

硝酸盐对肉牛甲烷产量和生长性能的影响

孙雨坤¹ 闫晓刚² 班志彬² 杨华明² 赵玉民^{2*}

(1. 吉林农业大学 动物科学技术学院, 长春 130118;

2. 吉林农业科学院 畜牧科学分院, 长春 130033)

摘要 为研究硝酸盐对肉牛甲烷排放, 瘤胃发酵和生长性能的影响, 采用体内和体外试验。体外试验用单因素设计, 分为对照组, 1% 硝酸盐组和 2% 硝酸盐组, 试验重复进行 3 次; 在体内试验中, 选用 8 头草原红牛, 采用单因素随机分组设计, 分为对照组(体重(229.5±50.1) kg)和硝酸盐组((体重 232.3±37.7) kg), 每组 4 头。试验共 56 d, 包括 14 d 预饲期, 39 d 生长期以及 3 d 呼吸测热期。结果表明: 在体外试验中, 在 1% 和 2% 硝酸盐下甲烷量分别下降 15.2% 和 46.2%, 在体内试验中 1% 的硝酸盐可以抑制 28.5% 的甲烷产量, 且饲喂后 4 h 内抑制效果显著($P < 0.05$), 甲烷产量与干物质采食量之比以及甲烷能与总能比表示时分别下降 31.8%, 且对总挥发性脂肪酸产量有显著抑制效果($P < 0.05$), 但日增重、饲料转化率和营养消化率并未增加。硝酸盐可以持续有效地抑制甲烷, 但未对生产性能产生促进作用。

关键词 硝酸盐; 甲烷; 肉牛; 呼吸测热室; 生长性能

中图分类号 S823.9+2

文章编号 1007-4333(2017)07-0054-07

文献标志码 A

Effect of nitrate on the methane production and productivity of cattle

SUN Yukun¹, YAN Xiaogang², BAN Zhibin², YANG Huaming², ZHAO Yumin²

(1. College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

2. Branch of Animal Science, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract Aiming to study the effect of nitrate on methane yield, rumen fermentation and growth of cattle, *in vitro* and *in vivo* experiments were conducted. *In vitro* experiment was designed by single factor including control, 1% and 2% nitrate with 3 replicons. *In vivo* experiment was conducted on 8 cattle, which was single factor randomized design including no additives and 1% nitrate. The experiment was continued for 56 days, which was 14 d of dietary adaption period, 39 d of *ad-libitum* feeding growth and 3 d of 80% limited feed in chambers. The results showed that the methane productions were respectively decreased by 15.2% and 46.2% under the administrations of 1% and 2% nitrate in *in vitro* experiment. The methane production was declined by 28.5% in 1% nitrate at 4 h after feeding in *in vivo*. The reduction of methane/DMI and methane energy/gross energy was respectively 31.8%. Although there were no differences in daily weight gain and feed conversion ratio were not different between treatments and control, nitrate significantly inhibited VFA production. In conclusion, nitrate effectively restrained methane, while had no positive impact on production performance.

Keywords methane; nitrate; cattle; respiratory chambers; growth performance

反刍动物瘤产生的甲烷占到了动物总甲烷产量的 90% 以上, 不但影响气候变化^[1], 同时也是动物能量的一种损失形式^[2]。目前大众对畜产品的需求越来越高^[3], 温室效应也得到了更多关注, 许多报道

也明确了多种甲烷抑制方法。瘤胃内产生甲烷的过程是通过甲烷菌增加对氢气的利用, 促进了二氧化碳和氢气的反应^[4]。在瘤胃内的厌氧环境下, 硝酸盐利用氢气的的能力比二氧化碳利用氢气的的能力更

收稿日期: 2016-05-30

基金项目: 优质高档肉牛选育技术合作研究与开发(2014DFA32080)

