

异戊酸对西门塔尔牛瘤胃发酵及尿嘌呤衍生物的影响

刘 强, 黄应祥, 王 聪*, 王 浩, 郭 刚

(山西农业大学动物科技学院, 太谷 030801)

摘 要: 选用 4 头体重(420±8.6)kg, 年龄 2.5 岁装有永久性瘤胃瘘管的西门塔尔牛阉牛, 采用 4×4 拉丁方设计, 以混合精料和玉米秸秆为基础日粮, 研究异戊酸(0、0.02、0.04 和 0.06 g/kgW)对瘤胃 pH、NH₃-N、VFA、营养物质降解率及尿嘌呤衍生物浓度的影响。结果表明: 0.06 g/kgW 组显著降低瘤胃 pH($P<0.05$), 饲喂后 3-6 h, 0.04 g/kgW 组和 0.06 g/kgW 组 NH₃-N 浓度显著低于对照和 0.02 g/kgW 组($P<0.05$); 0.04 g/kgW 组和 0.06 g/kgW 组, 豆粕干物质、有机物质和粗蛋白质有效降解率显著低于对照($P<0.05$); 0.04 g/kgW 组玉米秸秆干物质、有机物质、中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维的有效降解率显著提高($P<0.05$), 0.04 g/kgW 组瘤胃乙酸、丁酸、乙酸/丙酸比例、总挥发性脂肪酸和尿嘌呤衍生物显著增加($P<0.05$)。异戊酸的适宜添加水平为 0.04 g/kgW。

关键词: 西门塔尔牛; 异戊酸; 瘤胃发酵; 尿嘌呤衍生物

中图分类号: S823.5

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2007)02-0155-06

Effects of Isovalerate on Rumen Fermentation and Purine Derivatives of Urine in Simmental Steer

LIU Qiang, HUANG Ying-xiang, WANG Cong*, WANG Hao, GUO Gang
(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: Four Simmental steers(average body weight(420±8.6)kg, aged 2.5) with permanent rumen cannula and consuming a corn straw diet were used in a 4×4 Latin square design and supplemented with four levels(0, 0.02, 0.04 and 0.06 g/kgW) of supplemental isovalerate to evaluate the effects of isovalerate on ruminal pH, NH₃-N, VFA, nutrients effective degradability and purine derivatives of urine. The results showed that ruminal pH in the steers given supplemental isovalerate 0.06 g/kgW decreased ($P<0.05$). The NH₃-N concentrations in the rumen of the animals in 0.04 g/kgW and 0.06 g/kgW group were lower than control and in 0.02 g/kgW group significantly ($P<0.05$). DM, OM and CP effective degradability of soybean meal in the rumen of the animals given isovalerate supplementation with 0.04 g/kgW and 0.06 g/kgW were lower than control. The effective degradability of DM, OM, NDF and ADF of corn straw in the rumen of the animals given isovalerate supplementation with 0.04 g/kgW were increased significantly ($P<0.05$). Ruminal acetate, butyrate, acetate/propionate, TVFA, and purine derivatives in urine of the animals given isovalerate supplementation with 0.04 g/kgW were increased significantly ($P<0.05$). These results indicated that the optimum dose of isovalerate supplementation

收稿日期: 2006-02-14

基金项目: 国家科技成果转化项目(02EFN211401036); 山西农业大学青年基金项目(2005002)资助

作者简介: 刘 强(1971-), 男, 山西浮山人, 副教授, 博士, 主要从事反刍动物营养与饲料科学研究, Tel: 0354-6289115; E-mail: liuqiangan@163.com

* 通讯作者: 王 聪(1973-), 女, 副教授, 博士, 主要从事反刍动物营养与饲料科学研究, E-mail: wangdx0312@163.com

was 0.04 g/kgW.

