地顶孢霉培养物对奶牛瘤胃发酵和微生物区系的影响

王一臻，李　洋，林　聪，张幸怡，张永根

（东北农业大学动物科学技术学院，哈尔滨 150030）

摘　要：本试验旨在研究不同剂量地顶孢霉培养物对奶牛瘤胃发酵、瘤胃微生物区系的影响，试验选用四头体重 600kg 左右并且装有永久性瘤胃瘘管的荷斯坦牛，饲喂不同剂量的地顶孢霉培养物，分为 A 组即对照组（基础日粮）、B 组（基础日粮 +10g 地顶孢霉培养物）、C 组（基础日粮 +20g 地顶孢霉培养物）、D 组（基础日粮 +30g 地顶孢霉培养物），试验采用 4×4 拉丁方试验设计，共分为 4 期，每期 15d。结果：（1）与 A 组相比，B、C、D 三组极显著提高了瘤胃中 NH_3-N 的浓度（P<0.01），C 组和 D 组极显著提高了瘤胃液中总挥发酸（TVFA）和乙酸的浓度（P<0.01），其中 D 组极显著提高了瘤胃液中丙酸的浓度（P<0.01），并显著降低了瘤胃 pH 值（P<0.05）。（2）D 组瘤胃中原虫的数量显著高于 A 组（P<0.05）。试验组的黄色瘤胃球菌、白色瘤胃球菌和溶纤维丁酸弧菌的数量极显著高于 A 组（P<0.01）。C 组和 D 组的普雷沃氏菌数量极显著高于 A 组（P<0.01），且牛链球菌的数量极显著高于 A 组（P<0.01），但试验组的产琥珀酸丝状杆菌数量极显著降低（P<0.01）。结论：地顶孢霉培养物可改善瘤胃发酵环境，维持瘤胃代谢稳定，是一种可以广泛应用于牧场的优质添加剂，在本试验条件下以 30 g/（头·d）添加量为最佳。

关键词：地顶孢霉培养物；奶牛；瘤胃发酵；微生物区系

随着人们对食品安全关注的日益增加，中药型添加剂的应用再次受到广泛的重视，与中药类添加剂相比，抗生素类添加剂容易导致细菌产生抗药性，造成动物机体的免疫力下降，引发二次感染，并在畜产品中残留 [1]。实践证明，天然中草药植物添加剂与抗生素类添加剂相媲美，且具有抗生素不可替代的功能，其作用主要体现在增强机体免疫功能，提高抗病力，抑菌抗病毒作用；增进食欲，提高营养物质的利用和促生长作用；增强抗应激功能；提高畜产品品质等 [2]。因此，中草药添加剂在日粮中的应用对家畜生产性能的影响及食品安全有着重要的意义。

冬虫夏草是麦角菌科真菌冬虫夏草菌寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座及幼虫尸体的复合体 [3]，是我国名贵的中草药之一。目前已测定的成分包括虫草多糖、蛋白质和氨基酸、脂肪和脂肪酸、虫草素和生物碱等 [4]。地顶孢霉培养物是虫草类添加剂的一种，是由古尼虫草上提取的地顶孢霉菌经 SDAY 培养基斜面培养，察氏培养基液体培养和发酵罐人工发酵等得到的饲料添加剂。魏建忠等人证明了地顶孢霉培养物具有促进仔猪生长和提高免疫力的功能 [5]。国内已有研究结果表明，虫草具有很强的免疫调节功能，可促进特异性抗体的产生，增强机体体液免疫应答 [6]。有研究表明，虫草具有促进癌细胞凋亡的作用 [7]。并且地顶孢霉培养物能够增加蛋鸭的体重，提高蛋鸭产蛋率以及鸭蛋品质 [1]。国外报道称，虫草菌丝体可以改善奶牛瘤胃微生物发酵功能，提高产气量和瘤胃中挥发性脂肪酸（VFA）的浓度，并促进纤维素滤纸的消化 [8]，而蛹虫草菌丝能够提高瘤胃微生物中纤维分解菌和纤维素酶的活性 [9]。但有关地顶孢霉培养物对反刍动物影响的研究相对较少，而地顶孢霉培养物又是一种非常有潜力的瘤胃发酵调控剂。所以本试验旨在研究地顶孢霉培养物对奶牛瘤胃发酵和瘤胃微生物区系的影响，确定地顶孢霉培养物的调控效果与适宜剂量，为地顶孢霉培养物在奶牛业的应用提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验动物和日粮组成