第一作者: 孙雨坤, 硕士研究生, E-mail: sun_yukun@126.com

通讯作者: 赵玉民, 研究员, 博士生导师, 主要从事反刍动物营养研究, E-mail: zhaoy-m-02-12@vip.163.com

强,从而抑制了甲烷的产生^[5]。虽然大量饲喂硝酸盐会使体内沉积不利于反刍动物营养需要的亚硝酸盐^[6],但是浓度低于2%的硝酸盐不但不会对动物产生有害性^[7-8],还可以调节动物的血液流量、粘液分泌和肠道菌群结构^[9-10]。许多研究运用呼吸测热室法,探究了硝酸盐对肉羊、奶牛和肉牛的甲烷产量和生长性能的影响,这些研究结果证明了硝酸盐可以长期(90 d)有效抑制甲烷的产生^[11-13]。然而,硝酸盐对肉牛全天甲烷抑制效果的持续性并不清楚,减少的甲烷能量是否可以被肉牛所利用也并不明确。因此,本试验通过体外法和呼吸测热室法,探究硝酸盐对肉牛甲烷抑制的有效性和持续性,以期为提高反刍动物的能量利用率提供参考。

1 材料与方 法

1.1 体外试验

体外试验采用单因素设计,分为3组,包括对照组(0添加);1%试验组(添加1%硝酸盐)和2%试验组(添加2%硝酸盐)。每次试验各处理组设有2个重复,试验共重复进行3次,每次试验发酵12 h。试验所用供试牛选自吉林省农业科学院畜牧分院提供的安装有永久性瘻管的3头草原红牛(500±30) kg,供试牛饲喂的基础日粮精粗比为3:7(表1),试验发酵底物与供试牛基础日粮一致。于

每日晨饲后2 h抽取约800 mL瘤胃液,混合后装入保温瓶中,用4层纱布过滤分装在6个单独的发酵罐内,每个发酵罐加入50 mL瘤胃液,并加入100 mL缓冲液^[14],同时通入氮气。将发酵罐放入水浴摇床来模拟瘤胃发酵状态,联通氮气和自定义分析仪进行气体的采集,并通过分析仪内的甲烷传感器和氢气传感器测定气体浓度,传感器读数将直接上传至位于控制室的电脑软件中。试验结束后,收集各个发酵罐内的瘤胃液5 mL,并置于-20℃低温保存,用于测定挥发性脂肪酸;再收集1 mL发酵瘤胃液并加入5 mL浓度为4%的甲醇,利用电子显微镜放大至400倍观察原虫数量。

1.2 动物试验

体内试验采用单因素随机分组设计,试验动物由吉林省农业科学院畜牧分院提供,选用8头12月龄、平均体重(230.9±44.4) kg的草原红牛,按照平均体重一致的原则随机分为2组,每组4个重复。对照组平均体重(229.5±50.1) kg,饲喂不含添加剂的基础日粮(表1;NRC,2000),试验组(232.3±37.7) kg在基础日粮上添加1%的硝酸盐(1.37%硝酸钠),在试验期内,每隔14 d对试验动物称重1次,为减少误差,称重当日重复称重2次。试验所用硝酸钠采购自天津市希尔斯化工有限公司,含量99%,级别为分析纯。

表1 基础日粮配方*

Table 1 Ingredient composition of diet

原料 Ingredient	ω(配比)/% Ratio	营养成分 Composition	含量 Content
玉米	57.5	ω(干物质)/% DM	89.20
膨化豆粕	13.8	ω(粗蛋白)/% CP	15.47
酒糟	12.2	ω(赖氨酸)/% Lys	0.53
棉籽粕	6.9	ω(钙)/% Ca	1.21
玉米胚芽	5.5	ω(磷)/% P	0.62
食盐	0.5	综合净能/(MJ/kg) NemF	7.19
石粉	1.8	肉牛能量单位 RND	0.90
磷酸氢钙	0.8		
预混剂	1.0		

注: * 试验组日粮是在基础日粮上添加1%的硝酸钠,其混合营养成分并未分析。

Note: *, the supplement of nitrate treatment is 1% based on the dairy of control treatment, but no calculation for mixed nutrition.

