen fermentation[J].Chinese journal of animal nutrition,2008,20(3):349-354.
- [20] 冯仰廉,陆治年.奶牛营养需要和饲料成分[M].3版.北京:中国农业出版社,2007.
- FENG Y L,LU Z N.Nutritional requirements and feed ingredients of dairy cows [M].3rd edition.Beijing:China Agriculture Presss,2007.
- [21] 陈杰,杨国宇,韩正康.大豆黄酮对反刍动物血清睾酮和瘤胃消化代谢的影响[J].扬州大学学报(农业与生命科学版),1999,20(2):17-19.
- CHEN J,YANG G Y,HAN Z K.Effect of daidzein on serum testosterone and rumen digestion,metabolism in ruminates[J].Journal of Yangzhou university(agriculture and life sciences edition),1999,20(2):17-19.
- [22] 邓凯平,王锋,马铁伟,等.日粮中添加不同水平紫苏籽对湖羊生长性能、瘤胃发酵及养分表观消化率的影响[J].草业学报,2017,26(5):205-212.
- DENG K P,WANG F,MA T W,et al.Effect of dietary Perilla frutescens seed intake on rumen fermentation characteristics, apparent nutrient digestibility, and growth performance of Hu sheep[J].Acta prataculturae Sinica,2017,26(5):205-212.
- [23] HRISTOV A N,MCALLISTER T A.Effect of inoculants on whole-crop barley silage fermentation and dry matter disappearance in situ.Journal of animal science,2002,80(2):510-516.
- [24] 刘春龙,姜文博,付强,等.大豆黄酮和染料木素对奶牛瘤胃发酵的影响[J].中国畜牧杂志,2011,47(1):60-63.
- LIU C L,JIANG W B,FU Q,et al.Effects of Daidzein and genistein on rumen fermentation of dairy cows[J].Chinese journal of animal science,2011,47(1):60-63.
- [25] MCINTOSH F M,WILLIAMS P,LOSA R,et al.Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism[J].Applied and environmental microbiology,2003,69(8):5011-5014.
- [26] MAO S Y,ZHU W Y,WANG Q J,et al.Effect of daidzein on in vitro fermentation by microorganisms from the goat rumen [J].Animal feed science & technology,2007,136(1/2):154-163.
- [27] 刘艳丰,王晶,王文奇,等.沙棘叶黄酮对绵羊瘤胃代谢和血清指标的影响[J].中国畜牧杂志,2016,52(7):66-70.
- LIU Y F,WANG J,WANG W Q,et al.The effect of seabuckthorn leaf flavonoids on rumen metabolism and serum indexes of sheep[J].Chinese journal of animal science,2016,52(7):66-70.
- [28] 陆燕,林波,王恬,等.大蒜油对体外瘤胃发酵、甲烷生成和微生物区系的影响[J].动物营养学报2010,22(2):386-392.
- LU Y,LIN B,WANG T,et al.Effects of garlic oils addition on rumen fermentation, methanogenesis and microbiota in vitro [J].Chinese journal of animal nutrition,2010,22(2):386-392.