Key words: Simmental steer; isovalerate; rumen fermentation; purine derivative

异丁酸(Isobutyrate)、异戊酸(Isovalerate)和2-甲基丁酸(2-methylbutyrate)是含4个或5个碳原子的直链挥发性脂肪酸的异构体,称为支链脂肪酸(Branched-chain fatty acid),也称异构酸或异位酸(Isoacid)。瘤胃中异位酸主要来源于蛋白质降解后氨基酸(缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸)经氧化脱氨基或脱羧基后的产物。支链脂肪酸是瘤胃内纤维分解菌的生长因子,可提高纤维分解菌的数量,促进纤维的消化^[1]。在草原或牧场放牧的牛,随着牧草的成熟,瘤胃支链脂肪酸浓度下降^[2~4]。研究表明当牛采食劣质牧草时,瘤胃支链脂肪酸含量在检测限以下^[5~6],说明在劣质牧草日粮中添加异位酸是有益的。目前的研究集中在支链脂肪酸的混合物^[7~11],缺乏对单一支链脂肪酸的研究。本试验以劣质粗饲料玉米秸秆为日粮,研究异戊酸对西门塔尔牛瘤胃pH、NH₃-N、VFA、营养物质有效降解率和尿嘌呤衍生物的影响,探讨反刍家畜日粮中异戊酸的适宜添加量,为我国大多数地区目前仍

以玉米秸秆为主饲养牛羊的实际生产和反刍动物瘤胃调控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物和试验设计

选用4头装有永久性瘤胃瘘管,年龄2.5岁,体况良好,体重(420±8.6)kg的中国西门塔尔牛阉牛。采用4×4拉丁方设计,对照组:基础日粮;处理1:基础日粮+异戊酸0.02 g/kgW;处理2:基础日粮+异戊酸0.04 g/kgW;处理3:基础日粮+异戊酸0.06 g/kgW。试验分4阶段,每阶段预试期10d,正试期10d。

1.2 试验日粮及饲养管理

饲料的精粗比为33.5:66.5,以玉米秸秆为粗料,基础日粮组成和营养成分见表1。试验牛单槽饲养,每日07:00和19:00饲喂,自由饮水。本试验所用异戊酸为分析纯化学试剂,将其稀释后均匀混入精料中饲喂。

表1 试验基础日粮组成和营养水平
Table 1 Composition and nutrient levels of basal diet

日粮组成 Ingredient		营养水平 Nutrient levels	%DM
玉米秸秆 Corn straw	66.5	综合净能 NE _{mi} /(MJ/kg)	6.30
混合精料 Mixed concentrate	33.5	粗蛋白质 CP	10.11
混合精料组成 Composition of mixed concentrate		中性洗涤纤维 NDF	56.51
玉米 Corn	52.0	酸性洗涤纤维 ADF	35.59
麸皮 Wheat bran	10.0	钙 Ca	1.12
豆粕 Soybean meal	16.5	磷 P	0.74
棉粕 Cottonseed cake	12.0		
菜粕 Rapeseed meal	5.0		
石粉 Limestone	1.5		
食盐 Salt	1.0		
预混料 Premix*	2.0		

* 每千克日粮含:维生素A 3 000 IU;维生素D₃ 1 200 IU;维生素E 15 IU;铁 30 mg;铜 8 mg;锌 30 mg;锰 40 mg;碘 0.25 mg;硒 0.3 mg;钴 0.1 mg

* Provided per kilogram of diet: VA 3 000 IU;VD₃ 1 200 IU;VE 15 IU;Fe 30 mg;Cu 8 mg;Zn 30 mg;Mn 40 mg;I 0.25 mg;Se 0.3 mg;Co 0.1 mg

1.3 样品采集与分析测定

1.3.1 瘤胃液的采集与分析测定 每期的第8、9、10天,分别在饲喂前(07:00)及采食后3、6、9h采集瘤胃液200 mL,用4层纱布过滤,立即用Startorius Basic Ph Meter PB-20型酸度计测定pH值,然后在-40℃冷冻保存;氨态氮(NH₃-N)采用氧化

镁直接蒸馏法测定^[12];挥发性脂肪酸(VFA)采用GC102AF气相色谱仪测定。

1.3.2 瘤胃降解率测定 用瘤胃尼龙袋法分别测定玉米秸DM、OM、NDF、ADF和豆粕DM、OM、CP的瘤胃降解率^[13]。准确称取3.0~4.0g样品装入尼龙袋,于晨饲前2h投入瘤胃腹囊50cm处,

