

植物活性物质调控反刍动物甲烷排放作用机理研究进展

宋坤烺, 闫晓刚

(吉林省农业科学院畜牧科学分院, 吉林 公主岭 136100)

摘要: 植物活性物质作为饲料添加剂, 具有天然无害、抑制细菌等作用, 被认为是一种新型的甲烷抑制剂。本文综述了植物活性物质作为反刍动物甲烷抑制剂的作用效果、作用机理和存在的问题, 旨在为植物活性物质作为甲烷抑制剂在生产中的应用提供参考。

关键词: 植物活性物质; 反刍动物; 甲烷; 作用机理

中图分类号: S811.5

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2018)04-0036-05

Progress of Researches of Plant Active Substances Regulating Methane Emission Mechanism in Ruminants

SONG Kunyang, YAN Xiaogang

(Branch Academy of Animal Science, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Jilin Gongzhuling, 136100, China)

Abstract: As feed additives with natural harmless and bacteriostatic activities, plant active substances are considered a new type of methane inhibitor. The effect, mechanism and existing problems of plant active substances utilized as ruminant methane inhibitor were reviewed in the paper, which aimed to provide reference for the application of plant active substances as methane inhibitors in production.

Key words: Plant active substances; Ruminant; Methane; Interaction mechanism

随着科学技术和工业的发展, 人类的日常活动、大量燃料燃烧等产生许多温室气体, 导致温室效应。甲烷是主要的温室气体之一, 虽然甲烷含量在大气中仅为二氧化碳含量的 3.7%^[1], 但是甲烷对温室效应的增温效果是二氧化碳的 23~25 倍, 并且甲烷能够通过辐射导致气候发生直接的变化^[2]。研究表明, 目前约有 70% 的甲烷是人为产生的, 其中农业的甲烷排放量占人为排放总量的 50%, 其中 40% 来自反刍动物胃肠道的排放^[3]。反刍动物甲烷的排放不仅会产生温室气体影响环境, 同时也会造成能量的损失。因此, 抑制反刍动物甲烷的排放, 不仅能够提高畜牧业饲料的利用率, 还能够减少农业中温室气体的排放, 获得环境和经济的双重收益。

近年来, 许多国内外的学者对于如何抑制反

刍动物瘤胃内甲烷排放进行了大量研究。其中植物活性物质由于其天然性, 能够抑制反刍动物瘤胃甲烷的产生和促进瘤胃发酵^[4]等特点, 具有作为新型的甲烷调控剂的潜力被广泛研究。本文综述了反刍动物瘤胃内甲烷的产生机制、不同植物活性物质抑制甲烷生成的效果及其作用机理, 以期植物活性物质作为甲烷抑制剂在生产中的应用提供参考。

1 反刍动物瘤胃甲烷产生的机制

反刍动物瘤胃内会产生甲烷的原因和它们独特的消化方式有着直接的联系。反刍动物日粮中的有机物质在多种瘤胃微生物(如纤维分解菌、产甲烷菌和其他厌氧微生物等)的作用下进行厌氧发酵, 被降解并生成 VFA (Volatile Fatty Acid, 挥发性脂肪酸)、H₂ 和 CO₂ 等。瘤胃内的甲烷大部分由产甲烷菌产生, 主要通过以下几种途径: (1) 以 H₂ 和 CO₂ 为底物, 经过酶和辅酶的作用, 发生还原反应, 生成甲烷, 这是瘤胃生成甲烷的主要途径^[5]; (2) 以 VFA (如甲酸、乙酸、丁酸等) 为底物合成甲烷; (3) 以甲基化合物 (如甲醇、乙醇等) 为底

收稿日期: 2018-03-25

基金项目: 吉林省农业科技创新工程杰出青年项目 (CXGC2017JQ003)

作者简介: 宋坤烺 (1993-), 女, 在读硕士, 研究方向: 动物营养与饲料科学。

物合成甲烷^[6]。反刍动物所产生的甲烷很难被畜体利用,只能通过呼吸和暖气排出体外。

2 植物活性物质抑制甲烷产生的效果及其作用机制

植物活性物质是指人们通过物理或者化学的方法以植物(植物全部或者某一部分)为原料提取或加工而来的一种或多种具有生物活性的物质,由于其具有抑制细菌活性、改善反刍动物瘤胃发酵和改善动物性能、降低产气量等功能^[7-9],使得植物提取物作为新型的甲烷抑制剂在畜牧行业中被广泛研究和应用。不同的植物中含有多种不同的成分,目前应用较广泛的为植物精油、植物单宁、皂苷、多酚类化合物等。