1.2.1 饲养试验

试验共进行 56 d, 包括 14 d 的预饲期, 39 d 的生长试验期和 3 d 呼吸测热期。基础日粮的精粗比为 3:7, 每日 7:00 和 19:00 进行饲喂。生长试验为自由采食, 根据前 1 d 的采食量对每天的投喂量进行调整。对照组 ($n=4$) 的日粮中均匀倒入 200 mL 纯净水, 试验组 ($n=4$) 的日粮中均匀倒入混合有日粮 1% 硝酸钠的 200 mL 纯净水。试验的全部时期每个试验动物被单独固定在独立的牛栏内。

1.2.2 消化试验

本试验利用酸不溶灰分法^[15]测定饲料样品和全部 8 头牛的粪便样品中的中性洗涤纤维(NDF)、蛋白质和脂肪的消化率。饲料与粪便样品的采集与试验动物称重同时进行。全部的样品在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷冻保存。在中国农业科学院草原研究所测定样品的 NDF、脂肪和干物质含量。在 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下将样品烘干至恒重测定其干物质含量; 脂肪由高效索氏提取器 (Soctec 2050, foss, Sweden) 进行测定; 利用全自动纤维分析仪 (2 000 I, Ankom, USA) 进行 NDF 测定。在内蒙古农业大学生态学院利用杜马斯燃烧法测定蛋白质含量。

1.2.3 呼吸测热试验

呼吸测热试验在吉林省农业科学院畜牧分院的能量代谢实验室进行。在试验期的最后 3 d, 对照组和试验组中各随机选择 3 头试验牛 ($n=6$), 组间交替放置在 6 个开放循环式呼吸测热室(呼吸室)内, 进行为期 3 d 的呼吸测热试验, 其中第 1 天为适应期, 后 2 d 为试验期。每日 7:00 和 19:00 打开呼吸室 21 min, 为保证试验动物的能量摄入相等且采食完全, 进行 80% 限制饲喂。限饲期的饲喂量为全部试验动物前 3 d 平均采食量的 80%, 3 d 限饲期内采食量相同且各试验动物采食量相同。

呼吸室建在室内, 为确保呼吸室与户外空气相通, 利用大型旋涡风机使室内外空气循环流通。呼吸室联通户外的循环气流通气量由浮子流量计控制, 由于各试验动物的体重不尽相同, 且二氧化碳浓度变化更为灵敏, 各呼吸室内的循环气流量大小由二氧化碳浓度决定。统一在呼吸测热试验第 1 天试验动物饲喂 2 h 后, 以各呼吸室内的最高二氧化碳 $4\ 500\sim 5\ 000\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 为标准, 确定在此标准范围下的循环气流量。每个呼吸室的气体浓度每隔

21 min 循环采集 1 次, 循环过程中包括 3 min 的户外气体浓度采集和 18 min 的各呼吸室气体浓度采集, 单独呼吸室的甲烷浓度被假设在其循环间隔内 (21 min) 相同。每个呼吸室内的采气时间为 3 min, 其中包括 2.5 min 的气体排气(进分析仪管道内的上一循环余留气体)时间, 0.5 min 的气体收集和分析时间。各呼吸室之间分析气体的转换由数据采集控制仪控制的气路转接器完成, 采集到的气体通过分析仪中的甲烷传感器、二氧化碳传感器和氢气传感器进行分析, 可直接测得各气体浓度, 并将分析数据直接传到控制室内的电脑专用软件中。在试验开始前与结束后对该设备进行校准, 校准用标准气体含量为氧气 $212\ \text{g}/\text{kg}$, 二氧化碳 $3\ 440\ \mu\text{g}/\text{kg}$, 甲烷 $927\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。呼吸室容积约为 $23\ \text{m}^3$, 平均温度设定在 $22\text{ }^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 67%。

1.3 统计分析

数据整理采用 Excel 2007 进行, 采用 SPSS 22 统计软件将试验所得数据进行单因素方差分析和单因素一般线性模型分析, 平均值的多重比较采用 Duncan 氏法进行, 显著水平为 $P<0.05$, 极显著水平为 $P<0.01$ 。并用 S. E. D 表示标准差, P -value 表示假定值。