地顶孢霉培养物（Acremonium Terricola culture，ATC）产自合肥迈可罗生物工程有限公司，是由古尼虫草中提取出地顶孢霉菌经 SDAY 培养基斜面培养，察氏培养基液体培养和发酵罐人工发酵得到的灭活的虫草类添加剂，含有 26.84% 粗蛋白（CP），5.00% 粗纤维（CF），3.06% 粗脂肪（EE），4.04% 粗灰分（Ash），和 61.06% 无氮浸出物（NFE）（干物质基

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

础）。其中功能性成分含量分别是：虫草酸 84.50 g/kg、虫草多糖 44.60 g/kg、虫草素 0.432 g/kg、甾醇 0.597 g/kg、总氨基酸 218.1 g/kg。

试验选用 4 头体重 600kg 左右，装有永久性瘤胃瘘管的健康荷斯坦牛，拴饲。预试期与正试期的日粮保持一致，粗饲料选择玉米青贮、羊草及苜蓿，采取先粗后精的饲喂方式，于每日 6:00、18:00 单槽饲喂，准确称重各种饲料，保证自由饮水，基础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（干物质基础，%）

日粮组成	比例	营养成分	比例
苜蓿	2.41	泌乳净能②(MJ/kg)	21.3
羊草	27.21	蛋白 CP	15.31
青贮	20.47	中洗 NDF	52.96
干酒糟	11.16	酸洗 ADF	26.55
麦麸	4.68	干物质（kg）	12.4
玉米	22.95		
豆粕	9.15		
磷酸氢钙	0.24		
石灰石	0.96		
盐	0.16		
预混料①	0.32		
合计	100		

注：①每千克预混料含有：V_A 800000 IU，V_D 700 000 IU，V_E 10000 IU，Fe 1600mg，Cu 1500 mg，Zn 10000 mg，Mn 3500 mg，Se 80 mg，I 120 mg，Co 50 mg。
②泌乳净能是计算值，其余是实测值。

1.2　试验设计

试验采用 4×4 拉丁方试验设计，分为 A 组、B 组、C 组和 D 组。A 组：基础日粮；B 组：基础日粮 +10g 地顶孢霉培养物；C 组：基础日粮 +20g 地顶孢霉培养物；D 组：基础日粮 +30g 地顶孢霉培养物。在预试期晨饲前，将地顶孢霉培养物与 100 g 左右的基础日粮进行混合，预先饲喂奶牛，完全采食后继续饲喂其他基础日粮 [10]，试验分 4 期进行，每期预试期 15d，正试期 3d。

1.3　样品的采集和指标的测定

1.3.1　样品的采集与保存

分别于正试期三天内，在晨饲后 0、2、4、6、8、10 和 12h 对试验所有牛只取瘤胃液 50mL，四层纱布过滤并离心，待测瘤胃液 pH。取样品存放于 10mL 离心管中，加入 25% 的偏磷酸 1mL，放于 -20℃的冰箱中，待测瘤胃液中 VFA 和 NH_3-N 的浓度。

1.3.2　瘤胃液 pH 值的测定

采样后立即进行 pH 值的测定，仪器采用 Startorius Basic pH 值 Meter PB-20 型酸度计。

1.3.3　瘤胃液 NH_3-N 的测定

采用冯宗慈比色法进行瘤胃液 NH_3-N 的测定 [11]。

1.3.4　瘤胃液中 VFA 浓度的测定

用气相色谱仪（岛津 GC-2010，日本）测定 VFA[12]。

1.3.5　瘤胃原虫数量和菌群的测定

在正试期最后两天，于晨饲后 0、2、4、6、8、10 和 12h 采集瘤胃液，用于瘤胃细菌数量的检测。瘤胃液中总 DNA 提取采用的是珠磨 - 十六烷基三甲基溴化铵法（CTAB）[13]。瘤胃液中的总菌、普雷沃氏菌（*Prevotella*）、黄色瘤胃球菌（*Ruminococcus flavefaciens*）、白色瘤胃球菌（*Ruminococcus albus*）、产琥珀酸丝状杆菌（*Fibrobacter succinogenes*）、牛链球菌（*Streptococcus bovis*）、溶纤维丁酸弧菌（*Butyrivibrio fibrisolvens*）和原虫（*Protozoal population*）的相对含量采用营光定量 PCR，引物参考 Khafipour[14]，全序列引物见表 2。荧光定量所用仪器为 ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪，Real-time PCR SYBR Green I RT-PCR 试剂盒购自大连宝生物公司。Real-time PCR 扩增反应：95℃变性 7 min，55℃ 1 min，72℃ 3 min，35 个循环；72℃延伸 7 min。