分别于 4、8、12、24、36、48、72 h 取出 2 个袋(豆粕 48 h 结束),立即用水冲洗至水液完全澄清为止,在 65 ℃ 烘至恒重,测定降解前后样品 DM、OM、NDF、ADF 和 CP 含量^[12],计算瘤胃降解率。

1.3.3 瘤胃流通速度的测定 取重铬酸钠 172 g 于温水中,倒入 1 000 g 玉米秸或豆粕中,不断搅拌至棕黄色粥状,将该饲料转移到带盖搪瓷盘中,盖上盖,置于 100 ℃ 烘箱中烘 24 h 取出,取出后放入底部有一细筛网(200 目)的桶中,冲洗至水清。将饲料悬于清水中,用 VC 将其 pH 调至 4.0,搅拌后静置 12 h,若 pH 达到 4.0,最后放在 65 ℃ 烘箱中 24 h 制备成铬标记饲料。铬标记饲料在晨饲时与粗料一起饲喂,每头牛 300 g,在饲喂后 4、8、12、16、20、24、28、32、36、40、44、48、54、60、72、84、96、108、120 h 直肠取粪,粪样 65 ℃ 下烘干,粉碎通过 1 mm 筛,用比色法测其中铬的含量^[13]。

1.3.4 尿样采集与尿中嘌呤衍生物测定 于试验最后 5 d 收集并记录每天的尿量,按总尿量的 1% 采集尿样,收集到装有 10% H₂SO₄ 的 800 mL 磨口玻璃瓶中,使尿的 pH 小于 3,混匀 5 d 采集的尿样,移取 20 mL 并稀释至 100 mL 制成次级尿样,装入塑料瓶内-40 ℃ 贮存,采用比色法测定尿中嘌呤衍生物含量^[14]。

1.4 数据处理及统计分析

应用 $A(\%) = (B - C) / B \times 100$ 公式计算待测饲料在瘤胃中不同时间 DM、OM、NDF、ADF 和 CP

消失率。其中 A 为待测饲料的养分瘤胃消失率(%),B 为待测饲料降解前养分含量(g),C 为待测饲料降解后养分含量(g)。应用 Ørskov 和 McDonald 提出的数学指数模型 $dp = a - b(1 - e^{-ct})$ 来确定降解常数(a,b 和 c),待测饲料养分的有效降解率(Effective degradability)由公式: $P = a + [bc / (c + k)]$ 计算得出^[15]。公式中的常数 k 为待测饲料的瘤胃流通速度,玉米秸数值实测为 0.025/h,豆粕为 0.057 9/h。

瘤胃液 pH、NH₃-N、VFA、营养物质有效降解率和尿嘌呤衍生物等数据应用 SPSS10.0 统计软件的 One-way-ANOVA 进行方差分析和 LSD 多重比较,结果以平均数±标准误表示。

2 结果与分析

2.1 异戊酸对瘤胃液 pH、挥发性脂肪酸(VFA)和氨态氮(NH₃-N)的影响

2.1.1 对瘤胃液 pH 和氨态氮(NH₃-N)的影响

由表 2 可见,异戊酸对瘤胃 pH 有显著影响($P < 0.05$),0.06 g/kgW 组 pH 显著降低($P < 0.05$),其它处理之间差异不显著($P > 0.05$)。日粮添加异戊酸后瘤胃 NH₃-N 浓度变化显著($P < 0.05$),饲喂后 3-6 h,0.04 g/kgW 组和 0.06 g/kgW 组 NH₃-N 浓度显著低于对照组和 0.02 g/kgW 组($P < 0.05$)。

表 2 异戊酸对西门塔尔牛瘤胃 pH 和氨态氮的影响

Table 2 Effects of isovalerate on ruminal pH and NH₃-N concentration in Simmental steer