2.1 植物精油

2.1.1 牛至油

牛至油是从牛至的花和叶中提取出来的一种芳香性油状液体,具有挥发性,其主要用途为替代抗生素,并且具有良好的促生长效果^[10]。牛至油中包含数十种不同的化合物,其主要的植物活性物质为香芹酚和百里酚(麝香草酚)^[11]。在瘤胃液体外培养实验中发现,添加 1.0 g/L、1.5 g/L、2.0 g/L 的牛至油,甲烷的产量分别减少 55%、72% 和 71%^[12]。也有研究表明,添加 1 g/L 的牛至油能够使瘤胃中甲烷的产量降低 87%,同时也能够使古细菌和原虫的数量减少,改变古细菌和细菌群落的组成^[13]。Hristov 等在荷斯坦奶牛的日粮中添加不同水平(250 g/d、500 g/d、750 g/d)的牛至叶,饲养 20 d 后发现能够抑制奶牛甲烷的产量,并且对牛奶成分和脂肪酸含量及组成无影响^[14]。

牛至油能够抑制甲烷的产生主要原因在于其具有抗菌性,有学者通过测量细胞内的 pH 值和 ATP(Adenosine Triphosphate,三磷酸腺苷)浓度,研究了牛至油对细胞膜和细菌壁的影响,结果表明牛至油中的香芹酚能分解细胞膜,增加细胞膜的通透性,使 ATP 减少,pH 值降低,精油的毒性作用影响了微生物的活性^[15]。而牛至油中的麝香草酚能够通过氢键与细菌的膜蛋白结合,溶解脂质膜,尤其在厌氧条件下,由于细菌代谢缓慢,增强了麝香草酚对细菌的毒性,使其有着更好的抑菌效果^[16]。

由前人研究可以发现,牛至油中含有的香芹酚和麝香草酚由于其抗菌性能够抑制细菌、原虫和古细菌的活性,从而抑制了产甲烷菌的活性,使得甲烷的产量减少,但在有效添加剂量方面仍

需进行大量的研究。

2.1.2 椰子油

将椰子肉在阳光下高温晒干通过挤压后产生椰子油或将生椰子乳化成油和水的乳化液后将椰子油分离出来。在 Sondakh 等人的研究中发现,在饲料中添加 2%~8% 的椰子油,甲烷产量下降了 18.39%~29.7%^[17]。金龙利用瘤胃体外模拟法发现添加椰子油对体外发酵实验中的瘤胃液 pH 及氨态氮无影响,但能够降低体外发酵总产气量,同时也降低了瘤胃原虫数量^[18]。在饲料中补充椰子油也能够对羔羊的瘤胃发酵产生影响,高水平(18.8 g/d)摄入椰子油后,由于其抑制瘤胃原虫活性,从而降低纤维消化率,导致饲料的转化率下降,抑制羔羊生长^[19]。

有研究表明,在反刍动物的日粮中添加椰子油能够抑制原虫的数量,甚至可以将原虫从反刍动物的瘤胃液中完全地去除^[20]。也有体外试验表明,将椰子油分别添加在具有原虫和不具有原虫的瘤胃液中均能够降低甲烷的产量,产甲烷菌的数量均显著降低^[21],说明椰子油能够抑制甲烷产生的主要原因并不是去除了原虫。在体内试验中表明,椰子油是通过改变瘤胃产甲烷菌群达到抑制甲烷产生的^[22]。一方面椰子油能够抑制原虫,降低与原虫共生的一部分甲烷菌的数量,从而降低甲烷的产量;另一方面椰子油也能够一定程度上抑制产甲烷菌,改变反刍动物瘤胃的菌群结构。

2.2 植物单宁

单宁是一种广泛分布于许多植物物种中的多元酚化合物,它是植物防止掠食和杀虫时产生的一种保护性物质。适量的采食单宁能够防止反刍动物臃胀病的发生,但由于饲料中添加的单宁会和蛋白质结合,从而降低饲料的降解率,被认为是抗营养物质。植物单宁分为水解单宁和缩合单宁两类,其主要的存在形式为缩合单宁。在研究中发现,缩合单宁是一种天然的反刍动物瘤胃保护剂,并且缩合单宁在小肠内被降解后的产物不具有毒性^[23]。Molan 等在研究中发现 400 mg/mL 或者更高浓度的缩合单宁能够抑制瘤胃内多种细菌的生长^[24]。在羔羊的饲料喂养实验中发现,莲花中的缩合单宁能够使甲烷的产量减少 16%^[25]。在日粮中直接添加从相思树中提取的缩合单宁(0.615 g/g),能够降低 13% 的甲烷释放量^[26]。

