



不同添加水平甜菊糖苷对绵羊体外产气参数及瘤胃发酵的影响

齐帅 焦婷 李雄雄 李淑艳 王虎宁 沙玉柱 赵生国

Effect of varying levels of stevioside supplementation on *in vitro* gas production and rumen fermentation in sheep

QI Shuai, JIAO Ting, LI Xiongiong, LI Shuyan, WANG Huning, SHA Yuzhu, ZHAO Shengguo

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2022-0907>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

辣木籽对奶牛体外产气量、瘤胃发酵以及瘤胃降解特性的影响

Study of *in vitro* gas production, rumen fermentation, and rumen degradation characteristics of *Moringa Oleifera* seed in dairy cows

草业科学. 2022, 39(11): 2442 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2021-0668>

槲皮素对肉牛体外瘤胃发酵及甲烷产量的影响

Effects of quercetin on *in vitro* rumen fermentation and methane production of beef cattle

草业科学. 2023, 40(1): 280 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2022-0152>

甜叶菊秆与玉米秸秆混合青贮品质和体外瘤胃发酵特性

Silage quality and *in vitro* rumen fermentation characteristics of stevia and corn stalks

草业科学. 2023, 40(2): 539 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2021-0555>

不同添加剂处理柞树叶青贮对延边黄牛体外发酵瘤胃降解率和微生物菌群的影响

Effects of silage of oak leaves treated with different additives on rumen degradation rate and microbial community of Yanbian cattle in *in vitro* fermentation

草业科学. 2023, 40(9): 2384 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2022-0602>

白酒糟中添加花生秧与玉米粉对其混合发酵品质和体外瘤胃降解率的影响

Effects of the addition of peanut vines and corn flour to distiller's grains on the mixed fermentation quality and rumen degradation rate *in vitro*

草业科学. 2024, 41(4): 975 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2022-0917>

体外法研究泡叶藻和羊栖菜对高精料下湖羊瘤胃发酵参数的影响

Effects of different *Ascophyllum nodosum* and *Sargassum fusiforme* levels on *in vitro* rumen fermentation parameters of a high-concentrate level diet in Hu sheep

草业科学. 2023, 40(9): 2373 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2022-0479>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

DOI: 10.11829/j.issn.1001-0629.2022-0907

齐帅, 焦婷, 李雄雄, 李淑艳, 王虎宁, 沙玉柱, 赵生国. 不同添加水平甜菊糖苷对绵羊体外产气参数及瘤胃发酵的影响. 草业科学, 2024, 41(6): 1429-1440.

QI S, JIAO T, LI X X, LI S Y, WANG H N, SHA Y Z, ZHAO S G. Effect of varying levels of stevioside supplementation on *in vitro* gas production and rumen fermentation in sheep. Pratacultural Science, 2024, 41(6): 1429-1440.

不同添加水平甜菊糖苷对绵羊体外产气 参数及瘤胃发酵的影响

齐帅¹, 焦婷¹, 李雄雄², 李淑艳¹, 王虎宁¹, 沙玉柱², 赵生国²

(1. 甘肃农业大学草业学院 / 草业生态系统教育部重点实验室 / 中-美草地畜牧业可持续发展研究中心, 甘肃兰州 730070; 2. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃兰州 730070)

摘要: 为研究绵羊日粮添加不同水平甜菊糖苷对养分降解和绵羊瘤胃发酵的影响, 共设 8 个处理, 即绵羊日粮中甜菊糖苷添加水平分别为 0 (CK 组)、0.01%、0.04%、0.07%、0.10%、0.15%、0.20% 和 0.30% (占日粮风干物质重), 利用体外产气法评估不同添加水平甜菊糖苷对绵羊瘤胃发酵及 48 h 养分降解的影响。结果表明: 各处理组产气量 (GP)、干物质降解率 (DMD)、挥发性脂肪酸 (VFA) 和甲烷 (CH₄) 产量均随瘤胃降解时间的延长而增加, 且在 48 h 时达到最大, pH 随瘤胃降解时间的延长而降低。12 h 后, 0.10% 组 GP 显著高于 CK 组 ($P < 0.05$)。24 h 时, 添加较低浓度甜菊糖苷的绵羊日粮 DMD 与 CK 组差异不显著 ($P > 0.05$), 而较高浓度 0.20% 和 0.30% 组的日粮 DMD 则较 CK 组分别降低了 9.71% 和 5.80% ($P < 0.05$)。降解 48 h 时, 各处理日粮的 DMD 和粗蛋白降解率 (CPD) 与 CK 组差异不显著 ($P > 0.05$)。随着发酵时间增加, 各处理瘤胃液氨态氮 (NH₃-N) 浓度介于 7.05~13.97 mg·dL⁻¹, 在瘤胃微生物活动的适宜浓度范围内。0.07% 组和 0.10% 组能够维持乙酸和总挥发性脂肪酸浓度于较高水平。综上, 绵羊日粮中最适宜的甜菊糖苷浓度为 0.07%~0.10%。

关键词: 甜叶菊; 甜味剂; 体外发酵; 模拟瘤胃; 瘤胃养分降解; 瘤胃发酵; 甲烷

文献标识码: A 文章编号: 1001-0629(2024)06-1429-12

Effect of varying levels of stevioside supplementation on *in vitro* gas production and rumen fermentation in sheep

QI Shuai¹, JIAO Ting¹, LI Xiongxiang², LI Shuyan¹, WANG Huning¹, SHA Yuzhu², ZHAO Shengguo²

(1. College of Pratacultural Science, Gansu Agricultural University / Key Laboratory for Grassland Ecosystem, Ministry of Education / Sino-US Grassland Animal Husbandry Sustainable Development Research Center, Lanzhou 730070, Gansu, China;

2. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China)

Abstract: We studied the effect of varying supplemental dietary stevioside levels on nutrient degradation and rumen fermentation in sheep. In this study, eight experimental sheep treatments were set up, with stevioside supplements at 0 (CK group), 0.01%, 0.04%, 0.07%, 0.10%, 0.15%, 0.20%, and 0.30% (based on the air-dried matter in the diet), and the rumen fermentation and nutrient degradation rates were evaluated for 48 h by an *in vitro* gas production method. The results showed that the gas production (GP), dry matter degradation rate (DMD), volatile fatty acid, and methane yields, in all treatments,

收稿日期: 2022-11-16 接受日期: 2023-09-04

基金项目: 甘肃省高校创新基金项目 (2022B-096); 甘肃省科技计划 (项目技术传销引导计划-鲁甘科技协作专题) 项目 (22CX2NA005); 南疆重点产业创新发展支撑计划项目 (2022DB017); 甘肃省教育厅研究生“创新之星”项目 (2023CXZX-665)

第一作者: 齐帅 (1998-), 男, 河南内乡人, 在读硕士生, 研究方向为饲料加工与反刍动物营养。E-mail: 1262489942@qq.com

通信作者: 焦婷 (1976-), 女, 甘肃靖远人, 副教授, 博士, 研究方向为饲料加工与反刍动物营养。E-mail: jiaoting207@126.com

increased with prolonged rumen degradation time, peaking at 48 h. However, pH decreased with prolonged rumen degradation time. After 12 h, the GP of the 0.10% group showed a significant increase compared to the CK group ($P < 0.05$). At 24 h, the DMD in the 0.20% and 0.30% groups was significantly lower than in the CK group ($P < 0.05$), with reductions of 9.71% and 5.80% ($P < 0.05$), respectively. Compared with the CK group, there were no significant differences in DMD and crude protein degradation rate of all other groups at 48 h ($P > 0.05$). With an increase in fermentation time, the content of ammonium nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) in the rumen fluid of each treatment ranged from 7.05~13.97 $\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$, which was within the appropriate concentration range for rumen microbial activity. The 0.07% and 0.10% groups maintained elevated levels of acetic acid and total volatile fatty acids. In conclusion, the optimal concentration range of stevioside in sheep diet was observed to be 0.07%~0.10%. These results provide a theoretical basis for adopting the appropriate stevioside supplementation levels in sheep production practices.