	异戊酸添加量 Supplemental isovalerate/(g/kgW)				
	0	0.02	0.04	0.06	
pH	0h	6.70±0.12 ^{ab}	6.78±0.09 ^a	6.70±0.08 ^{ab}	6.42±0.10 ^b
	3h	6.91±0.12 ^a	6.63±0.06 ^a	6.52±0.08 ^a	6.02±0.11 ^b
	6h	6.46±0.09 ^a	6.61±0.08 ^a	6.48±0.08 ^a	5.95±0.23 ^b
	9h	6.77±0.08 ^a	6.72±0.07 ^a	6.66±0.06 ^a	6.09±0.22 ^b
氨态氮 NH ₃ -N/(mg/dL)	0h	10.34±0.82 ^a	10.71±1.18 ^a	10.21±1.16 ^a	10.02±1.07 ^a
	3h	13.93±1.04 ^a	13.54±1.15 ^a	11.32±1.02 ^b	11.61±1.02 ^b
	6h	10.84±1.30 ^a	10.83±1.19 ^a	9.74±1.19 ^b	8.23±1.08 ^c
	9h	9.22±1.10 ^a	8.92±1.12 ^a	8.41±1.06 ^{ab}	7.94±1.07 ^b

* 同行肩注不同字母表示差异显著($P < 0.05$),下表同

* Means in the same row with different superscripts letters are significantly different ($P < 0.05$). The same as below

2.1.2 异戊酸对瘤胃液挥发性脂肪酸(VFA)的影响 由表 3 可见,日粮添加异戊酸后,瘤胃乙酸水平升高,0.04 g/kgW 组在饲喂后 3、6 和 9 h 显著高于

对照组和 0.02 g/kgW 组($P < 0.05$),但与 0.06 g/kgW 组差异不显著($P > 0.05$);瘤胃丙酸水平差异不显著($P > 0.05$);处理组丁酸水平显著高于对

对照组($P < 0.05$); 0.04 g/kgW 组在饲喂后总酸水平显著高于对照组和 0.02 g/kgW 组($P < 0.05$), 但与 0.06 g/kgW 组差异不显著($P > 0.05$)。饲喂后,

0.04 g/kgW 组乙酸/丙酸比例显著高于对照和 0.02 g/kgW 组($P < 0.05$), 但与 0.06 g/kgW 组差异不显著($P > 0.05$)。

表 3 异戊酸对西门塔尔牛瘤胃液 VFA 浓度和乙酸/丙酸比例的影响

Table 3 Effects of isovalerate on ruminal VFA concentrations and the rate of the acetate to propionate in Simmental steer mmol/L

		异戊酸添加量 Supplemental isovalerate / (g/kgW)			
		0	0.02	0.04	0.06
乙酸 Acetate	0h	42.62±1.54 ^a	43.99±0.33 ^a	44.32±1.96 ^a	43.36±0.31 ^a
	3h	43.18±1.69 ^b	45.29±1.10 ^b	50.97±1.16 ^a	49.13±1.45 ^a
	6h	45.14±1.88 ^b	48.03±1.45 ^b	53.96±2.03 ^a	55.37±2.09 ^a
	9h	40.58±1.98 ^c	44.05±0.87 ^b	50.75±1.39 ^a	51.87±1.32 ^a
丙酸 Propionate	0h	14.02±0.37 ^a	13.36±0.04 ^a	13.86±1.86 ^a	13.79±0.35 ^a
	3h	15.30±3.67 ^a	14.98±0.30 ^a	14.25±1.97 ^a	14.48±0.22 ^a
	6h	17.17±1.06 ^a	16.20±0.61 ^a	15.76±1.34 ^a	16.55±0.31 ^a
	9h	15.18±1.99 ^a	15.07±0.15 ^a	15.08±0.51 ^a	15.00±0.78 ^a
乙酸/丙酸 Acetate/Propionate	0h	3.04±0.12 ^a	3.29±0.09 ^a	3.20±0.10 ^a	3.14±0.11 ^a
	3h	2.82±0.09 ^b	3.02±0.11 ^b	3.58±0.14 ^a	3.39±0.09 ^a
	6h	2.63±0.13 ^b	2.96±0.13 ^b	3.42±0.11 ^a	3.35±0.13 ^a
	9h	2.67±0.08 ^b	2.92±0.10 ^b	3.37±0.09 ^a	3.46±0.11 ^a
丁酸 Butyrate	0h	4.63±0.64 ^b	7.17±0.11 ^a	7.42±0.57 ^a	7.35±0.09 ^a
	3h	5.25±0.71 ^b	8.54±0.13 ^a	8.15±0.59 ^a	7.74±0.08 ^a
	6h	5.94±0.35 ^b	8.61±0.22 ^a	8.66±0.55 ^a	8.37±0.08 ^a
	9h	3.84±0.56 ^b	7.08±0.28 ^a	7.22±0.23 ^a	7.23±0.25 ^a
总酸 Total volatile fatty acid	0h	61.27±1.19 ^a	64.52±0.47 ^a	65.60±2.22 ^a	64.50±0.82 ^a
	3h	63.73±1.54 ^c	68.81±1.88 ^b	73.37±2.83 ^a	71.35±1.78 ^{ab}
	6h	68.25±1.71 ^b	72.84±1.91 ^b	78.38±2.30 ^a	80.29±2.46 ^a
	9h	59.60±1.95 ^c	66.20±1.32 ^b	73.05±2.20 ^a	74.10±2.41 ^a