根据测得的阈值循环（Ct），计算目标菌的相对菌群数量（Relative population size，RPS）[15]。RPS（%）$=2^{-(Ct\ 目标菌 - Ct\ 总菌)} \times 100$。

表 1　基础饲粮组成及营养水平（干物质基础，%）

项目	引物
总菌	5'GAAGAGTTTGATCATGGCTCAG
	3'CTGCTGCCTCCCGTAG
普雷沃氏菌	5'GCGAAAGTCGGATTAATGCTCTATG
	3'CCCATCCTATAGCGGTAAACCTTTG
黄色瘤胃球菌	5'CGAACGGAGATAATTTGAGTTTACTTAGG
	3'CGGTCTCTGTATGTTATGAGGTATTACC
白色瘤胃球菌	5'CCCTAAAAGCAGTCTTAGTTCG
	3'CCTCCTTGCGGTTAGAACA
产琥珀酸丝状杆菌	5'GTTCGGAATTACTGGGCGTAAA5'
	3'CGCCTGCCCCTGAACTATC
牛链球菌	5'CGATACATAGCCGACCTGAG
	3'TAGTTAGCCGTCCCTTTCTG
溶纤维丁酸弧菌	5'GGAGCAAACAGGATTAGATACCC
	3'TGACGACAACCATGCACCAC
原虫	5'GCTTTCGWTGGTAGTGTATT
	3'CTTGCCCTCYAATCGTWCT

1.4　数据统计分析

按照 4×4 拉丁方试验设计，数据采用 SAS 9.1.2 软件包中的 PROC MIXED 程序进行分析。模型如下：$Y_{ijk} = \mu+T_i+P_j+C_k+E_{ijk}$，式中，$Y_{ijk}$ 为因变量值；μ 为总

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

体平均值；T_i 为处理（i = 1-3）；P_j 为试验期（j = 1-3）；C_k 为试验牛（k = 1-3）；E_{ijk} 为残差值。P < 0.05 代表差异显著，结果以平均值 ± 标准误的形式表示。

2 结果与分析

2.1 地顶孢霉培养物对奶牛瘤胃发酵的影响

与 A 组相比，B、C、D 三组极显著提高了瘤胃中 NH_3-N 的浓度，而 C 组和 D 组提高了瘤胃液中总挥发酸（TVFA）和乙酸的浓度且差异极显著（P<0.01），其中 D 组极显著提高了瘤胃液中丙酸的浓度（P<0.01）并显著降低了瘤胃 pH（P<0.05），而丁酸浓度各组之间无显著性差异（P>0.05）。

表 3 地顶孢霉培养物对奶牛瘤胃发酵的影响

项目	A 组	B 组	C 组	D 组	SEM	P-value
pH	6.82^{a}	6.79^{ab}	6.81^{a}	6.76^{b}	0.01	<0.05
NH_3-N（mg/dL）	12.63^{c}	13.44^{b}	13.66^{b}	14.14^{a}	0.15	<0.01
总酸（mmol/L）	90.08^{c}	90.56^{c}	95.14^{b}	98.98^{a}	1.07	<0.01
乙酸（mmol/L）	57.72^{b}	57.49^{b}	61.28^{a}	62.94^{a}	0.95	<0.01
丙酸（mmol/L）	21.13^{b}	21.19^{b}	21.75^{b}	23.15^{a}	0.34	<0.01
丁酸（mmol/L）	8.87	9.39	9.61	10.24	0.49	0.3

注：同行肩标不同小写字母表示差异显著 (P<0.05)，有相同字母或无字母表示差异不显著（P>0.05）。下同。

2.2 地顶孢霉培养物对奶牛瘤胃菌群的影响

由表 4 可知，与 A 组相比，D 组可显著提高瘤胃中原虫的数量（P<0.05），而其他各组差异不显著（P>0.05）。试验组的黄色瘤胃球菌、白色瘤胃球菌和溶纤维丁酸弧菌的数量极显著高于 A 组（P<0.01），而白色瘤胃球菌和溶纤维丁酸弧菌各试验组之间差异不显著（P>0.05）。C 组和 D 组的普雷沃氏菌和牛链球菌数量极显著高于 A 组（P<0.01）。但与 A 组相比，各试验组的产琥珀酸丝状杆菌数量极显著降低（P<0.01）。