Keywords: *Stevia rebaudiana*; sugar substitute; *in vitro* fermentation; simulated rumen; rumen nutrient degradation; rumen fermentation; methane

Corresponding author: JIAO Ting E-mail: jiaoting207@126.com

甜叶菊 (*Stevia rebaudiana*) 又称为甜菊、甜草、糖草及甜茶等, 是一种多年生菊科草本植物^[1]。当前, 甜叶菊种植及提取加工的主要目的在于获取其叶片中富含的甜菊糖苷^[2]。目前, 我国已成为全球第一大甜叶菊种植国和甜菊糖生产国, 甜菊糖苷市场需求的逐渐增加也推动甜叶菊种植面积不断扩大^[3-4]。甜菊糖苷作为一类甜味剂, 其热量仅为蔗糖的 1/3, 但甜度为蔗糖的几百倍, 目前作为食品添加剂已被广泛应用于烘焙、乳制品、饮料等产品的生产中^[5]。

研究表明, 饲料中添加甜味剂能够改善饲料适口性, 促进动物采食, 提高动物生长性能^[6-7]。Wang 等^[8]研究发现饲料中添加甜菊糖苷能够提高断奶仔猪的日均采食量和平均日增重, 并且降低腹泻发病率。Han 等^[9]研究发现添加甜菊糖苷能够提高山羊采食量和中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维的表观消化率。也有研究发现, 饲料中添加甜菊糖苷能够改善老龄蛋鸡的日产蛋量、饲料转化率、蛋壳强度和蛋壳厚度, 增强生殖器官的抗氧化能力^[10]。饲料中添加甜菊糖苷可以提高镜鲤的生长性能、肝脏抗氧化能力和免疫功能^[11]。基础饲料中添加 1% 甜菊糖苷和 0.08% 有机硒, 能够提高韩牛生长性能、胴体性状和肉品质的质量^[12]。目前, 对于甜菊糖苷作为饲料添加剂在猪、鱼和禽类饲喂试验中有广泛的研究, 但在反刍动物中, 尤其关于甜菊糖苷添加水平的研究还严重不足。根据我国农业农村部 2019 年的第 194 号公告, 自 2020 年 7 月 1 日起, 饲料生产企业停止生产含有促生长类药物饲料添加剂(中药

类除外)的商品饲料。因此, 开发利用甜菊糖苷改善饲料品质和适口性, 从而提高动物采食量和对饲料的利用率, 提升畜产品产量与质量, 最终对促进畜牧产业的绿色发展、提高养殖业的经济效益以及向社会提供优质产品等均具有重要意义。本试验以甜菊糖苷为主要原料, 通过体外发酵试验, 研究评价不同添加水平甜菊糖苷对绵羊体外产气参数和瘤胃发酵的影响, 以期获得科学数据, 为饲料中选取最适宜的甜菊糖苷添加水平提供依据, 更好地指导生产实践。

1 材料与方法

1.1 供试材料

甜菊糖苷购自曲阜圣仁制药有限公司, 产品糖苷含量 $\geq 90\%$, 甜度 $\geq 280\%$ 。基础日粮在使用前用植物性粉碎机磨碎, 并过 0.425 mm 筛, 制备成干物质底物。

1.2 瘤胃液供体动物及瘤胃液的采集

瘤胃液来源于临夏回族自治州三甲集镇肉羊屠宰场。早晨屠宰后在不同位点采集 3 只绵羊瘤胃内容物, 混合倒入经预热达 39 °C 并通有 CO_2 气体的保温箱中, 迅速带回实验室, 经 4 层纱布过滤于接收瓶中, 置于 39 °C 水浴中保存, 期间持续通入 CO_2 气体。

1.3 试验日粮组成及营养水平

试羊饲料根据中华人民共和国农业行业标准肉

羊饲养标准 (NY/T816-2004) 育成公羊营养需要量 (体重 45 kg, 日增重 50 g) 配置而成, 为从兰州正大有限公司购买的该生理类群的 TMR 全混合日粮。日粮组成及营养水平如表 1 所列。

1.4 试验设计

试验分为 8 个处理组, 即 1 个试验对照组和 7 个试验组。对照组 (CK) 以日粮为基础, 不添加甜菊糖苷。试验组以日粮为基础, 分别添加占日粮 0.01%、0.04%、0.07%、0.1%、0.15%、0.2% 和 0.3% (以风干物质为基础) 的甜菊糖苷, 即 1 kg 全混合日粮分别添加甜菊糖苷 0.1、0.4、0.7、1.0、1.5、2.0 和 3.0 g。

1.5 体外发酵

称取 0.5 g 的 TMR 全混合日粮, 装于无纺布滤袋中, 用封口机进行封口, 放入 100 mL 产气管中, 将产气管放置在 39 °C 下预热 30 min, 然后再将采集的羊瘤胃液与人工培养液以体积比 1:2 混合均匀, 准确量取始终用 CO₂ 气体饱和的微生物培养混合液 30 mL 于产气管中, 将甜菊糖苷分别配制成

0.5、2、3.5、5、7.5、10 和 15 g·L⁻¹ 的溶液, 用移液枪吸取 0.1 mL 溶液到对应处理产气管中, 对照组加入 0.1 mL 蒸馏水, 排出产气管中气体, 用胶管和夹子封住产气管前端, 记录产气管初始读数 (V₀, mL)。在 39 °C 恒温水浴锅上放上自制 72 孔有机玻璃支架, 将产气管头朝下插入支架孔中培养 (水浴锅水面高度必须高于产气管培养液液面高度)。每组处理设 18 个重复, 样品培养时做 3 个空白样, 以消除试验误差。

1.6 测定指标与方法

在发酵过程中记录产气管 2、6、12、24、48 h 的刻度 (V_t, mL), 计算累计产气量 (gas production, GP)。在 2、6、12、24 h, 取出 3 个产气管, 迅速将产气管放入冰水浴中终止发酵。用蒸馏水将滤袋清洗干净, 自然晾干后, 转移至 65 °C 烘箱烘干至恒重后, 测定干物质降解率 (dry matter degradation rate, DMD)。48 h 发酵结束后, 取出剩余 6 个产气管, 测定 DMD 和粗蛋白降解率 (crude protein degradation rate, CPD), 产气管中的发酵液立即测定 pH, 经离心后测定氨态

表 1 试验饲料组成及营养水平 (风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets (air-dried basis)

配方组成 Formula composition	比例 Proportion/%	营养水平 Nutritional level	含量 Content
玉米 Corn grain	38.00	干物质 Dry matter (DM)/%	86.00
玉米胚芽粕 Corn germ mea	20.00	消化能 Digestive energy (DE)/(MJ·kg ⁻¹)	14.23
玉米芯粉 Corn cob flour	9.00	代谢能 Metabolic energy (ME)/(MJ·kg ⁻¹)	11.67
稻壳粉 Rice husk powder	8.00	钙 Calcium (Ca)/%	4.30
喷浆玉米皮 Sprayed corn husk	6.00	磷 Phosphorus (P)/%	1.90
玉米皮 Corn husk	5.00	粗蛋白质 Crude protein (CP)/%	9.40
棉粕 Cottonseed meal	3.00		
菜粕 Rapeseed meal	2.00		
豆粕 Soybean meal	3.50		
豆皮 Bean curd	3.50		
1%预混料添加剂 1% Premix additive ¹⁾	1.00		
食盐 Salt	1.00		
总计 Total	100.00		

¹⁾每千克预混料含有: VA 220 000 IU, VD 372 000 IU, VE 2 000 IU, D-生物素 40.0 mg, 烟酰胺 2 000.00 mg, Mn 710.00 mg, Zn 2 005.00 mg, Fe 830.00 mg, Cu 680.00 mg, Co 12.00 mg。