2.2 异戊酸对营养物质瘤胃有效降解率的影响

2.2.1 对玉米秸秆 DM、OM、NDF 和 ADF 瘤胃有效降解率的影响 由表 4 可见, 日粮添加异戊酸后, 玉米秸秆干物质(DM)和有机物(OM)瘤胃有效降

解率显著高于对照组($P < 0.05$), 0.04 g/kgW 组中性洗涤纤维(NDF)和酸性洗涤纤维(ADF)瘤胃有效降解率显著高于对照组($P < 0.05$), 其它组间差异不显著($P > 0.05$)。

表 4 异戊酸对西门塔尔牛玉米秸秆 DM、OM、NDF、ADF 瘤胃有效降解率的影响

Table 4 Effects of isovalerate on corn straw DM, OM, NDF and ADF effective degradability in Simmental steer %

	异戊酸添加量 Supplemental isovalerate / (g/kgW)			
	0	0.02	0.04	0.06
干物质 DM	38.91±1.22 ^b	42.67±0.66 ^a	43.05±0.66 ^a	42.85±1.18 ^a
有机物 OM	37.25±1.21 ^b	41.72±0.55 ^a	42.58±0.64 ^a	42.06±1.07 ^a
中性洗涤纤维 NDF	26.86±1.36 ^b	31.95±0.50 ^{ab}	36.81±0.80 ^a	30.97±1.36 ^{ab}
酸性洗涤纤维 ADF	26.32±1.62 ^b	28.17±0.81 ^{ab}	29.42±0.85 ^a	27.72±1.17 ^{ab}

2.2.2 对豆粕 DM、OM 和 CP 瘤胃有效降解率的影响 由表 5 可见, 豆粕干物质(DM)和有机物(OM)瘤胃有效降解率以 0.06 g/kgW 组最低, 0.04 g/kgW 组次之, 显著低于对照组($P < 0.05$); 0.04 g/kgW 组和 0.06 g/kgW 组豆粕粗蛋白质(CP)瘤

胃有效降解率显著低于对照组($P < 0.05$), 但处理间差异不显著($P > 0.05$)。

2.3 异戊酸对尿嘌呤衍生物含量的影响

由表 6 可见, 日粮中添加异戊酸对尿酸含量没有显著影响($P > 0.05$)。处理组尿囊素和尿嘌呤衍

生物含量显著高于对照组($P < 0.05$), 0.04 g/kgW g/kgW 组差异不显著($P > 0.05$)。组显著高于 0.02 g/kgW 组($P < 0.05$), 但与 0.06

表 5 异戊酸对西门塔尔牛豆粕 DM、OM、CP 瘤胃降解率的影响

Table 5 Effects of isovalerate on soybean meal DM, OM and CP effective degradability in Simmental steer %

	异戊酸添加量 Supplemental isovalerate/(g/kgW)			
	0	0.02	0.04	0.06
干物质 DM	58.33±1.31 ^a	55.72±1.48 ^{ab}	52.72±0.44 ^b	47.84±1.15 ^c
有机物 OM	56.94±1.36 ^a	54.02±1.58 ^{ab}	52.06±0.48 ^b	47.29±1.29 ^c
粗蛋白质 CP	51.17±1.56 ^a	49.75±2.36 ^{ab}	44.31±0.43 ^b	40.22±2.00 ^b