适量的单宁能够在减少甲烷排放量的同时不影响饲料消化率,其主要原因在于单宁对反刍动

物瘤胃内的产甲烷菌和原虫具有抑制作用^[27],如前文所提,产甲烷菌与原虫共生,去除原虫后也能够使产甲烷菌的数量降低,对于降低甲烷排放有一定的作用。另一方面,单宁能够使瘤胃中产生的氢减少^[28],这导致合成甲烷的原料之一减少,从而降低甲烷的产生。在饲料中添加单宁时会减少动物的采食量,因此单宁的添加量还需要进一步研究。

2.3 皂苷

2.3.1 丝兰皂苷

丝兰皂苷是丝兰收割后经过浸泡、压榨后得到的汁液进行蒸馏浓缩的提取物,具有很强的生物学活性,由皂苷元、糖和糖醛酸或其他有机酸组成。Lu和Jorgensen于1987年首次发现丝兰提取物可以降低瘤胃内的原虫数量^[29]。之后许多学者展开了大量的研究,在牛的瘤胃微生物的体外厌氧培养期间(24 h)发现,丝兰皂苷能够抑制甲烷的产生^[30]。添加不同浓度(0、1.2、1.8、2.4和3.2 g/L)的丝兰皂苷对瘤胃液进行体外培养,结果表明丝兰皂苷能够刺激瘤胃微生物的发酵并抑制体外甲烷的产生^[31];Santoso等在羊的体内实验中发现,添加丝兰皂苷也能够降低甲烷产量^[32]。

丝兰皂苷对于甲烷的抑制作用主要与其能够抑制原虫和细菌的活性有关^[33]。丝兰皂苷可以和原虫细胞膜中的重要组成成分—胆固醇发生不可逆的结合,对原虫产生毒害作用^[34],减少了与原虫共生的产甲烷菌,从而降低甲烷的产量;丝兰皂苷也可以直接抑制产甲烷菌的活性,在体外培养和体外产气法实验中发现丝兰皂苷对甲烷菌群的抑制效果与其添加量有关,当添加量低于8 mg/g时,产甲烷菌的数量随添加量的增加而减少;当添加量高于10 mg/g时,由于微生物的活性增强,甲烷的产量反而会增加^[35]。丝兰皂苷也能够抑制纤维分解菌的活性,增加丙酸的产量,在体内试验中发现,添加丝兰皂苷的实验组丙酸增加,甲烷产量随之下降^[36],丙酸的产生需要有效氢,这导致生成甲烷的有效氢减少,从而降低了甲烷的生成。而Lu等的研究表明,丝兰皂苷也可能会导致营养物质的消化由瘤胃转移到了后肠,引起甲烷产量的降低^[29]。

2.3.2 茶皂素

茶皂素是由山茶科植物中提取出来的一种甙化合物,由配位基、糖体和有机酸等组成的一种纯天然的表面活性物质。体外产气实验中,在200 mg玉米粉和草粉混合物中添加2、4、6、8 mg

的茶皂素,24 h后甲烷产量分别降低13%、22%、25%和26%,原虫数量减少19%、25%、45%和79%^[37]。在湖羊羔羊的体内试验中,添加3 g/d的茶皂素饲养60 d后,甲烷产量降低了27.7%,瘤胃内的总挥发性脂肪酸和微生物蛋白的浓度均有增加^[38]。Zhou等在湖羊体内试验中添加3 g/d的茶皂素饲养24 h后,甲烷产量降低2.5 L/d^[39]。

茶皂素能够抑制甲烷生成的机理目前尚未统一。有试验通过运用DGGE技术结合18S rDNA序列分析技术研究了茶皂素对瘤胃原虫多样性和组成结构的影响,发现茶皂素对瘤胃原虫和原虫区系的多样性均产生影响,通过减少原虫的数量达到抑制甲烷产生的作用^[40]。有报道表明茶皂素可以通过改变原虫细胞的渗透性达到抑制原虫的作用^[41]。茶皂素的添加也能够改变瘤胃的发酵特性,抑制甲烷生成^[42]。茶皂素抑制甲烷的作用可能与其对瘤胃原虫毒害作用有关,它能够降低与原虫共生的甲烷菌的活性,从而降低甲烷产量,也可能是添加茶皂素后改变了瘤胃内环境,增加了丙酸的含量,减少了产甲烷菌所需要的氢,使得甲烷排放量降低,其具体作用机制仍需要进行深入探索。