¹⁾Each kilogram of premix contains: VA 220 000 IU, VD 372 000 IU, VE 2 000 IU, D-Biotin 40.0 mg, Nicotinamide 2 000.00 mg, Mn 710.00 mg, Zn 2 005.00 mg, Fe 830.00 mg, Cu 680.00 mg, Co 12.00 mg。

氮 (NH₃-N) 和挥发性脂肪酸 (volatile fatty acid, VFA) 的含量。

GP 测定: 计算公式为 $GP_t = V_t - V_0$; 式中, GP_t 为样品在 t 时刻的产气量 (mL); V_t 为产气管 t 时刻读数 (mL); V_0 为产气管初始读数 (mL)。

瘤胃液 pH 测定: 滤袋取出后, 立即用 PB10 pH 计测定产气管中培养液的 pH。

营养物质降解率的测定: 瘤胃降解前后日粮样品粗蛋白采用凯氏定氮法^[13]测定。

干物质降解率 = (原样品重量 × 原干物质含量 - 残渣样品重量 × 残渣干物质含量) / (原样品重量 × 原干物质含量) × 100%;

粗蛋白降解率 = (原样品重量 × 原粗蛋白含量 - 残渣样品重量 × 残渣粗蛋白含量) / (原样品重量 × 原粗蛋白含量) × 100%。

NH₃-N 测定: 根据冯宗慈和高民^[14]比色法, 利用紫外分光光度计测定氨态氮含量, 并绘制氨态氮标准曲线, 再将数值代入计算。

VFA 测定: 采用安捷伦 7890B 气相色谱仪测定。色谱柱为 AT-FFAP 毛细管柱 (30 m × 0.32 mm × 0.50 μm), 进样口 (SSL) 温度为 250 °C; 检测器 (FID) 温度为 250 °C; 载气为高纯氮气 (99.999%), 总压力 100 kPa, 分流比为 5 : 1; 气体流速: 空气为 400 mL·min⁻¹; H₂ 为 35 mL·min⁻¹; N₂ 为 40 mL·min⁻¹; 进样量 1 μL; 升温程序: 120 °C 保持 3 min, 以 10 °C·min⁻¹ 升温至 180 °C, 保持 1 min。

CH₄ 的计算: 参照淡瑞芳等^[15]方法, 根据挥发酸浓度计算不同添加水平甜菊糖苷体外瘤胃 CH₄

产量 (mmol·L⁻¹), 计算公式为: CH₄ 产量 = 0.5 × 乙酸浓度 - 0.25 × 丙酸浓度 + 0.5 × 丁酸浓度。

1.7 数据处理与分析

用 Excel 2019 进行数据统计, 用平均值 ± 标准误表示测定结果, 采用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析 (ANOVA), 差异显著性用 LSD 法进行多重比较 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 甜菊糖苷不同添加水平下绵羊日粮体外发酵产气量变化

甜菊糖苷不同添加水平下, 日粮 GP 随着发酵时间的增加而升高 (表 2)。12 h 时, 0.10% 组和 0.15% 组 GP 显著高于 CK 组 ($P < 0.05$)。12 h 后, 随着时间的增加, 各组 GP 仍在持续上升, 0.10% 组产气量显著高于 CK 组 ($P < 0.05$)。48 h 时, 累计 GP 由大到小为 0.10% 组 > 0.15% 组 > 0.07% 组 > 0.30% 组 > CK 组 > 0.01% 组 > 0.04% 组 > 0.20% 组。

2.2 甜菊糖苷不同添加水平下绵羊日粮体外发酵干物质降解率变化

随瘤胃降解时间的延长, 日粮的 DMD 增加, 且在 48 h 达到最大 (表 3)。在前 12 h, 相比 CK 组, 添加甜菊糖苷 (12 h 时 0.01% 组除外) 有显著降低 DMD 的趋势 ($P < 0.05$), 在 24 h 时, 与 CK 组相比, 添加较低浓度甜菊糖苷的 DMD 差异不显著 ($P > 0.05$), 添加较高浓度 (0.20% 组和 0.30% 组) 甜菊糖

表 2 体外发酵各时间点的产气量
Table 2 Gas production at each time point *in vitro* fermentation

发酵时间 Fermentation time/h	甜菊糖苷添加水平 Stevioside addition level							
	0 (CK)	0.01%	0.04%	0.07%	0.10%	0.15%	0.20%	0.30%
2	10.55 ± 0.62a	9.52 ± 0.25ab	8.45 ± 0.60b	8.82 ± 0.50ab	9.50 ± 0.71ab	9.84 ± 0.60ab	8.64 ± 0.92ab	8.64 ± 0.61ab
6	27.48 ± 1.38ab	23.92 ± 2.02b	24.88 ± 1.46ab	26.98 ± 1.60ab	31.78 ± 2.08a	30.30 ± 1.56a	24.74 ± 1.40b	28.47 ± 1.43ab
12	43.53 ± 2.18b	41.27 ± 3.04b	43.35 ± 2.27b	43.04 ± 2.12b	50.93 ± 0.92a	50.78 ± 1.92a	45.80 ± 1.00ab	45.28 ± 2.42ab
24	72.14 ± 2.51bc	73.82 ± 3.01bc	74.38 ± 2.75abc	77.90 ± 2.25abc	82.30 ± 1.62a	80.14 ± 1.25ab	71.24 ± 4.49c	75.35 ± 1.82abc
48	95.20 ± 1.63b	95.15 ± 5.51b	93.80 ± 4.26b	96.28 ± 1.29ab	105.48 ± 1.61a	98.13 ± 2.26ab	93.50 ± 1.22b	95.58 ± 3.90b

mL

同行不同小写字母表示同一时间下甜菊糖苷不同添加水平之间差异显著 ($P < 0.05$), 下表同。

Different lowercase letters within the same row indicate significant differences between different levels of stevioside addition for the same time at the 0.05 level. This is applicable for the following tables as well.

表 3 不同添加水平甜菊糖苷体外发酵干物质降解率分析
Table 3 Dry matter degradation rate analysis of stevioside supplementation at different levels during *in vitro* fermentation

发酵时间 Fermentation time/h	甜菊糖苷添加水平 Stevioside addition level							
	0 (CK)	0.01%	0.04%	0.07%	0.10%	0.15%	0.20%	0.30%
2	34.42 ± 0.55a	32.34 ± 0.20b	30.76 ± 0.18b	31.92 ± 0.70b	28.41 ± 0.24c	32.18 ± 0.75b	32.11 ± 0.98b	27.89 ± 1.12c
6	41.97 ± 0.62a	39.40 ± 1.04b	34.32 ± 0.54d	35.80 ± 2.36bc	30.46 ± 1.56d	35.73 ± 0.78cd	35.68 ± 0.04cd	31.95 ± 0.08e
12	48.61 ± 1.36a	45.11 ± 2.19ab	43.76 ± 0.99bc	41.35 ± 2.22bc	43.43 ± 1.30bc	43.94 ± 1.83bc	40.17 ± 2.65c	42.03 ± 0.34bc
24	52.96 ± 0.46abc	55.18 ± 2.38a	54.23 ± 1.11ab	52.79 ± 1.58abc	51.34 ± 1.68bc	53.95 ± 0.52ab	47.82 ± 1.35d	49.89 ± 1.41d
48	62.86 ± 1.74ab	64.08 ± 1.65a	58.69 ± 1.46b	62.16 ± 2.67ab	62.78 ± 2.79ab	60.28 ± 3.71ab	58.71 ± 2.57b	58.46 ± 1.79b

苷的 DMD 差异显著 ($P < 0.05$), 分别降低了 9.71% 和 5.80%。48 h 时, 与 CK 组相比, 甜菊糖苷各浓度组的 DMD 差异均不显著 ($P > 0.05$)。