2 结果

2.1 硝酸盐对瘤胃体外发酵的参数(VFA、原虫和 pH)和产气量的影响

由表 2 可知, 反刍动物日粮中添加硝酸盐影响了瘤胃的发酵。硝酸盐在 1% 和 2% 下均极显著降低 ($P<0.01$) 了甲烷产量, 分别下降了 15.2% 和 46.2%, 但只在 2% 下显著提高 ($P<0.01$) 了氢气产量。硝酸盐在 2% 显著降低 ($P<0.05$) 了 pH, 同时也抑制了瘤胃的发酵和原虫数量。随着硝酸盐浓度的增大极显著减少了丙酸和丁酸产量, 但乙酸仅在 $20\ \text{g}/\text{kg}$ 下降低了 3.2%, 同时乙丙酸比例随着硝酸盐的添加水平提高而增加。

2.2 硝酸盐对生长性能和营养消化率的影响

表 3 所示, 1% 的硝酸盐并未对动物的日增重和饲料转化率产生任何影响, 仅在第 28~39 天时因采食量的增加而提高了日增重。在第 28~39 天的阶段中, 硝酸盐提高了 15.4% 的蛋白质消化率, 而脂肪和 NDF 消化率并没有明显变化, 全部的营养消化率随着饲喂时间的不断延长而升高。

表 2 体外发酵 12 h 后的甲烷产量、挥发性脂肪酸产量、原虫数量和 pH

Table 2 Methane production, pH, protozoa, VFA concentration and proportions after *in vitro* incubation

项目 Item	对照组 Control	1%硝酸盐 1% nitrate	2%硝酸盐 2% nitrate	S. E. D	P 值 P-value
甲烷/(ml/L)	21.97 a	18.63 b	11.81 c	4.52	<0.001
氢气/(ml/L)	0.92 a	0.62 a	1.69 b	0.51	0.001
总挥发性脂肪酸/(mmol/L)	54.75 a	53.90 a	50.64 b	1.94	<0.001
乙酸/(mmol/L)	38.72 a	38.99 a	37.48 b	0.75	0.003
丙酸/(mmol/L)	10.35 a	9.21 b	8.59 c	0.82	0.001
丁酸/(mmol/L)	5.68 a	5.04 b	4.58 c	0.49	<0.001
乙酸/丙酸	3.75 a	4.40 b	4.51 b	0.42	0.016
原虫/($\times 10^{-4}$ cfu/mL)	5.52 a	4.48 ab	2.44 b	1.63	0.028
pH	6.40 a	6.49 ab	6.58 b	0.08	0.098

注：同行数字不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)，相同字母或无字母表示在 0.05 水平上无显著差异。下表同。

Note: Values with different letters within same row represent significantly differences ($P < 0.05$). The same below.

表 3 硝酸盐对营养物质代谢的影响^①

Table 3 Effect of nitrate on nutrient metabolism

项目 Item	1~14 d		15~28 d		28~39 d		S. E. D	P-value ^②		
	对照	硝酸盐	对照	硝酸盐	对照	硝酸盐		Tre	Time	Tre×Time
	Control	Nitrate	Control	Nitrate	Control	Nitrate				
干物质采食量/(g/d)	7 704 a	7 533 a	8 040 a	8 622 a	10 368 b	9 592 b	1 414.36	0.784	0.001	0.461
日增重/(g/d)	848 a	841 a	938 a	978 a	1 162 b	1 099 b	196.95	0.892	0.014	0.846
饲料转化率 ^③	9	9	9	9	9	9	1.07	0.856	0.964	0.859
蛋白质消化率/(g/kg)	479 a	519 a	658 b	691 b	552 Ac	637 Bc	87.87	0.143	<0.001	0.436
脂肪消化率/(g/kg)	516 a	559 a	574 ab	682 ab	647 b	676 b	104.87	0.132	0.043	0.675
NDF 消化率/(g/kg)	609 a	584 a	663 b	676 b	660 b	709 b	71.82	0.652	0.033	0.543

注：①被测定的蛋白质、脂肪和 NDF 消化率为第 14 天、第 28 天和第 39 天的样品。②Tre=处理组；Time=时间组；Tre×Time=处理组×时间组。③饲料转化率=干物质采食量/日增重。④A、B 代表处理组之间的显著水平，a、b、c 代表时间组之间的显著水平。

Note: ①Sample-collecting time points for protein, fat and NDF are 14th, 28th and 39th day, respectively. ②Tre=treatment, Tre×time=treatment×time. ③Feed conversion ratio=DMI/DG. ④The capital letters represent the significant differences, the lowercase letters represent the significant differences.