2.4 游离棉酚

游离棉酚是棉籽粕中棉酚的主要存在形式之一,由于它的游离状态导致容易发生化学反应并且排泄缓慢,使其在动物体内很容易蓄积并造成动物中毒。游离棉酚在反刍动物的瘤胃发酵过程中会与蛋白质结合,影响消化吸收^[43]。国内外对于游离棉酚在反刍动物甲烷产量影响方面的研究很少。Ismartoyo等在对棉籽的瘤胃降解过程的体外试验中,观察到棉酚的存在降低了气体产量和总瘤胃微生物数量^[44]。张力莉等在体外产气法中分别添加了0.025、0.05和0.25 mg/kg的棉酚,分别降低5.95%、9.48%和18.37%产气量^[45]。但Paulo等饲喂Santa Inês绵羊中发现,棉酚对瘤胃甲烷产量无影响^[46]。

一些研究表明,反刍动物能够忍受比较高浓度的棉酚所产生的毒性^[47],王海荣等利用体外发酵法发现棉酚能够使瘤胃内的总细菌、纤维降解菌的数量均出现增加,而真菌则数量减少^[48],这说明纤维降解菌对游离棉酚的耐受力更高,瘤胃真菌对棉酚比较敏感,能够抑制真菌的生长。在绵羊体内试验中,添加不同水平的棉粕(100 g、200 g和300 g),与对照组相比,绵羊瘤胃内的丙酸浓度提高^[49],丙酸的增加争夺了产生甲烷所需的氢,这

有可能使甲烷的产量降低。游离棉酚对瘤胃微生物的影响及其是否能够导致甲烷的产量降低还有待进一步研究和探讨。

3 小 结

植物活性物质作为一种新型的甲烷抑制剂,具有重要的研究价值和应用前景。我国的植物资源十分丰富,为植物活性物质作为甲烷抑制剂的研究奠定了基础,同时还能够推动我国中草药等资源的开发和利用。其中牛至油、椰子油、丝兰皂苷和茶皂素更是具有价格便宜,原料易获取且具有明显地减少甲烷产量的优势,但相关研究中仍然存在着一些问题:(1)反刍动物的日粮不同可能会导致植物源性甲烷抑制剂的作用效果不同。(2)一些植物活性物质的作用机理仍不明确,还有待进一步研究和阐明。(3)植物活性物质作为甲烷抑制剂的有效添加量尚不明确。(4)植物添加剂作为甲烷抑制剂在动物体内是否有残留。(5)植物活性物质的化学结构比较复杂,提取工艺也相对复杂,致使植物活性物质仍旧处于实验室理论阶段,并不能进行产业化生产,这给生产植物源性甲烷抑制剂产品带来困难。(6)不同的植物活性物质之间相互作用的效果与机理尚不明确,确定甲烷抑制效果和经济效益最佳的植物源性甲烷抑制剂的种类和比例是研发复合型甲烷抑制剂的关键所在。相信随着现代分子生物技术和细胞生物学技术等的不断进步,这些问题都能找到妥善的解决办法,能够研制开发出安全高效的植物性甲烷抑制剂并进行大范围的生产应用。

参考文献:

- [1] 曲建翘. 甲烷是温室效应的隐形帮手[N]. 健康报, 2017-05-24(004).
- [2] 李胜利, 金鑫, 范学珊, 等. 反刍动物生产与碳减排措施[J]. 动物营养学报, 2010, 22(1): 2-9.
- [3] 蔡松锋. 中国农业源非二氧化碳类温室气体减排政策研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2011.
- [4] HART K J, LASWAI G H, CHAVES A V, et al. Plant extracts to manipulate rumen fermentation[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2008, 147(1): 8-35.
- [5] Dimarco A A, Bobik T A, Wolfe R S. Unusual coenzymes of methanogenesis *Annual Review of Biochemistry*, 1990, 59(1): 355-394.
- [6] 冯仰廉. 反刍动物营养学[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 32-44.
- [7] Deng Y C, Yu Y Z, Luo H Y, et al. Antimicrobial activity of extract and two alkaloids from traditional Chinese medicinal plant *Stephania dielsiana*[J]. *Food Chemistry*, 2011, 124(4): 1556-1560.
- [8] Kung L J, Williams P, Schmidt R J, et al. A blend of essential plant oils used as an additive to alter silage fermentation or reed as a feed additive for lactating dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91(12): 4793-4800.
- [9] Alexander G, Singh B, Sahoo A, et al. In vitro screening of plant extracts to enhance the efficiency of utilization of energy and nitrogen in ruminant diets[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2008, 145(1): 229-244.
- [10] 张然, 郑琛, 闫晓刚, 等. 植物提取物对反刍动物瘤胃发酵和甲烷排放影响的研究进展[J]. *东北农业科学*, 2017, 42(5): 43-47.
- [11] Sivropoulou A, Papanikolaou E, Nikolaou C, et al. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 44(5): 1202-1205.
- [12] Cobellis G, Petrozzi A, Forte C, et al. Evaluation of the Effects of Mitigation on Methane and Ammonia Production by Using *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oils on in Vitro Rumen Fermentation Systems[J]. *Sustainability*, 2015, 7(9): 12856-12869.
- [13] Patra A K, Yu Z. Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of rumen-microbial populations[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(12): 4271-4280.
- [14] Hristov A N, Lee C, Cassidy T, et al. Effect of *Origanum vulgare* L. leaves on rumen fermentation, production, and milk fatty acid composition in lactating dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2013, 96(2): 1189-1202.
- [15] Oussalah M, Caillet S, Lacroix M. Mechanism of Action of Spanish Oregano, Chinese Cinnamon, and Savory Essential Oils against Cell Membranes and Walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*[J]. *Journal of Food Protection*, 2006, 69(5): 1046-1055.
- [16] Juven B J, Kanner J, Schved F, et al. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 1994, 76(6): 626-631.
- [17] Sondakh E H B, Rorong J A, Kalele J A D. Methane Gas Reduction Using Virgin Coconut Oil Supplementation in Rumen Fermentation through in Vitro[J]. *Animal Production*, 2015, 17(3): 144.
- [18] 金龙. 添加椰子油和棕榈仁油对体外发酵瘤胃微生物的影响[A]. 中国畜牧兽医学会养牛学分会. 中国牛业健康发展与科技创新——中国畜牧兽医学会第七届养牛学分会2009年学术研讨会论文集[C]. 中国畜牧兽医学会养牛学分会, 2009: 141.
- [19] Bhatt R S, Soren N M, Tripathi M K, et al. Effects of different levels of coconut oil supplementation on performance, digestibility, rumen fermentation and carcass traits of Malpura lambs[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2011, 164(1): 29-37.
- [20] 黄小丹. 椰子油对不同日粮条件下绵羊瘤胃微生物及甲烷产量的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2008.
- [21] 乔升民, 乔君毅, 谭支良. 反刍动物瘤胃甲烷生成机制及调