2.3 甜菊糖苷不同添加水平下绵羊日粮体外发酵粗蛋白降解率变化

48 h 时, CK 组和各添加甜菊糖苷组的 CPD 分别达到了 49.45%、50.69%、49.47%、49.25%、49.03%、49.59%、51.01% 和 48.57%, 添加甜菊糖苷对 CPD 影响不显著 ($P > 0.05$), 其中添加 0.20% 甜菊糖苷组 CPD 最高, 达到了 51.01%, 相比 CK 组提高了 3.15%。

2.4 甜菊糖苷不同添加水平下绵羊日粮体外发酵 pH 变化

发酵 2 h 和 24 h 时, 添加不同浓度的甜菊糖苷对瘤胃液 pH 无显著影响 (表 4)。发酵 6 h 时, 0.01% 组和 0.07% 组 pH 显著低于 CK 组 ($P < 0.05$), 其余各组 pH 均低于 CK 组, 但差异不显著。发酵 12 h 时, 0.07% 组、0.15% 组、0.20% 组和 0.30% 组 pH 显著低于 CK 组 ($P < 0.05$)。发酵 48 h 时, 0.20% 组和 0.30% 组 pH 显著低于 CK 组 ($P < 0.05$)。且随着时间的增

加, 瘤胃液 pH 呈下降趋势, 但均处于正常水平。

2.5 甜菊糖苷不同添加水平下绵羊日粮体外发酵 $\text{NH}_3\text{-N}$ 变化

6 h 和 24 h 时, 与 CK 组相比, 甜菊糖苷各浓度组的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度差异不显著 ($P > 0.05$) (表 5)。2 h 和 48 h 时, 0.10% 组 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度显著高于 CK 组 ($P < 0.05$), 分别提高了 21.54% 和 36.69%。随着发酵时间延长, 0.01%、0.04%、0.07% 和 0.10% 组 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度呈现出先降低后增加的趋势, 0.15%、0.20% 和 0.30% 组 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度呈现逐渐增加的趋势。

2.6 甜菊糖苷不同添加水平下绵羊日粮体外发酵挥发性脂肪酸变化

随瘤胃降解时间的延长, 瘤胃液 VFA 浓度逐渐增加 (表 6)。6 h 时, 0.01% 甜菊糖苷组乙酸浓度达到了 $19.97 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 显著高于 CK 组 ($P < 0.05$)。2 h 时, 0.15% 甜菊糖苷组丙酸浓度显著高于 CK 组 ($P < 0.05$)。各处理组异丁酸含量差异不显著。48 h 时, 0.30% 甜菊糖苷组丁酸、异戊酸和戊酸浓度分别达到了 6.48、1.32 和 $1.36 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 均显著高于 CK 组

表 4 不同添加水平甜菊糖苷体外发酵 pH 分析
Table 4 pH analysis of stevioside supplementation at different levels during *in vitro* fermentation

发酵时间 Fermentation time/h	甜菊糖苷添加水平 Stevioside addition level							
	0 (CK)	0.01%	0.04%	0.07%	0.10%	0.15%	0.20%	0.30%
2	6.80 ± 0.05a	6.81 ± 0.03a	6.78 ± 0.04a	6.81 ± 0.05a	6.83 ± 0.02a	6.79 ± 0.05a	6.77 ± 0.03a	6.75 ± 0.04a
6	6.61 ± 0.03a	6.42 ± 0.03c	6.56 ± 0.03ab	6.48 ± 0.04bc	6.57 ± 0.01ab	6.60 ± 0.03a	6.51 ± 0.04abc	6.51 ± 0.05abc
12	6.51 ± 0.02a	6.57 ± 0.01a	6.49 ± 0.02ab	6.47 ± 0.03b	6.49 ± 0.03ab	6.47 ± 0.03b	6.46 ± 0.03b	6.45 ± 0.03b
24	6.27 ± 0.08a	6.28 ± 0.04a	6.29 ± 0.06a	6.27 ± 0.07a	6.24 ± 0.11a	6.21 ± 0.04a	6.29 ± 0.07a	6.27 ± 0.04a
48	6.09 ± 0.04a	6.10 ± 0.03a	6.10 ± 0.05a	6.09 ± 0.04a	6.06 ± 0.05a	6.05 ± 0.01a	5.89 ± 0.04b	5.93 ± 0.03b

表5 不同添加水平甜菊糖苷体外发酵 NH₃-N 分析Table 5 NH₃-N analysis of stevioside supplementation at different levels during *in vitro* fermentation

发酵时间 Fermentation time/h	甜菊糖苷添加水平 Stevioside addition level							
	0 (CK)	0.01%	0.04%	0.07%	0.10%	0.15%	0.20%	0.30%
2	7.15 ± 0.22b	7.76 ± 0.56ab	8.51 ± 0.49a	8.02 ± 1.44ab	8.69 ± 0.30a	7.50 ± 0.36ab	7.05 ± 0.29b	7.54 ± 0.33ab
6	7.99 ± 1.01a	7.33 ± 0.48a	7.99 ± 0.81a	7.87 ± 0.27a	8.16 ± 1.31a	7.75 ± 0.11a	7.68 ± 2.03a	8.22 ± 0.44a
12	9.89 ± 0.42a	8.46 ± 0.47abc	8.27 ± 2.37abc	6.07 ± 0.42c	7.28 ± 1.67bc	10.09 ± 0.90a	9.33 ± 2.04ab	8.80 ± 0.40ab
24	11.67 ± 0.51a	11.17 ± 0.13a	10.15 ± 0.53a	10.55 ± 0.73a	10.88 ± 1.81a	11.05 ± 0.54a	9.35 ± 0.07a	10.09 ± 0.44a
48	10.22 ± 0.60c	12.08 ± 1.19abc	11.24 ± 0.42bc	12.63 ± 0.79ab	13.97 ± 0.74a	13.51 ± 0.66ab	13.62 ± 0.44ab	12.81 ± 0.70ab

mg·dL⁻¹

($P < 0.05$)。且随着甜菊糖苷添加量的增加,总酸浓度呈先降低后升高的趋势。

2.7 甜菊糖苷不同添加水平下绵羊日粮体外发酵 CH₄ 产量变化

随着发酵时间的延长,CH₄产量逐渐增加(表7)。根据各处理组瘤胃液VFA的生成量计算出的CH₄产量总体差异不显著,但添加甜菊糖苷有降低CH₄产量的趋势。

3 讨论

3.1 甜菊糖苷不同添加水平下绵羊日粮体外发酵产气量变化

体外产气法是基于饲料样品在人工瘤胃环境中的降解情况所产生的气体量,以及测定底物降解后的残余量和发酵产物生成量,可实现对饲料营养价值的评价^[16-17]。GP能够反映饲料可发酵程度和瘤胃微生物的活性,饲料营养价值越高,微生物发酵活性就越强,GP就越高,对反刍动物的促进作用就越明显^[18]。本研究中,不同时间各处理组产气速率先增加后减少,在24h后,各组产气趋于平缓。从体外发酵GP来看,添加0.07%~0.15%的甜菊糖苷能够提高日粮GP,其中任一时间点0.10%组均具有较高的GP,原因可能是添加0.07%~0.15%的甜菊糖苷促进了瘤胃微生物对发酵底物的利用效率,以0.10%效果最好。任莹等^[19]通过花生藤、木薯渣、柠檬酸渣和甜叶菊渣体外发酵的试验表明,4种原料24h产气量分别为93.50、106.25、117.25和54.33 mL。何力等^[20]研究发现,甜叶菊渣体外发酵产气量显著低于大豆(*Glycine max*)秸,具有较好的瘤胃厌