2.3 硝酸盐对甲烷产量的影响

由表 4 可知，每天可以抑制 28.5% 的甲烷产量，以每千克干物质采食量产生甲烷量和甲烷能比总能表示时甲烷下降 31.8%。并且由图 1 所示，在饲喂后 4 h 内，硝酸盐显著降低了甲烷产量，在饲喂

后 2~3 h 对照组甲烷浓度达到最高峰，同时硝酸盐组的甲烷浓度被降低了 65.6%，此后不断下降；而硝酸盐组在 5~6 h 甲烷浓度达到最高峰，此时与对照组相比并无显著变化，之后硝酸盐对甲烷产量没有显著影响。

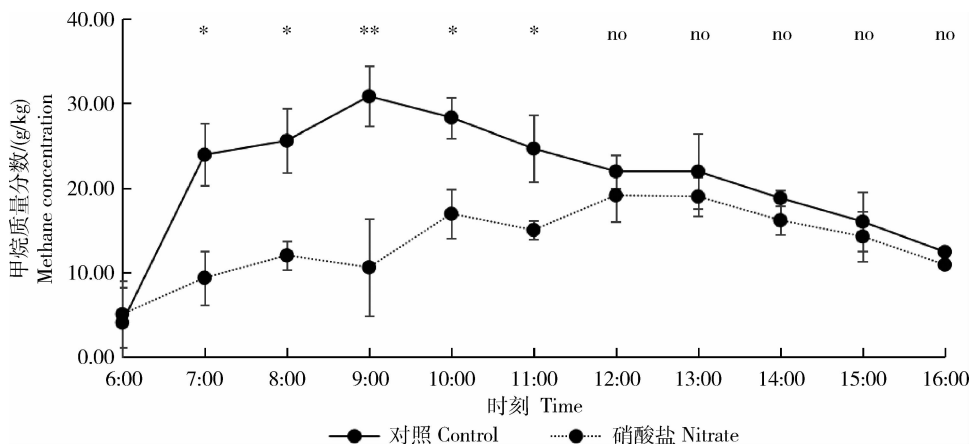
表4 硝酸盐对甲烷产量的影响^①

Table 4 Effect of nitrate on methane production

项目 Item	对照 Control	硝酸盐 Nitrate	S. E. D	P-value
动物体重/kg	269	278	45.38	0.792
采食量/(kg/d)	6.6	6.8	0.51	0.511
总能/(MJ/d)	120.79	126.85	7.71	0.244
甲烷/d	130.69 a	93.39 b	25.63	0.012
甲烷/采食量	19.38 a	13.21 b	3.82	0.003
甲烷能/(MJ/d)	7.29 a	5.21 b	1.43	0.012
甲烷能/总能	6.03 a	4.11 b	0.01	0.003

注:①呼吸测热试验各组的试验动物数量为3头,共6头。所有试验动物的投喂量为呼吸测热试验前3d全部试验动物的平均采食量的80%。

Note:①Three cattle in each methane measurement treatment group, 6 in total. Limited feed during chamber period is 80% of the average ad-libitum intake of all cattle in 3 days before methane.



①体样本为呼吸测热试验期内各动物7:00—16:00的甲烷浓度。时间节点上的甲烷浓度为1小时内的平均值。②符号代表时间段内的显著性,具体为:** $P < 0.01$; * $0.01 < P < 0.05$; no表示效果不显著。

①Gas sample is methane concentration measured at 7:00 to 16:00 during chambers period. Every value is average value of methane concentration during one hour. ②Symbols indicate the significance of effect of all treatment on methane production at the different time point after feeding: **, $P < 0.01$; *, $P < 0.05$; no = not significant.