- 控措施研究进展[J]. 中国草食动物科学, 2014, 34(1): 44-48.
- [22] Machmüller A, Soliva C R, Kreuzer M. Effect of coconut oil and defauration treatment on methanogenesis in sheep[J]. *Reproduction Nutrition Development*, 2003, 43(1): 41-55.
- [23] 汪海峰. 缩合单宁对反刍动物的营养作用[J]. 中国饲料, 2004(12): 26-28.
- [24] Molan A L, Hoskind S O, Barry T N, et al. Effect of condensed tannins extracted from four forages on the viability of the larvae of deer lungworms and gastrointestinal nematodes[J]. *Veterinary Record*, 2000, 147(2): 44-48.
- [25] Waghorn G C, Tavendale M H, Woodfield D R. Methanogenesis from forages fed to sheep[J]. *Processing of New Zealand Grassland Association*, 2002, 64:167-171.
- [26] Carulla, J. E, Kreuzer M, Machmuller A, et al. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decrease methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep[J]. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2005, 56: 961-970.
- [27] Bhatta R, Uyeno Y, Tajima K, et al. Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations [J]. *Dairy Science*, 2009, 92(11): 5512-5522.
- [28] Tavendale M H, Meagher L P, Pacheco D, et al. Methane production from in vitro rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2005, 123-124(4): 403-419.
- [29] Lu C D, Jorgensen N A. Alfalfa saponins affect site and extent of nutrient digestion in ruminants[J]. *Journal of Nutrition*, 1987, 117(5): 919-927.
- [30] Takahashi J, Miyagawa T, Kojima Y, et al. Effects of *Yucca schidigera* extract, probiotics, monensin and L-cysteine on rumen methanogenesis[J]. *Asian-Aus. J Anim Sci*, 2000, 13: 499-501.
- [31] Lila Z A, Mohammed N, Kanda S, et al. Effect of Sarsaponin on ruminal fermentation with particular reference to methane production in vitro[J]. *Journal of Dairy Science*, 2003, 86(10): 3330-3336.
- [32] Santoso B, Mwenya B, Sar C, et al. Effects of supplementing galacto-oligosaccharides, *Yucca schidigera* or nisin on rumen methanogenesis, nitrogen and energy metabolism in sheep[J]. *Livestock Production Science*, 2004, 91(3): 209-217.
- [33] Wang Y X, Mcallister T A, Yanke U, et al. In vitro effects of steroidal saponins from *Yucca Schidigere* extract on rumen microbial protein synthesis and ruminal fermentation[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2000, 80: 2114-2122.
- [34] Klita P T, Mathison G W, Fenton T W, et al. Effects of alfalfa root saponins on digestive function in sheep[J]. *Journal of Animal Science*, 1996, 74: 1144-1156.
- [35] 李国祥. 日粮碳水化合物结构和添加丝兰皂苷对瘤胃发酵及甲烷产生机制的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2009.
- [36] Pen B, Sar C, Mwenya B, et al. Effects of *Yucca schidigera* and *Quillajasaponaria* extracts on in vitro ruminal fermentation and methane emission[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2006, 129: 175-186.
- [37] Hu Weilian, Wu Yueming, Liu Jianxin, et al. Effect of tea saponin on rumen fermentation in vitro[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2005, 120(3): 330-339.
- [38] Mao H L, Wang J K, Zhou Y Y, et al. Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs[J]. *Livestock Science*, 2010, 129(1): 56-62.
- [39] Zhou Y Y, Mao H L, Jiang F, et al. Inhibition of rumen methanogenesis by tea saponins with reference to fermentation pattern and microbial communities in Hu sheep[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2011, 166-167(7): 93-100.
- [40] 周奕毅. 茶皂素抑制湖羊甲烷生成的微生物学机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2009.
- [41] Klita P T, Mathison G W, Fenton T W, et al. Effects of alfalfa root saponins on digestive function in sheep[J]. *J Animal Science*, 1996, 74: 1144-1156.
- [42] 苑志明. 茶皂素及其与延胡索酸钠混合物对瘤胃发酵和甲烷产量影响的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- [43] McCaughy K M, Depeters E J, Robinson P H, et al. Impact of feeding whole Upland cotton seed, with or without cracked Pima cotton seed with increasing addition of iron sulfate, on productivity and plasma gossypol of lactating dairy cattle[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2005, 122(3): 241-256.
- [44] Ismartoyo I, Acamovic T, Stewart C S. The effect of gossypol on the rumen microbial degradation of grass hay under consecutive batch culture (CBC)[A]. *British Society of Animal Production, Proceedings of the Winter Meeting*[C]. *British Society of Animal Production, Scarborough*, 1993: 15-17.
- [45] 张力莉, 徐晓锋. 体外产气法研究棉酚对瘤胃发酵的影响[J]. 中国饲料, 2014(21): 11-13.
- [46] Paulo de Mello Tavares Lima, Pedro Batelli Oliveira, Aline Campeche, et al. Methane emission of Santa Inês sheep fed cotton seed by-products containing different levels of gossypol[J]. *Tropical Animal Health and Production*, 2014, 46, 285-288.
- [47] Mena H, Santos J E, Huber J T, et al. The effects of varying gossypol intake from whole cotton seed and cotton seed meal on lactation and blood and Blood Parameters in Lactating Dairy Cows [J]. *Journal of Dairy Science*, 2004, 87(8): 2506-2518.
- [48] 王海荣, 侯彩云, 杨金丽, 等. 体外发酵法研究游离棉酚对绵羊瘤胃微生物种群的影响[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2012, 33(Z1): 1-4.
- [49] 李海英, 孙国君, 靳万贵. 棉粕对芨芨草叶片在绵羊瘤胃内降解率与发酵的影响[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2007(2): 184-188.

(责任编辑:王昱)