

柴胡提取物对热应激奶牛营养物质表观消化率和瘤胃发酵参数的影响

侍宝路^{1,2} 郑楠² 张养东² 范彩云¹ 张幸开³
王秀敏⁴ 秦俊杰⁴ 张运海¹ 程建波^{1*}

(1. 安徽农业大学 动物科技学院, 合肥 230036;

2. 中国农业科学院 北京畜牧兽医研究所/农业部奶产品质量安全风险评估实验室(北京), 北京 100193;

3. 上海光明荷斯坦牧业有限公司, 上海 200443;

4. 北京市中兽药工程技术研究中心, 北京 102206)

摘要 为研究添加不同水平的柴胡提取物对热应激条件下泌乳后期荷斯坦奶牛营养物质表观消化率和瘤胃发酵参数的影响, 采用随机区组设计, 按照产奶量、泌乳天数及胎次相同的原则将 48 头荷斯坦奶牛随机分为 4 组, 每组 12 头, 各组在基础日粮中分别添加 0、0.5、2.5 和 5.0 g/kg 柴胡提取物(干物质基础), 试验期 9 周。结果表明: 热应激条件下, 柴胡提取物对瘤胃 pH、氨氮含量、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸和戊酸浓度, 乙酸/丙酸及营养物质表观消化率均无显著影响($P>0.05$); 0.5 g/kg 组的菌体蛋白含量显著高于 2.5 和 5.0 g/kg 添加组($P<0.05$), 添加 5.0 g/kg 柴胡提取物降低瘤胃总挥发性脂肪酸($P=0.05$)和乙酸浓度($P=0.06$), 不利于瘤胃发酵。因此, 柴胡提取物推荐添加剂量不宜超过 5.0 g/kg。

关键词 奶牛; 柴胡提取物; 热应激; 表观消化率; 瘤胃发酵

中图分类号 S 816

文章编号 1007-4333(2015)06-0169-06

文献标志码 A

Effect of bupleurum extract on nutrient apparent digestibility and rumen fermentation parameters in heat-stressed Holstein dairy cows

SHI Bao-lu^{1,2}, ZHENG Nan², ZHANG Yang-dong², FAN Cai-yun¹, ZHANG Xing-kai³,
WANG Xiu-min⁴, QIN Jun-jie⁴, ZHANG Yun-hai¹, CHENG Jian-bo^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230016, China;

2. Institute of Animal Sciences/Ministry of Agriculture-Milk Risk Assessment Laboratory,

Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100193, China;

3. Shanghai Bright Holstan Co., Ltd., Shanghai 200436, China;

4. Beijing Engineering Research Center for Veterinary Drugs, Beijing 102206, China)

Abstract Experiment was conducted to study the effect of bupleurum extract (BE) on nutrient apparent digestibility and rumen fermentation parameters in heat-stressed Holstein dairy cows. Forty-eight cows were randomly assigned to one of four groups ($n=12$) based on DIM, milk yield and parity. Bupleurum extract was supplied into daily basal diet at 0, 0.5, 2.5 and 5 g/kg (Dry matter basis). The experiment lasted for 9 weeks in hot summer. The results showed: There were no effects on pH, the content of ammonia nitrogen, acetate/propionate, the concentrations of propionate, isobutyrate, butyrate, isovalerate and valerate, the diet apparent digestibility among different treatments ($P>0.05$); supplemental BE at 0.5 g/kg increased bacterial protein content ($P<0.05$) compared with 2.5 or 5 g/kg BE ($P<$

收稿日期: 2015-03-18

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(2011CB100805); 现代农业产业技术体系专项资金(nycytx-04-01); 安徽省国际科技合作计划项目(1503062019)

第一作者: 侍宝路, 硕士研究生, E-mail: Bluce_Shi@163.com

通讯作者: 程建波, 副教授, 主要从事反刍动物营养研究, E-mail: chengjianbofcy@163.com

0.05) and supplemental BE at 5g/kg could decrease the concentrations of acetate and total volatile fatty acids, which reduced rumen fermentation. In conclusion, bupleurum extract recommended the additive dosage of BE should not be more than 5 g/kg.

Key words dairy cows; bupleurum extract; heat stress; apparent digestibility; rumen fermentation

奶牛热应激是指动物机体受到高出自身体温调节能力的过高温度刺激时,引起奶牛机体产生的非特异性反应^[1]。荷斯坦奶牛具有耐寒怕热的特征,适合的生产温度是5~25℃,当牛舍的温湿度指数THI>72时,就会引起奶牛的热应激反应^[2]。热应激导致奶牛生产性能降低^[3],瘤胃功能紊乱^[4],高温高湿的严重热应激还可导致奶牛的消化率降低^[5]。每年夏季我国大部分地区奶牛都遭受严重的热应激,给奶业造成巨大的经济损失。因此,如何缓解奶牛热应激已成为畜牧工作者急需解决的问题。