图1 饲喂10h内硝酸盐对甲烷产量的影响

Fig. 1 Effect of nitrate on methane production after feeding 10 hours

3 讨论

3.1 硝酸盐对甲烷产量的影响

本试验验证了硝酸盐在肉牛体内对甲烷抑制效果显著,无论是单位干物质采食量产生的甲烷(g/kg,DMI)还是总的甲烷产量均有明显降低,并且第1次在肉牛中证明了饲喂硝酸盐后4h内可以有效持续地抑制甲烷的生成。这一结果与Van Zijderveld在奶牛中得到的结果相类似^[13],同样在

添加硝酸盐饲喂后5h内显著降低了甲烷产量。

之前的报道^[16]中已经证明了硝酸盐可以作为氢电子受体被还原成氨,这一过程与甲烷菌利用氢电子生成甲烷的过程相竞争,从而减少了甲烷的产生。本试验中平均每千克干物质中含有10g硝酸盐,从理论讲,1mol硝酸盐可以接受4mol氢分子,相当于每饲喂100g硝酸盐就可以减少25.8g的甲烷^[9],所以假设每10g硝酸盐完全利用氢分子,理论上可以抑制2.58kg(DMI)甲烷的产生。但是本

试验中1%的硝酸盐降低了6.17 kg(DMI)的甲烷产量,这一结果暗示出硝酸盐利用氢分子只能降低部分甲烷,另外由于存在氢气的损失,硝酸盐被还原成氨的效率可能会更低。综合瘤胃内甲烷生成的途径,包括对甲烷生成底物的影响,对相关酶类的影响以及对产甲烷微生物的影响^[17],硝酸盐对产甲烷微生物的抑制可能是另一重要原因。事实上,原虫也是瘤胃产生甲烷的重要原因之一^[18]。通过硝酸盐的还原产物亚硝酸盐对包括原虫在内的瘤胃微生物的毒害作用^[19],硝酸盐可以显著抑制原虫。从体外试验可以看出,随着硝酸盐浓度的增加,原虫数量减少,甲烷浓度也随之降低。同时在Sara等^[20]的试验中也证明了亚硝酸盐对甲烷的显著抑制效果,在其体外试验中添加2 mmol的亚硝酸盐后,甲烷产量被抑制了98.4%。然而,本试验中的甲烷抑制效率为239%(实际甲烷抑制产量/理论抑制产量:6.17/2.58),同样在Hulshof等^[11]的肉牛试验中,硝酸盐对甲烷抑制效率为190%,而Van Zijderveld在肉羊日粮中添加硝酸盐的效率为89%,并且饲喂后的显著抑制效果长达12 h^[7];在Nolan等^[8]的肉羊试验中添加4%硝酸盐的抑制效率为78%。物种间不同结果的原因可能是相比在肉羊体内,硝酸盐在肉牛体内对氢分子的利用效率更高,其原因有待进一步验证。

3.2 硝酸盐对生长性能的影响

甲烷能是能量损失的一种表现形式^[2],本试验中添加硝酸盐可以降低31.8%的甲烷能与总能比,理论上减少损失的能量可以提高生产性能,然而本试验结果并未达到预期。在本试验的组间处理中,全部生长试验内的日增重和饲料转化率并没有显著提高。同样在Van Zijderveld的奶牛试验中,硝酸盐降低了甲烷能与总能比,但并未影响奶产量,生产性能同样没有显著提高^[12]。而在Pal等^[21]的试验中饲喂浓度为0.6%的硝酸盐后显著提高了肉羊的日增重;在Li等^[13]的试验中添加硝酸盐也显著提高了饲料转化率。

与预期结果不同的原因是本试验基础日粮中的粗蛋白含量已经满足了肉牛的生长需要,更多的蛋白质浓度并未提高有效蛋白含量,瘤胃微生物对粗蛋白的降解能力也没有获得提高。Dijkstra等^[22]认为适宜瘤胃微生物的生长条件需要低浓度的氨,但是在满足蛋白需求的基础日粮中添加硝酸盐会产生更多的氨,从理论上讲,每千克干物质采食量中增加

15 g硝酸盐会降低有效粗蛋白含量^[12],限制瘤胃微生物对N的利用效率,从而会对瘤胃氮平衡产生消极的影响,特别是对瘤胃微生物蛋白质的合成过程产生不利影响,最终导致本试验中肉牛生长性能没有显著提高。