3 讨论

3.1 地顶孢霉培养物对瘤胃发酵的影响

评价瘤胃发酵效率一般采用瘤胃中 pH 值、氨态氮浓度、瘤胃内挥发性脂肪酸的浓度和微生物蛋白产量等内环境指标 [16]。这些指标受到诸多因素的影响，例如日粮的性质、唾液的分泌、饲料蛋白降解率、瘤胃微生物的结构等。其中，瘤胃微生物的结构与数量是决定瘤胃发酵功能的重要因素之一，瘤胃微生物对日粮中蛋白的降解速度与自身的合成速度会直接影响 NH_3-N 的浓度 [17]。有研究表明，瘤胃微生物活性较强时能产生相对较多的 VFA[16]，而挥发酸的产量是直接决定 pH 高低的因素。

表 4 地顶孢霉培养物对瘤胃微生物的影响

项目	A 组	B 组	C 组	D 组	SEM	P-value
目标菌的相对菌群数量（%）						
原虫数量	0.03b	0.03b	0.03b	0.04a	0.01	0.02
黄色瘤胃球菌	5.03c	6.89b	7.36ab	7.93a	0.52	<0.01
白色瘤胃球菌	3.78b	6.08a	6.25a	6.37a	0.64	<0.01
产琥珀酸丝状杆菌	0.46a	0.37bc	0.37c	0.28c	0.08	<0.01
普雷沃氏菌	3.81c	4.68bc	5.22b	6.32a	0.47	<0.01
牛链球菌	5.46c	7.31bc	9.38ab	9.81a	1.25	<0.01
溶纤维丁酸弧菌	4.86b	6.85a	6.81a	6.48a	0.45	<0.01

注：相对菌群数量：目标菌占总菌 16SrRNA 基因的百分数。

瘤胃 pH 值是一项评价瘤胃发酵状况的综合指标，主要受唾液、日粮组成、瘤胃中挥发性脂肪酸和可消化碳水化合物等诸多因素的影响。本试验中，D 组的 pH 值显著低于对照组，结合本试验其他指标测定结果分析，D 组的乙酸浓度也显著高于对照组，同时原虫和黄色瘤胃球菌、白色瘤胃球菌的数量也极显著高于对照组，所以 pH 降低的原因可能是由于地顶孢霉培养物促进了原虫和部分纤维分解菌的增殖，这几种菌的增加使日粮中纤维的降解得到有效的提高，而大量的纤维降解则产生大量的挥发酸，从而使 pH 降低。也有大量的文献证实，瘤胃液中 VFA 浓度增加是导致瘤胃 pH 下降的主要因素 [18, 19]。Yeo 等人的研究表明，具有与地顶孢霉培养物相同功能性成分的蛹虫草菌丝能够增加瘤胃体外产气量和挥发酸产量，降低瘤胃 pH[8]，这与本试验的结果相似。一般情况下，瘤胃 pH 值在 5.5~7.5 之间波动 [20]，本试验测得瘤胃 pH 值均在此范围内。

作为瘤胃微生物生长繁殖所需的主要氮源之一，瘤胃液 NH_3-N 浓度的变化反映了瘤胃细菌微生物对日粮中氮的降解速度以及瘤胃细菌微生物对 NH_3-N 利用速度之间的平衡关系 [21]。本试验中，试验组的 NH_3-N 的浓度极显著高于对照组，根据本试验的其他结果推测，试验组的普雷沃氏菌和原虫数量也高于对照组，所以 NH_3-N 提高的原因可能是由于地顶孢霉培养物促进了普雷沃氏菌和原虫的增殖，提高了日粮中蛋白质的降解速率。有研究表明，栖瘤胃普雷沃氏菌被认为是数量最多的蛋白降解菌 [22]。而原虫也是蛋白降解过程的重要参与者 [23]。地顶孢霉培养物含有丰富的蛋白质、氨基酸等营养成分。虫草添加剂目前已测定的成分包括虫草多糖、蛋白质和氨基酸、D- 甘露醇、脂肪和脂肪生物碱等 [4]。因此，日粮中添加地顶孢霉培养物可能提高了瘤胃中微生物可利用蛋白的浓度，从而使更多的蛋白质转化为 NH_3-N，使瘤胃内 NH_3-N 浓度提高。