氧发酵性能。以上研究结果与本研究都表明,甜叶菊或其有效成分可以被反刍动物利用,至于生产实践中的利用有待进一步验证。

3.2 甜菊糖苷不同添加水平下绵羊日粮体外发酵营养物质降解率变化

瘤胃含有极其复杂的微生物体系,是反刍动物进行养分消化的主要场所,对反刍动物吸收营养物质起重要作用^[21]。DMD和CPD是评价瘤胃养分降解率的重要指标,可反映饲料在瘤胃中被微生物降解的程度^[22]。瘤胃环境的发酵除了底物因素,还受外源添加剂的影响^[23]。李雄雄等^[24]研究发现DMD随瘤胃降解时间的延长而增加,且在48h达到最大。本研究中,与CK组相比,在前24h,添加甜菊糖苷会降低日粮DMD,且高浓度的添加量对DMD的抑制作用更加明显,但48h时各处理的DMD和CPD均趋于一致。这可能是因为添加甜菊糖苷,短时间内会降低瘤胃微生物对碳水化合物的依赖,竞争抑制瘤胃微生物活性及瘤胃发酵,导致养分降解率降低,但不会影响营养物质的消化吸收。

3.3 甜菊糖苷不同添加水平下绵羊日粮体外发酵特性变化

瘤胃液pH是评价反刍动物瘤胃内发酵情况的关键指标,一般受日粮组成和性质、动物采食量的影响,能反映瘤胃微生物对发酵底物的利用情况^[25]。pH过高和过低都会影响瘤胃微生物的发酵,绵羊瘤胃内微生物正常活动的pH范围是5.4~7.5^[26]。本研究发现,相比CK组,高添加浓度组甜菊糖苷有降低瘤胃液pH的趋势,但各组瘤胃液pH在5.89~6.83内变动,均处于正常范围,说明添加低浓度甜

表 6 不同添加水平甜菊糖苷体外发酵挥发性脂肪酸分析
Table 6 Volatile fatty acids analysis of stevioside supplementation at different levels during *in vitro* fermentation

挥发性脂肪酸 Volatile fatty acid	发酵时间 Fermentation time/h	甜菊糖苷添加水平 Stevioside addition level									
		0 (CK)	0.01%	0.04%	0.07%	0.10%	0.15%	0.20%	0.30%		
乙酸 Acetic acid	2	17.02 ± 0.45a	17.16 ± 0.48a	16.62 ± 0.21a	16.48 ± 0.10a	16.74 ± 0.18a	16.31 ± 0.56a	16.24 ± 0.13a	16.07 ± 0.17a		
	6	16.95 ± 0.68b	19.97 ± 1.33a	17.90 ± 1.14ab	18.44 ± 0.62ab	18.87 ± 0.22ab	16.75 ± 0.79b	18.25 ± 0.4ab	19.37 ± 1.25ab		
	12	23.22 ± 0.23a	17.80 ± 2.90a	19.52 ± 3.02a	19.24 ± 3.34a	19.33 ± 1.15a	20.37 ± 4.01a	19.08 ± 1.29a	19.48 ± 1.39a		
	24	25.92 ± 2.49a	25.75 ± 2.94a	22.35 ± 2.40a	27.23 ± 3.98a	27.60 ± 1.56a	25.86 ± 0.54a	25.58 ± 3.14a	24.74 ± 3.36a		
	48	31.33 ± 1.67a	27.93 ± 0.19a	26.68 ± 1.11a	29.91 ± 0.52a	30.77 ± 3.31a	28.48 ± 2.22a	29.08 ± 1.45a	31.72 ± 1.59a		
丙酸 Propionic acid	2	5.17 ± 0.00b	5.18 ± 0.01ab	5.19 ± 0.00ab	5.18 ± 0.00ab	5.19 ± 0.00ab	5.20 ± 0.01a	5.18 ± 0.01ab	5.19 ± 0.01ab		
	6	5.18 ± 0.03a	5.20 ± 0.01a	5.17 ± 0.01a	5.17 ± 0.02a	5.19 ± 0.01a	5.20 ± 0.02a	5.24 ± 0.24a	5.21 ± 0.01a		
	12	5.22 ± 0.00a	5.16 ± 0.02b	5.20 ± 0.01ab	5.20 ± 0.01ab	5.18 ± 0.02ab	5.18 ± 0.03ab	5.18 ± 0.01ab	5.19 ± 0.00ab		
	24	5.22 ± 0.04a	5.24 ± 0.01a	5.21 ± 0.01a	5.23 ± 0.00a	5.22 ± 0.01a	5.23 ± 0.03a	5.22 ± 0.01a	5.22 ± 0.02a		
	48	5.23 ± 0.02a	5.23 ± 0.01a	5.26 ± 0.04a	5.22 ± 0.02a	5.25 ± 0.02a	5.23 ± 0.01a	5.24 ± 0.01a	5.23 ± 0.01a		
异丁酸 Isobutyric acid	2	0.47 ± 0.01a	0.47 ± 0.00a	0.46 ± 0.02a	0.47 ± 0.01a	0.47 ± 0.00a	0.48 ± 0.00a	0.48 ± 0.00a	0.48 ± 0.00a		
	6	0.48 ± 0.01a	0.51 ± 0.02a	0.49 ± 0.00a	0.50 ± 0.01a	0.50 ± 0.00a	0.48 ± 0.00a	0.48 ± 0.01a	0.50 ± 0.01a		
	12	0.56 ± 0.01a	0.49 ± 0.02a	0.52 ± 0.03a	0.55 ± 0.06a	0.53 ± 0.02a	0.51 ± 0.03a	0.53 ± 0.02a	0.55 ± 0.01a		
	24	0.63 ± 0.01a	0.63 ± 0.02a	0.60 ± 0.02a	0.62 ± 0.02a	0.65 ± 0.00a	0.65 ± 0.01a	0.63 ± 0.01a	0.62 ± 0.04a		
	48	0.74 ± 0.03a	0.75 ± 0.01a	0.74 ± 0.01a	0.73 ± 0.02a	0.75 ± 0.05a	0.79 ± 0.03a	0.77 ± 0.01a	0.78 ± 0.02a		
丁酸 Butyric acid	2	2.71 ± 0.15a	2.83 ± 0.02a	2.82 ± 0.02a	2.84 ± 0.02a	2.84 ± 0.03a	2.78 ± 0.05a	2.81 ± 0.01a	2.85 ± 0.04a		
	6	2.82 ± 0.05b	3.35 ± 0.24a	3.03 ± 0.12ab	3.09 ± 0.14ab	3.18 ± 0.10ab	2.96 ± 0.09ab	2.96 ± 0.17ab	3.24 ± 0.12ab		
	12	4.07 ± 0.17a	3.13 ± 0.35a	3.45 ± 0.50a	3.62 ± 0.67a	3.50 ± 0.21a	3.00 ± 0.72a	3.53 ± 0.27a	3.61 ± 0.09a		
	24	4.92 ± 0.16ab	4.82 ± 0.32ab	4.21 ± 0.36b	4.56 ± 0.26ab	5.29 ± 0.16a	4.90 ± 0.18ab	4.68 ± 0.21ab	4.43 ± 0.57ab		
	48	5.65 ± 0.33b	5.73 ± 0.10b	5.51 ± 0.03b	5.51 ± 0.06b	5.49 ± 0.31b	6.23 ± 0.38ab	5.96 ± 0.13ab	6.48 ± 0.13a		
异戊酸 Isobutyric acid	2	0.47 ± 0.02b	0.48 ± 0.01ab	0.48 ± 0.00ab	0.48 ± 0.00ab	0.48 ± 0.00ab	0.48 ± 0.00ab	0.49 ± 0.01ab	0.50 ± 0.01a		
	4	0.52 ± 0.02ab	0.54 ± 0.03a	0.50 ± 0.00ab	0.53 ± 0.01ab	0.51 ± 0.01ab	0.50 ± 0.01ab	0.49 ± 0.02b	0.53 ± 0.00ab		

续表 6
Table 6 (Continued)