3.3 硝酸盐对体外瘤胃发酵的影响

Joblin等^[23]认为由于在抑制甲烷的过程中存在电子竞争关系,所以甲烷与丙酸产量呈负相关,然而本试验结果却与之相反。这种相反的结果同样出现在其他试验中。Zhou等^[24]的研究中添加12、24、36和48 mmol的硝酸盐,发酵48 h后丙酸产量分别下降30.8%,59.4%,74.3%和76.9%。究其原因可能是硝酸盐还原菌可以同时消耗氢气和挥发性脂肪酸,在热力学上,硝酸盐的还原过程相比丙酸的形成更容易^[25],所以硝酸盐还原所需的氢电子同时来自甲烷和丙酸的生成过程。而在体外试验中加入2%硝酸盐后,挥发性脂肪酸产量明显下降,相反氢气产量显著上升,这一结果表示大量氢气没有被菌群利用,其原因可能是较高浓度的硝酸盐积累了大量的亚硝酸盐,在此浓度下的亚硝酸盐对瘤胃内微生物产生了不利的影响。此外,Broudiscou等^[26]认为原虫的减少也是总挥发性脂肪酸减少的原因之一,这一假设在本试验中也被验证。在本试验中pH随硝酸盐浓度的增加而增加,这可能是由于硝酸盐的氨化作用提高了氨浓度,这一推测已经被Sar等^[27]所验证,但Sar等^[27]认为pH的增加会减少总挥发性脂肪酸浓度,使乙丙酸比例下降。然而本试验与Zhou^[24]的结果相同,虽然总挥发性脂肪随着硝酸盐浓度的提高而降低,但是乙丙酸比例却随之增加。造成这一结果的原因可能是硝酸盐的氨化作用对乙丙酸的利用具有选择性,其推测有待验证。

4 结论

本试验验证了硝酸盐对肉牛甲烷抑制的有效性,并证明了在饲喂1%硝酸盐日粮后4 h内对甲烷的持续抑制效果。但甲烷的抑制并不会提高瘤胃发酵水平,且在已满足粗蛋白需求的日粮中添加硝酸盐不会提高生产性能。

参考文献 References

[1] Beddington S J. The future of food and farming [J].