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

瘤胃的发酵是反刍动物独特的营养生理功能，而VFA又是直接反映瘤胃发酵功能的重要指标。瘤胃VFA的产量主要来自进入瘤胃的饲料碳水化合物的发酵，是奶牛重要的能源物质，为瘤胃微生物的合成提供能量[24]。在本试验中，地顶孢霉培养物可极显著提高瘤胃中TVFA、乙酸和丙酸浓度，这可能与瘤胃中原虫和部分纤维分解菌和非纤维分解菌数量的增加有关。本试验中，试验组黄色瘤胃球菌和白色瘤胃球菌、普雷沃氏菌和原虫的数量显著提高，以上几种菌数量的增加可以改善瘤胃发酵功能，而改善瘤胃发酵功能可提高饲料营养物质的瘤胃降解速率[25]，从而产生大量的乙酸、丙酸等挥发性脂肪酸。有研究表明，TVFA的浓度和乙酸浓度的上升，说明瘤胃产VFA的微生物类群数量或者代谢能力提高，促进了碳水化合物的降解，使得瘤胃内环境发生变化[17, 21]。Yeo等[8]通过体外发酵试验发现蛹虫草菌丝能够显著提高体外产气量和挥发酸产量，这与本试验的结果相似。

3.2 地顶孢霉培养物对奶牛瘤胃菌群的影响

瘤胃内的微生物主要包括原虫和瘤胃细菌、真菌等。对于反刍动物来说，瘤胃微生物的数量和结构与粗饲料的消化利用有着十分紧密的联系。本试验结果表明，日粮中添加地顶孢霉培养物提高了部分纤维分解菌和非纤维分解菌的数量，这与本试验结果相似。但产琥珀酸丝状杆菌的数量却有所降低。已有研究表明，虫草素和虫草菌丝与某些次级代谢产物同样具有抑制产琥珀酸丝状杆菌的生长的作用[26, 27]，原因尚不明确。但这一结果证明了地顶孢霉培养物可调节瘤胃菌群的结构，为地顶孢霉培养物对瘤胃内环境的改善提供理论依据。Yeo等[9]通过体外发酵试验证明蛹虫草菌丝能够增加瘤胃内总微生物数量，并提高纤维分解菌数量和纤维酶活性。已有报道证明，虫草类物质及其功能性成分具有增加益生菌数量的潜力[28]。通过以上分析，可以推断日粮中添加地顶孢霉培养物能够提高奶牛瘤胃中部分纤维分解菌和非纤维分解菌的数量，可促进日粮中营养物质的分解，提高日粮在瘤胃中的发酵潜力，但有关地顶孢霉培养物对瘤胃微生物的作用机制尚不明确，有待进一步研究。

4 结论

（1）日粮中添加地顶孢霉培养物可降低瘤胃液pH，提高瘤胃中NH_3-N、TVFA、乙酸和丙酸的浓度，从而改善瘤胃内环境。

（2）日粮中添加地顶孢霉培养物可调节瘤胃部分微生物的相对菌群数量，本试验条件下，最适添加量为每头每天30 g。

参考文献

[1] 孙汉巨，李晓祥，丁琦，等 . 虫草饲料添加剂对蛋鸭生产性能及鸭蛋品质的影响 [J]. 安徽农业科学，2011，39（6）：3618-3620.

[2] 李苗云，葛长荣 . 中草药添加剂应用于畜禽的研究 [J]. 兽药与饲料添加剂，2003，8（2）：27-29.

[3] 中华人民共和国药典 1963 年版一部 [M]. 北京：人民卫生出版社，1964.

[4] 刘彦威，刘娜，刘利强 . 冬虫夏草有效成分的研究进展 [J]. 动物医学进展，2004，25（3）：51-53.

[5] 魏建忠，张玮，李郁，等 . 地顶孢霉培养物对保育仔猪生产性能及免疫水平的影响 [J]. 中国畜牧兽医，2009，36（2）：33-35.

[6] 曹国文，曾代勤，戴荣国，等 . 中药添加剂对生长猪肠道菌群与生产性能的影响 [J]. 四川畜牧兽医，2003，30（10）：19-20.

[7] WU W C，HSIAO J R，LIAN Y Y，et al. The apoptotic effect of cordycepin on human OEC-M1 oral cancer cell line[J]. Cancer Chemotherapy & Pharmacology，2007，60(1)：103-111.