挥发性脂肪酸 Volatile fatty acid	发酵时间 Fermentation time/h	甜菊糖苷添加水平 Stevioside addition level							
		0 (CK)	0.01%	0.04%	0.07%	0.10%	0.15%	0.20%	0.30%
异戊酸 Isobutyric acid	12	0.66 ± 0.03a	0.59 ± 0.05a	0.62 ± 0.05a	0.68 ± 0.15a	0.62 ± 0.03a	0.53 ± 0.07a	0.63 ± 0.01a	0.62 ± 0.01a
	24	0.84 ± 0.13a	0.88 ± 0.08a	0.81 ± 0.04a	0.86 ± 0.09a	0.86 ± 0.02a	0.84 ± 0.02a	0.89 ± 0.07a	0.76 ± 0.08a
	48	1.02 ± 0.05b	1.10 ± 0.03b	0.99 ± 0.00b	1.04 ± 0.07b	1.10 ± 0.02b	1.09 ± 0.07b	1.11 ± 0.02b	1.32 ± 0.05a
戊酸 Valeric acid	2	0.58 ± 0.01b	0.62 ± 0.01a	0.60 ± 0.01ab	0.61 ± 0.01ab	0.60 ± 0.00ab	0.60 ± 0.00ab	0.61 ± 0.00ab	0.61 ± 0.01a
	6	0.68 ± 0.02a	0.71 ± 0.04a	0.68 ± 0.02a	0.70 ± 0.00a	0.68 ± 0.01a	0.67 ± 0.03a	0.67 ± 0.01a	0.67 ± 0.02a
	12	0.83 ± 0.03a	0.70 ± 0.05a	0.74 ± 0.07a	0.79 ± 0.15a	0.74 ± 0.03a	0.78 ± 0.01a	0.74 ± 0.05a	0.74 ± 0.01a
	24	1.04 ± 0.03a	0.94 ± 0.05a	0.89 ± 0.04a	0.93 ± 0.03a	1.03 ± 0.01a	1.00 ± 0.03a	0.95 ± 0.02a	0.92 ± 0.10a
总酸 Total volatile fatty acid	48	1.24 ± 0.02bc	1.17 ± 0.04cd	1.25 ± 0.02bc	1.21 ± 0.03cd	1.12 ± 0.05d	1.33 ± 0.03ab	1.25 ± 0.00bc	1.36 ± 0.01a
	2	26.42 ± 0.63a	26.74 ± 0.47a	26.18 ± 0.19a	26.06 ± 0.07a	26.31 ± 0.21a	25.86 ± 0.57a	25.80 ± 0.12a	25.69 ± 0.16a
	6	26.63 ± 0.71c	30.28 ± 1.65ab	27.78 ± 1.20bc	28.43 ± 0.77abc	28.93 ± 0.30abc	26.57 ± 0.90c	31.76 ± 0.80a	29.52 ± 1.38abc
	12	34.56 ± 0.45a	27.87 ± 3.32a	30.05 ± 3.68a	30.08 ± 4.38a	29.90 ± 1.45a	30.38 ± 4.66a	29.69 ± 1.62a	30.19 ± 1.40a
24	38.57 ± 2.61a	38.26 ± 3.40a	34.06 ± 2.81a	39.42 ± 4.35a	40.64 ± 1.70a	38.46 ± 0.75a	37.96 ± 3.42a	36.68 ± 4.13a	
	48	45.20 ± 1.64ab	41.91 ± 0.13ab	40.42 ± 1.14b	43.61 ± 0.60ab	44.48 ± 3.61ab	43.16 ± 1.87ab	43.42 ± 1.34ab	46.89 ± 1.65a

表 7 不同添加水平甜菊糖苷体外发酵甲烷产量分析
Table 7 CH₄ production analysis of stevioside supplementation at different levels during *in vitro* fermentation

发酵时间 Fermentation time/h	甜菊糖苷添加水平 Stevioside addition level								mmol·L ⁻¹
	0 (CK)	0.01%	0.04%	0.07%	0.10%	0.15%	0.20%	0.30%	
2	8.57 ± 0.30a	8.70 ± 0.23a	8.43 ± 0.10a	8.36 ± 0.04a	8.49 ± 0.10a	8.25 ± 0.30a	8.23 ± 0.06a	8.16 ± 0.07a	
6	8.59 ± 0.35b	10.36 ± 0.79a	9.17 ± 0.59ab	9.48 ± 0.37ab	9.73 ± 0.14ab	8.56 ± 0.44b	8.38 ± 0.27b	10.00 ± 0.68ab	
12	12.34 ± 0.19a	9.18 ± 1.61a	10.19 ± 1.75a	10.13 ± 2.00a	10.12 ± 0.68a	10.39 ± 2.32a	10.01 ± 0.78a	10.25 ± 0.69a	
24	14.12 ± 1.27a	13.97 ± 1.62a	11.98 ± 1.36a	14.59 ± 2.11a	15.14 ± 0.86a	14.07 ± 0.36a	13.83 ± 1.67a	13.28 ± 1.96a	
48	17.18 ± 0.84a	15.52 ± 0.05a	14.78 ± 0.55a	16.40 ± 0.27a	16.82 ± 1.77a	16.05 ± 0.97a	16.21 ± 0.67a	17.79 ± 0.82a	

菊糖苷对瘤胃健康没有影响。张霞等^[27]研究发现随着发酵时间延长,瘤胃液 pH 呈降低趋势,与本研究结果一致。这可能是因为 VFA 的浓度升高造成的,因为 VFA 的浓度能够影响酸碱平衡,进而影响 pH。

瘤胃液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 是饲料含氮物质降解的最终产物,又是瘤胃微生物体系的氮源,能够反映反刍动物瘤胃氮的供应与利用情况^[28-30]。瘤胃液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度范围在 $6\sim 30\text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ 时不影响动物的正常生理活动^[31]。许丽卫等^[32]研究发现,山羊采食含有甜菊苷的饲料后,瘤胃 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度呈现出先降低后升高的趋势。本研究中添加低浓度甜菊糖苷的瘤胃液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度均呈现出先降低后升高的趋势,且均处于正常范围。这可能是因为添加低浓度甜菊糖苷后使得瘤胃液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 增加的速率小于消耗的速率。但随着微生物种群数量的增加, $\text{NH}_3\text{-N}$ 增加速率变快。而添加高浓度甜菊糖苷的 0.20% 组、0.30% 组和 CK 组 $\text{NH}_3\text{-N}$ 呈逐渐升高的趋势,其具体作用机理还不明确,需做进一步试验研究。

VFA 通过日粮中碳水化合物的降解产生,是反刍动物体内重要的能源供体,其所提供的能量达到反刍动物机体总能需要量的 70%~80%,同时具有维持瘤胃的内环境和抑制病原微生物生长的作用^[33-35]。饲料组成是影响 VFA 产生的主要因素,同时 VFA 吸收也受瘤胃液 pH、瘤胃上皮形态和饲料组成的影响^[36]。反刍动物的 CH_4 产量是评价反刍动物能量代谢的重要指标之一, CH_4 主要由产甲烷菌在瘤胃

发酵过程中利用代谢氢产生,同时细菌、原虫以及真菌产生的代谢氢传递给产甲烷古菌^[37]。 CH_4 是一种高能物质,有研究表明,在肉羊生产中,约有 8% 的总能转变为 CH_4 ,动物体 CH_4 的释放会造成饲料能量的损耗^[38-39]。许丽卫等^[32]在山羊日粮中添加甜菊糖苷,发现瘤胃液中丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸和总挥发性脂肪酸浓度等指标在各组间均无显著差异。本研究中,48 h 时 0.30% 甜菊糖苷组的丁酸、异戊酸和戊酸浓度显著高于 CK 组,表明饲料中添加高浓度的甜菊糖苷可能会影响微生物活性,进而影响动物体对能量的吸收利用,也可能与所取瘤胃液的肉羊品种和年龄有关。本研究中,添加甜菊糖苷对 CH_4 产量无显著影响,但在 6 h 后,添加甜菊糖苷试验组有降低 CH_4 产量的趋势,原因可能是添加甜菊糖苷会对瘤胃菌群产生影响,抑制了产甲烷菌的活性而使 CH_4 产量呈降低趋势。甜菊糖苷作为天然植物提取物,毒副作用小,在生产实践中作为饲料添加剂降低甲烷产量的机制需继续深入研究。