表 6 异戊酸对西门塔尔牛尿嘌呤衍生物浓度的影响

Table 6 Effects of isovalerate on purine derivatives of urine in Simmental steer mmol/d

	异戊酸添加量 Supplemental isovalerate/(g/kgW)			
	0	0.02	0.04	0.06
尿囊素 Allantoin	45.73±1.46 ^c	49.52±1.38 ^b	53.98±1.74 ^a	50.38±1.39 ^{ab}
尿酸 Uric acid	4.72±0.58 ^a	4.78±0.43 ^a	4.91±0.46 ^a	4.86±0.51 ^a
尿嘌呤衍生物 Purine derivatives, PD	50.45±1.84 ^c	54.30±1.52 ^b	58.89±1.46 ^a	55.24±1.81 ^{ab}

3 讨论

瘤胃 pH 的变动范围一般为 5.5~7.5, 纤维分解菌对 pH 非常敏感, 较低的 pH 不利于纤维性物质的降解, pH 低于 6.2 时, 纤维分解菌的活动就会受到抑制^[16]。本研究 0.06 g/kgW 组饲喂后的瘤胃 pH 均低于 6.2, 可能是因为促进了日粮非结构性碳水化合物的降解, 使 pH 降低, 但此 pH 抑制纤维分解菌的活动, 导致中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维有效降解率下降。

NH₃-N 浓度反映蛋白质降解与合成之间所达到的平衡状况, 日粮添加异戊酸降低了瘤胃 NH₃-N 浓度, 一方面是由于异戊酸可促进微生物对 NH₃-N 的利用, 微生物蛋白(Microbial protein, MCP)合成增加^[17], 另一方面是由于降低蛋白质降解率, 使瘤胃 NH₃-N 浓度降低。随着日粮异戊酸添加水平的提高, 到 0.04 g/kgW 时显著降低瘤胃 NH₃-N 浓度。Felix 研究表明异戊酸可加快瘤胃微生物的生长速度, 提高反刍动物体内氮的存留^[18]。

异戊酸可引起瘤胃挥发性脂肪酸增多, 对其它脂肪酸影响不一。Hume 观察到添加异戊酸后丙酸水平下降^[19]。Felix 观察到添加异戊酸后提高了乙酸的水平^[18]。本研究日粮添加异戊酸提高了瘤胃乙酸、丁酸和 TVFA 浓度, 丙酸浓度没有显著变化。说明日粮添加 0.04 g/kgW 的异戊酸有利于乙酸的

形成。乙酸/丙酸达 3.2 以上, 属于乙酸发酵类型, 说明日粮添加 0.04 g/kgW 的异戊酸改变瘤胃发酵类型, 有利于乙酸的形成^[20]。

支链脂肪酸是瘤胃内纤维分解菌的生长因子, 可提高纤维分解菌的数量, 促进纤维的消化^[1]。本研究中日粮添加异戊酸后提高了玉米秸秆纤维物质的降解率, 以 0.04 g/kgW 组最高。日粮中异戊酸添加到 0.04 g/kgW 时显著降低了豆粕 DM、OM 和 CP 的瘤胃降解率, 可能是异戊酸抑制了蛋白质分解菌的活力, 从而使豆粕的有效降解率降低, 其原因有待进一步研究验证。

尿嘌呤衍生物含量与牛瘤胃微生物蛋白质(MCP)产量高度相关^[14], 尿中嘌呤衍生物的含量反映了 MCP 产量的多少, 日粮添加支链脂肪酸有利于微生物蛋白的合成^[17]。本研究日粮中添加异戊酸后, 随着异戊酸水平增加, 尿中嘌呤衍生物的排出量增加, 到 0.04 g/kgW 达最高, 表明日粮添加 0.04 g/kgW 异戊酸会明显增加瘤胃微生物蛋白产量。