- International Journal of Agricultural Management*, 2011, 2 (1):2-6
- [2] Torrent J, Johnson D E. Methane production in the large intestine of sheep[J]. *Publication-European Association for Animal Production*, 1994, 76:391-391
- [3] Bodirsky B L, Rolinski S, Biewald A, Weindl I, Popp A, Lotze-Campen H. Global food demand scenarios for the 21 century [J]. *Plos One*, 2015, 10(11):27
- [4] Wolin M J. *Interactions Between the Bacterial Species of the Rumen*[M]. Armidale: The University of New England, 1975: 134-148
- [5] Chanhee L, Karen A B. A review of feeding supplementary nitrate to ruminant animals; nitrate toxicity, methane emissions, and production performance[J]. *Canadian Journal of Animal Science*, 2014, 94:557-570
- [6] 赵丽萍. 硝酸盐对肉牛瘤胃发酵、微生物多样性、血液生化及抗氧化性能的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2015
- Zhao L P. Effects of nitrate on rumen fermentation, microbe diversity, blood biochemical and antioxidative ability [D]. Beijing: Chinese Agriculture University, 2015 (in Chinese)
- [7] VanZijderveld S M, Gerrits W J J, Apajalahti J A. Nitrate and sulfate: Effective alternative hydrogen sinks for mitigation of ruminal methane production in sheep[J]. *Journal of Dairy Science*, 2010, 93:5856-5866
- [8] Nolan J V, Hegarty R S, Hegarty J, Godwin I R, Woodgate R. Effects of dietary nitrate on fermentation, methane production and digesta kinetics in sheep[J]. *Animal Production Science*, 2010, 50(8):801-806
- [9] Piell K M, Kelm N Q, Caroway M P, Aman M, Cole M P. Nitrite treatment rescues cardiac dysfunction in aged mice treated with conjugated linoleic acid[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2014, 72:66-75
- [10] Kelly J, Vanhatalo A, Bailey S J, Wylie L J, Tucker C, List S. Dietary nitrate supplementation: Effects on plasma nitrite and pulmonary O₂ uptake dynamics during exercise in hypoxia and normoxia[J]. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative & Comparative Physiology*, 2014, 307(7):920-930
- [11] Hulshof R B, Berndt A, Gerrits W J, Dijkstra J, van Zijderveld S M, Newbold J R. Dietary nitrate supplementation reduces methane emission in beef cattle fed sugarcane-based diets[J]. *Journal of Animal Science*, 2012, 90(7):2317-23
- [12] Zijderveld S M V, Gerrits W J J, Dijkstra J, Newbold J R, Hulshof R, Perdok H B. Persistency of methane mitigation by dietary nitrate supplementation in dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2011, 94(8):4028-4038
- [13] Li L, Davis J, Nolan J, Hegarty R. An initial investigation on rumen fermentation pattern and methane emission of sheep offered diets containing urea or nitrate as the nitrogen source [J]. *Animal Production Science*, 2012, 52:653-658
- [14] Menke K H, Steingass H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid[J]. *Animal Resource Dev*, 1988, 28(7):55
- [15] DeCocaSinova A, Mateos G G, GonzalezAlvarado J M, Centeno C, Lazaro R, JimenezMoreno E. Comparative study of two analytical procedures for the determination of acid insoluble ash for evaluation of nutrient retention in broilers[J]. *Journal of Physical Chemistry*, 2011, 9(3):274-284
- [16] Allison M J, Reddy C A. Adaptations of gastrointestinal bacteria in response to changes in dietary oxalate and nitrate [J]. *Vet Hum Toxicol*, 1990, 32:248-256
- [17] Johnson K A, Johnson D E. Methane emissions from cattle[J]. *Journal of Animal Science*, 1995, 73:2483-2492.
- [18] Shibata M, Terada F. Factors affecting methane production and mitigation in ruminants[J]. *Journal of Animal Science*, 2010, 81:2-10
- [19] Iwamoto M, Asanuma N, Hino T. Ability of *Selenomonas ruminantium*, *Veillonella parvula*, and *Wolinella succinogenes* to reduce nitrate and nitrite with special reference to the suppression of ruminal methanogenesis[J]. *Anaerobe*, 2002, 8: 209-215
- [20] Sar C, Mwenya B, Santoso B, Takaura K, Morikawa R, Isogai N. Effect of *Escherichia coli*, w3110 on ruminal methanogenesis and nitrate/nitrite reduction *in vitro*[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2005, 118(3):295-306
- [21] Pal K, Patra A K, Sahoo A, Soren N M. Effects of nitrate and fumarate in tree leaves-based diets on nutrient utilization, rumen fermentation, microbial protein supply and blood profiles in sheep[J]. *Livestock Science*, 2015, 172(1):5-15
- [22] Dijkstra J, France J, and Davies D R. Different mathematical approaches to estimating microbial protein supply in ruminants [J]. *Journal of Dairy Science*, 1998, 81:3370-3384
- [23] Joblin K N. Ruminal acetogens and their potential to lower ruminant methane emissions [J]. *Australian Journal Agricultural and Resource Economics*, 1999, 50:1307-1313
- [24] Zhou Z M, Yu Z T, Meng Q X. Effects of nitrate on methane production, fermentation, and microbial populations in *in vitro* ruminal cultures[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 103:173-179
- [25] Ungerfeld E M, Kohn R A. *The Role of Thermodynamics in the Control of Ruminal Fermentation* [M]. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 2006:55-85
- [26] Broudiscou L, Pochet S, Poncet C. Effect of linseed oil supplementation on feed degradation and microbial synthesis in the rumen of ciliated-free and refaunated sheep[J]. *Animal Feed Science Technology*, 1994, 49:189-202
- [27] Sar C, Mwenya B, Pen B, Takaura K, Morikawa R, Tsujimoto A. Effect of ruminal administration of *Escherichia coli* wild type or a genetically modified strain with enhanced high nitrite reductase activity on methane emission and nitrate toxicity in nitrate-infused sheep[J]. *British Journal of Nutrition*, 2005, 94(5):691-697