4 结论

通过在日粮中添加不同水平的甜菊糖苷发现,日粮中添加 0.10% 的甜菊糖苷能够显著提高产气量,0.07% 组和 0.10% 组能够维持乙酸和总挥发性脂肪酸浓度于较高水平,而添加高浓度甜菊糖苷的 DMD 和 pH 有降低的趋势。因此,在本研究条件下,日粮中适宜的甜菊糖苷添加水平为 0.07%~0.10%。

参考文献 References:

- [1] BOILEAU A, FRY J C, MURRAY R. A new calorie-free sugar substitute from the leaf of the stevia plant arrives in the UK. *Nutrition Bulletin*, 2012, 37(1): 47-50.
- [2] 韩佳慧,朱志玉,许盛龙,傅敏杰,吴慧敏,朱祝军,吴建国.甜菊糖苷样品分析纯化方法研究进展. *中国食品添加剂*, 2019, 30(10): 153-157.
HAN J H, ZHU Z Y, XU S L, FU M J, WU H M, ZHU Z J, WU J G. Research progress in purification methods for steviol glycosides testing in stevia sample. *China Food Additives*, 2019, 30(10): 153-157.
- [3] 缪晴,萨比哈·帕合尔丁,曾思瑛,潘琪芳.基于天然低共熔溶剂的甜叶菊中甜菊糖绿色提取方法及优化. *植物学报*, 2021, 56(6): 722-731.
MIU Q, Sabiha-Pahderding, ZENG S Y, PAN Q F. Green extraction method and optimization of steviosides from stevia rebaudiana by natural deep eutectic solvent. *Chinese Bulletin of Botany*, 2021, 56(6): 722-731.
- [4] 李玉娇,张宏彦.我国甜叶菊品种发展概述及前景. *河北农业科学*, 2021, 25(4): 79-81.

- LI Y J, ZHANG H Y. Overview and prospect of stevia varieties in China. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2021, 25(4): 79-81.
- [5] 韩仁娇, 蓝航莲, 王彩云, 侯占群. 天然甜味剂: 甜菊糖苷及其在食品中的应用. *食品与发酵工业*, 2021, 47(21): 312-319.
HAN R J, LAN H L, WANG C Y, HOU Z Q. Advances on natural sweetener stevioside and their application in food. *Food and Fermentation Industries*, 2021, 47(21): 312-319.
- [6] 李红卫, 彭倩倩. 饲用甜味剂的加工及其应用进展. *安徽农业科学*, 2014, 42(19): 6263-6264, 6284.
LI H W, PENG Q Q. Processing and application progress of feed sweetener. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2014, 42(19): 6263-6264, 6284.
- [7] ZHANG W W, HE H, GONG L, LAI W Q, DONG B, ZHANG L Y. Effects of sweetener sucralose on diet preference, growth performance and hematological and biochemical parameters of weaned piglets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2020, 33(5): 802-811.
- [8] WANG L S, SHI Z, SHI B M, SHAN A S. Effects of dietary stevioside/rebaudioside A on the growth performance and diarrhea incidence of weaned piglets. *Animal Feed Science and Technology*, 2014, 187: 104-109.
- [9] HAN X F, CHEN C X, ZHANG X L, WEI Y Q, TANG S X, WANG J R, TAN Z L, XU L W. Effects of dietary stevioside supplementation on feed intake, digestion, ruminal fermentation, and blood metabolites of goats. *Animals*, 2019, 9(2): 32.
- [10] JIANG J L, QI L N, DAI H J, HU C H, LYU Z P, WEI Q W, SHI F X. Dietary stevioside supplementation improves laying performance and eggshell quality through increasing estrogen synthesis, calcium level and antioxidant capacity of reproductive organs in aged breeder hens. *Animal Feed Science and Technology*, 2020(28): 1-14.
- [11] WANG J G, LI K F, WANG L S, XU Q Y. Effects of different levels of stevioside on growth performance, digestive enzyme activity, antioxidant capacity and gene expression of juvenile mirror carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 2021, 543: 737019.
- [12] SHIN Y G, RATHNAYAKE D, MUN H S, DILAWAR M A, POV S, YANG C J. Sensory attributes, microbial activity, fatty acid composition and meat quality traits of hanwoo cattle fed a diet supplemented with stevioside and organic selenium. *Foods*, 2021, 10(1): 129.
- [13] 张义顺. 植物生理学实验教程. 北京: 高等教育出版社, 2009.
ZHANG Y S. *Plant Physiology Experiment*. Beijing: Higher Education Press, 2009.
- [14] 冯宗慈, 高民. 通过比色测定瘤胃液氨氮含量方法的改进. *畜牧与饲料科学*, 2010, 31(Z1): 37.
FENG Z C, GAO M. Improvement of the method of determining the ammonia nitrogen content of rumen liquid by colorimetry. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2010, 31(Z1): 37.
- [15] 淡瑞芳, 张海涛, 龙瑞军, 党海生, 李国美. 季节变化对放牧藏系绵羊瘤胃发酵特性及产甲烷菌的影响. *西北农业学报*, 2013, 22(2): 1-6.
DAN R F, ZHANG H T, LONG R J, DANG H S, LI G M. Effects of seasonal shift on rumen methanogen and fermentation of grazing Tibetan sheep. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2013, 22(2): 1-6.
- [16] 宋志华, 宣晶晶, 任清长. 日粮中添加三丁酸甘油酯对瘤胃微生物体外发酵特性的影响. *安徽科技学院学报*, 2020, 34(4): 6-12.
SONG Z H, XUAN J J, REN Q C. Effects of dietary tributyrin supplementation on *in vitro* fermentation characteristics of rumen microbes. *Journal of Anhui Science and Technology*, 2020, 34(4): 6-12.
- [17] 金恩望, 周凌云, 卜登攀, 孙鹏, 姜雅慧, 李发弟. 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.
JIN E W, ZHOU L Y, BU D F, SUN P, JIANG Y H, LI F D. Research progress on the application of *in vitro* gas production technology on animal nutrition. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2012, 39(10): 128-133.
- [18] MENKE K H, RAAB L, SALEWSKI A, STEINGASS H, FRITZ D, SCHNEIDER W. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *The Journal of Agricultural Science*, 1979, 93(1): 217-222.