[8] JOONMO Y，SHINJA L，SANGMIN L，et al. Effects of Cordyceps militaris Mycelia on In vitro Rumen Microbial Fermentation[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences，2009，22(2)：201-205.

[9] YEO J M，LEE S J，SHIN S H，et al. Effects of Cordyceps militaris Mycelia on Fibrolytic Enzyme Activities and Microbial Populations In vitro[J]. Asian Australasian Journal of Animal Sciences，2011，24(24)：364-368.

[10] SUN P, WANG J Q，DENG L F. Effects of Bacillus subtilis natto on milk production, rumen fermentation and ruminal microbiome of dairy cows[J]. Animal An International Journal of Animal Bioscience，2013，7(2)：216-222.

[11] 冯宗慈，高民 . 通过比色测定瘤胃液氨氮含量方法的改进 [J]. 畜牧与饲料科学，2010（6）：37-37.

[12] ERWIN E S，MARCO G J，EMERY E M. Volatile Fatty Acid Analyses of Blood and Rumen Fluid by Gas Chromatography[J]. Journal of Dairy Science，1961，44(9)：1768-1771.

[13] ZHONGTANG Y，MARK M. Improved extraction of PCR-quality community DNA from digesta and fecal samples[J]. Biotechniques，2004，36(5)：808-812.

[14] EHSAN K，SHUCONG L，PLAIZIER J C，et al. Rumen microbiome composition determined using two nutritional models of subacute ruminal acidosis[J]. Applied & Environmental Microbiology，2009，75(22)：7115-7124.

[15] 辛杭书，段春宇，张永根，等 . 饲粮中添加海南霉素对奶牛瘤胃微生物区系的影响 [J]. 动物营养学报，2012，24（11）.

[16] 王洪荣，秦韬，王超 . 青蒿素对山羊瘤胃发酵和微生物氮素微循环的影响 [J]. 2010.

[17] 刘彩娟，孙满吉，孙金艳，等 . 饲粮中添加复合益生菌对奶牛瘤胃发酵及纤维素酶活的影响 [J]. 动物营养学报，2011，23（5）：821-827.

[18] KRAUSE K M，OETZEL G R. Understanding And Preventing Subacute Ruminal Acidosis In Dairy Herds: A Review[J]. Animal Feed Science & Technology，2006，126(3)：215-236.

[19] KHAFIPOUR E, KRAUSE D O，PLAIZIER J C. A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation[J]. Journal of Dairy Science，2009，92(3)：1060-1070.

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[20] 刘大程，卢德勋，侯先志，等 . 不同品质粗饲料日粮对瘤胃发酵及主要纤维分解菌的影响 [J]. 中国农业科学，2008，41（4）：1199-1206.

[21] DEVANT M, FERRET A, GASA J, et al. Effects of protein concentration and degradability on performance, ruminal fermentation, and nitrogen metabolism in rapidly growing heifers fed high-concentrate diets from 100 to 230 kg body weight[J]. Journal of Animal Science，2000，78(78)：1667-1676.

[22] 冯仰廉 . 反刍动物营养学 [M]. 北京：科学出版社，2006.

[23] NOLAN J V. Implications of protozoa and fungi for the protein nutrition of ruminants - invited review[C]//Oecd/une International Symposium. 1989.

[24] 王丽娟，刘大程，卢德勋，等 . 日粮同时添加酵母培养物与延胡索酸二钠与对慢性酸中毒奶山羊瘤胃发酵和细菌数量的影响 [J]. 动物营养学报，2009，21（1）：40-40.

[25] 张学峰 . 外源寡糖在绵羊消化道内的降解、转化、利用和流通规律及其对瘤胃微生物区系、免疫和营养物质消化影响的研究 [J]. 2007

[26] AHN Y J，PARK S J，LEE S G，et al. Cordycepin: selective growth inhibitor derived from liquid culture of Cordyceps militaris against Clostridium spp[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry，2000，48(7)：2744-2748.

[27] YEON S H，KIM J R，AHN Y J. Comparison of growth-inhibiting activities of Cordyceps militaris and Paecilomyces japonica cultured on Bombyx mori pupae towards human gastrointestinal bacteria[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture，2006，87(1)：54-59.

[28] KOH J H，SUH H J，AHN T S. Hot-water extract from mycelia of Cordyceps sinensis as a substitute for antibiotic growth promoters[J]. Biotechnology Letters，2003，25(7)：585-590.

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net