4 结论

日粮添加 0.04 g/kgW 异戊酸后刺激了瘤胃微生物的生长, 促进了玉米秸秆干物质、有机物和纤维物质的降解, 降低了豆粕蛋白质的降解, 尿嘌呤衍生物排出量增加, 瘤胃 NH₃-N 浓度显著降低, 说明异戊酸促进了微生物蛋白质的合成。瘤胃乙酸、丁酸和挥发性脂肪酸总量增加, 丙酸没有显著变化, 瘤

胃发酵类型趋向乙酸发酵。异戊酸的适宜添加水平为 0.04 g/kgW。

参考文献:

- [1] Allison M J, Bryant M P. Metabolic function of branched-chain volatile fatty acids, growth factors for rumino-coocci [J]. J Dairy Sci, 1961, 43:184~198.
- [2] Playne M J, Kennedy P M. Ruminant volatile fatty acids and ammonia in cattle grazing dry tropical pastures [J]. J Agric Sci (Camb.), 1976, 86:367~372.
- [3] McCollum F T, Galyean M L, Krysl L J, *et al.* Cattle grazing blue grama rangeland. I. Seasonal diets and rumen fermentation [J]. J Range Manage, 1985, 38:539~543.
- [4] Krysl L J, Galyean M L, Judkins M B, *et al.* Digestive physiology of steers grazing fertilized and non-fertilized blue grama rangeland [J]. J Range Manage, 1987a, 40(6):493~501.
- [5] Judkins M B, Wallace J D, Galyean M L, *et al.* Passage rates rumen fermentation and weight change in protein supplemented grazing cattle [J]. J Range Manage, 1987, 40(2):100~105.
- [6] Krysl L J, Galyean M L, Wallace J D, *et al.* Cattle nutrition on blue grama range in New Mexico [J]. New Mexico Agric Exp Sta Bull, 1987b, 40:727~735.
- [7] Gunter S A, Krysl L J, Judkins M B, *et al.* Influence of branched-chain fatty acid supplementation on voluntary intake, site and extent of digestion, ruminal fermentation, digesta kinetics and microbial protein synthesis in beef heifers consuming grass hay [J]. J Anim Sci, 1990, 68:2 885~2 892.
- [8] Moharrery A. Effect of isoacids on some rumen enzymes[J]. Journal of Animal and Feed Science, 2004, 13(supplement 1): 159~161.
- [9] 王加启,冯京海,米军祥,等. 奶牛异位酸型添加剂的研究和应用[J]. 中国奶牛, 1994, 5: 21~23.
- [10] Moharrery A. Incorporation of isoacids, oil, NPN and protein in the ration of sheep and their effects on protease and amylase in the rumen fluid[J]. Emirates Journal of Agricultural Sciences, 2003, 15(1): 76~83.
- [11] Quispe M E, Barradas H, Cook R M. Effects of isoacids, urea and sulfur on ruminal fermentation in sheep fed pineapple tops [J]. Small Ruminant Research, 1991, 6(1/2):49~54.
- [12] 杨 胜. 饲料分析及饲料质量检测技术[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1996. 171~172.
- [13] 冯仰廉. 反刍动物营养学[M]. 北京: 科学出版社, 2004. 575~576.
- [14] Chen X B, Mayuszewski W, Kowalczyk J. Determination of allantoin in biological cosmetic and pharmaceutical samples[J]. J AOAC International, 1996, 79:628~635.
- [15] Orskov E R, McDonald I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage[J]. J Agri Sci, 1979, 92: 499~503.
- [16] 冀一伦. 实用养牛科学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001. 156~159.
- [17] Allison M J. Biosynthesis of amino acids by ruminal microorganisms[J]. J Anim Sci, 1969, 29:797~807.
- [18] Felix A, Cook R M, Huber J T. Effect of feeding isoacids with urea on growth and nutrient utilization by lactating cows[J]. J Dairy Sci, 1980, 63(11): 1 943~1 946.
- [19] Hume I D. Synthesis of microbial protein in the rumen. II. A response to higher volatile fatty acids [J]. Aust J Agric Res, 1970, 21(2):297~304.
- [20] Williams A G, Coleman G S. The rumen protozoa [M]. Springer-verlag New York Inc, 1991.