- [19] 任莹,唐兴,刘中流,邓会玲,张家威,赵胜军. 利用体外产气法评定反刍动物饲料的营养价值. 饲料工业, 2009, 30(23): 32-34.
REN Y, TANG X, LIU Z L, DENG H L, ZHANG J W, ZHAO S J. Assessment of the nutrition value of ruminant feed by *in vitro*. Feed Industry, 2009, 30(23): 32-34.
- [20] 何力, 计少石, 张志红, 王东升, 郭礼荣, 张国华, 丁建南. 穿心莲药渣和甜叶菊渣对羊瘤胃体外发酵的影响. 中国畜牧杂志, 2017, 53(7): 86-89.
HE L, JI S S, ZHANG Z H, WANG D S, GUO L R, ZHANG G H, DING J N. Effect of andrographis residue and stevia residue on sheep rumen by *in vitro* fermentation. Chinese Journal of Animal Science, 2017, 53(7): 86-89.
- [21] 杨梓曼, 聂春桃, 尚相龙, 陈环, 陈豪, 宋小珍. 日粮中添加广藿香油对肉牛瘤胃体外发酵特性的影响. 饲料工业, 2022, 43(15): 50-54.
YANG Z M, NIE C T, SHANG X L, CHEN H, CHEN H, SONG X Z. Effect of dietary supplementation of patchouli oil on rumen fermentation in beef cattle *in vitro*. Feed Industry, 2022, 43(15): 50-54.
- [22] 姬奇武, 韩汝旦, 董宽虎, 刘林, 张杰, 韩世洁, 尹雪红, 杨亚. 不同生长期白羊草的营养成分及绵羊瘤胃降解特性. 草地学报, 2015, 23(6): 1295-1302.
JI Q W, HAN R D, DONG K H, LIU L, ZHANG J, HAN S J, YIN X H, YANG Y. Nutrient contents and rumen degradation characteristics of bothriochloa ischaemum at different growth stages. Acta Agrestia Sinica, 2015, 23(6): 1295-1302.
- [23] 吴万成, 马涛, 李文娟, 刘娜, 陈国顺, 刁其玉. 白藜芦醇对不同类型底物体外产气和发酵参数的影响及其代谢产物的研究. 动物营养学报, 2020, 32(1): 321-333.
WU W C, MA T, LI W J, LIU N, CHEN G S, DIAO Q Y. Effects of resveratrol on *in vitro* gas production and fermentation parameters of different types of substrates and its metabolites research. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(1): 321-333.
- [24] 李雄雄, 焦婷, 赵生国, 秦伟娜, 高雪梅, 王正文, 吴建平, 雷赵民. 牛至精油与有机钴协同对青贮玉米秸秆降解及绵羊瘤胃发酵特性的影响. 草业学报, 2021, 30(11): 191-202.
LI X X, JIAO T, ZHAO S G, QIN W N, GAO X M, WANG Z W, WU J P, LEI Z M. Synergistic effect of oregano essential oil and organic cobalt on degradation characteristics of silage maize stalks and rumen fermentation of sheep. Acta Prataculturae Sinica, 2021, 30(11): 191-202.
- [25] 王远孝, 周根来, 廖志勇, 徐稳, 董其国, 王恬. 甜菊糖甙在断奶仔猪中的应用研究. 中国饲料, 2011(4): 29-31, 35.
WANG Y X, ZHOU G L, LIAO Z Y, XU W, DONG Q G, WANG T. Study on the application of steviolosides in weaned piglets. China Feed, 2011(4): 29-31, 35.
- [26] 邢星. 全混合日粮中添加酵母及葡萄糖对母羊生长性能、血清指标及瘤胃发酵的影响. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2021.
XING X. Effects of total mixed diet added with yeast and glucose on growth performance, serum indexes and rumen fermentation in ewes. Master Thesis. Hohhot: Inner Mongolia University, 2021.
- [27] 张霞, 焦婷, 马淑敏, 陈鑫, 王正文, 牧仁, 赵生国, 林伟山. 体外产气法评价不同比例玉米秸秆和甜叶菊秆混贮效果. 草原与草坪, 2023, 43(4): 43-50.
ZHANG X, JIAO T, MA S M, CHEN X, WANG Z W, MU R, ZHAO S G, LIN W S. Evaluation of feeding value for mixed silage of corn straw and stevia straw by *in vitro* gas production method. Grassland and Turf, 2023, 43(4): 43-50.
- [28] 郭晨阳, 张腾龙, 徐腾腾, 敖长金, 王丽芳. 复合植物提取物对荷斯坦奶牛体外瘤胃发酵的影响. 动物营养学报, 2020, 32(8): 3698-3707.
GUO C Y, ZHANG T L, XU T T, AO C J, WANG L F. Effects of compound plant extracts on rumen fermentation of Holstein cows *in vitro*. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(8): 3698-3707.
- [29] 张丽媛, 包美丽, 巨纪, 吴白乙拉, 魏曼琳. 反刍动物日粮中添加榆树叶对体外产气及发酵参数的影响. 饲料研究, 2021, 44(21): 104-107.
ZHANG L Y, BAO M L, JU J, WU B Y L, WEI M L. Effects of addition of elm leaves to ruminant diets on gas production and fermentation parameters *in vitro*. Feed Research, 2021, 44(21): 104-107.

- [30] SALTER D N, DANESHAVR K, SMITH R H. The origin of nitrogen incorporated into compounds in the rumen bacteria of steers given protein- and urea-containing diets. *British Journal of Nutrition*, 1979, 41(1): 197-209.
- [31] LENG R A, NOLAN J Y. Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, 1984, 67(5): 1072-1089.
- [32] 许丽卫, 韩雪峰, 谭支良. 甜菊苷对山羊采食和消化代谢的影响. //武汉: 中国畜牧兽医学学会动物营养学分会第十二次动物营养学术研讨会论文集, 2016: 574.
- XU L W, HAN X F, TAN Z L. Effects of steviosides on feed intake and digestive metabolism in goats. //Wuhan: Proceedings of the 12th Symposium on Animal Nutrition of the Animal Nutrition Branch of Chinese Association of Animal Science and Veterinary Medicine, 2016: 574.
- [33] GUILLOTEAU P, TOULLEC R, GRONGNET J F, PATUREAU-MIRAND P, PRUGNAUD J, SAUVANT D. Digestion of milk, fish and soya-bean protein in the preruminant calf: Flow of digesta, apparent digestibility at the end of the ileum and amino acid composition of ileal digesta. *British Journal of Nutrition*, 1986, 55(3): 571-592.
- [34] 唐德富, 袁玖, 王彦乾, 王燕娜, 王娟丽, 刘自强, 寇伟, 崔仲勇, 张泽岩, 赵祥民, 万欣杰. 玉米芯与苜蓿、精料对比对饲料组合效应的影响. *草业学报*, 2019, 28(6): 137-147.
- TANG D F, YUAN J, WANG Y Q, WANG Y N, WANG J L, LIU Z Q, KOU W, CUI Z Y, ZHANG Z Y, ZHAO X M, WAN X J. Evaluating using a gas technique *in vitro* of associative effects on digestibility of corn cob, alfalfa and concentrate in mixed ration. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(6): 137-147.
- [35] 王勇, 郭成亮, 辛淑荣, 李忠德. 饲料中添加苜蓿皂苷提取物对肉牛生长性能、养分表观消化率及瘤胃发酵性能的影响. *中国饲料*, 2020(17): 76-79.
- WANG Y, GUO C L, XIN S F, LI Z D. Effects of alfalfa saponin extract on growth performance, nutrient apparent digestibility and rumen fermentation performance of beef cattle. *China Feed*, 2020(17): 76-79.
- [36] 李洋, 高民, 胡红莲, 孙燕勇. 反刍动物瘤胃挥发性脂肪酸的吸收机制. *动物营养学报*, 2018, 30(6): 2070-2078.
- LI Y, GAO M, HU H L, SUN Y Y. Ruminant absorption mechanism of volatile fatty acids in ruminants. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(6): 2070-2078.
- [37] LAN W, YANG C. Ruminant methane production: Associated microorganisms and the potential of applying hydrogen-utilizing bacteria for mitigation. *Science of the Total Environment*, 2019, 654: 1270-1283.
- [38] 赵一广, 刁其玉, 刘洁, 姜成钢, 邓凯东, 屠焰. 肉羊甲烷排放测定与模型估测. *中国农业科学*, 2012, 45(13): 2718-2727.
- ZHAO Y G, DIAO Q Y, LIU J, JIANG C G, DENG K D, TU Y. Estimation and regression models of methane emissions from sheep. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(13): 2718-2727.
- [39] 武斌, 王新, 闫秋良, 赵中立, 马骏, 马惠海. 肉羊甲烷排放调控研究进展. *畜牧业环境*, 2020(10): 9-12, 26.
- WU B, WANG X, YAN Q L, ZHAO Z L, MA J, MA H H. Study on methane emission regulation of sheep. *Animal Industry and Environment*, 2020(10): 9-12, 26.

(责任编辑 魏晓燕)

如有印装质量问题, 请将原杂志寄回本刊编辑部, 由本部负责调换。