柴胡是传统中草药,柴胡提取物(*Bupleurum extract*, BE)是经过加工定向获取和浓集柴胡中的有效成分,而不改变其有效成分结构所形成的产品,其主要成分为柴胡皂苷,其次含有挥发油和多糖等^[6-8],具有退烧解热、镇定安神、止痛、提高免疫力等生物活性^[9-10]。柴胡的功效可能是通过舒张皮肤血管,加快血液循环将外源热量转移到皮肤表面通过蒸发、对流等方式达到散热效果^[11];金国泰等^[12]研究表明柴胡可以通过调节体内环磷酸腺苷及精氨酸加压素的合成分泌达到降温作用。本课题组Pan等^[13]前期研究表明热应激条件下在泌乳早期荷斯坦奶牛日粮中添加0.25和0.50 g/kg BE能够在一定程度上缓解奶牛热应激;但是,有研究报道^[14-15],长时间多倍剂量地对小鼠使用BE会对其肝脏造成损伤,且柴胡在临床中的毒性表现与皂苷和挥发油有关。因此,本试验在Pan等^[13]研究的基础上,在奶牛日粮中添加多倍剂量的BE来研究其对热应激条件下泌乳奶牛营养物质表观消化率和瘤胃发酵参数的影响,旨在确定奶牛对BE的最大耐受量,为BE在奶牛生产中的安全使用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验时间及地点

2013年7月24日—2013年9月25日在上海光明荷斯坦牧业有限公司星火奶牛二场开展奶牛饲养试验。

1.2 试验动物、日粮及试验设计

试验选用48头产奶量((30.96±3.96)kg/d)、

胎次(1.96±1.07)、泌乳时间((207.98±12.2)d)相同健康的荷斯坦奶牛,随机分成4组,每组12头,分别饲喂4种不同处理的日粮,即试验基础日粮中分别添加0、0.5、2.5和5.0 g/kg的BE(DM基础)。试验基础日粮根据我国奶牛饲粮标准^[16]设计,日粮组成及营养水平见表1。

1.3 饲养管理

试验牛拴系饲养于双列尾对尾牛舍,采用全混合日粮(TMR)饲喂,每天早晨将称好的BE撒在TMR饲料上方,混匀,让奶牛采食。每日05:30、13:00和20:00饲喂3次,自由采食,自由饮水,日挤奶3次,鼓风机结合喷淋降温。试验预饲期1周,试验期9周。

1.4 环境温湿度记录

试验期间在牛舍每个试验组上方与牛体等高处(离地面约1.5m)悬挂温湿度计,每天6:00、14:00、22:00记录牛舍温度和湿度,并换算成为温湿指数(temperature-humidity index, THI)。THI=(1.8×T+32)-0.55×(1-RH)×(1.8×T-26),其中T为牛舍温度,℃,R为相对湿度,%。当牛舍THI<72时表示无应激;THI≥72时为热应激。

1.5 样品的采集与分析

1.5.1 粪样样品采集与处理

分别在试验期第5周和第9周进行3d的消化试验,采用直肠取粪法每隔6h收集一次粪样,共采集粪样12次,每次采200g,100g用10%的盐酸固氮。消化试验结束后将每头牛3d的样品混合、缩样。饲料样和粪样中的干物质(DM)、灰分/有机物(OM)、粗蛋白(CP)、脂肪(EE)含量测定分别采用国家标准方法GB/T6435—86、GB/T6438—92、GB/T6432—94和GB/T6433—94;中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维参照VanSoest等^[17]方法进行测定。消化试验采用内源指示剂酸不溶灰分法测定,测定方法参照国标GB/T23742—2009。

并通过以下公式来计算各营养物质的表消化率。

饲料中某营养物质的表观消化率/%=100-(饲料中酸不溶灰分含量/粪中酸不溶灰分含量×粪中某营养物质含量/饲料中某营养物质含量)×100。

表1 基础日粮组成及营养水平(干物质基础)

Table 1 Component and nutrient levels of daily basal diet (DM basis)

饲料成分 Ingredient	$w/\%$	化学成分 Chemical composition	含量
玉米青贮 Corn silage	16.70	$w(\text{干物质})/\%$ DM	56.70
羊草 Chinese wildrye	8.70	$w(\text{粗蛋白})/\%$ CP	16.90
大麦 Barley	9.40	$w(\text{中性洗涤纤维})/\%$ NDF	39.10
玉米 Corn	23.00	$w(\text{酸性洗涤纤维})/\%$ ADF	22.50
苜蓿干草 Alfalfa hay	14.00	$w(\text{钙})/\%$ Ca	1.07
大豆粉 Soybean meal	7.40	$w(\text{磷})/\%$ P	0.48
棉籽粕 Cottonseed meal	3.40	产奶净能/(MJ/kg)(DM)NEL ^②	7.01
酒糟 Dry distillers grains	3.70		
菜籽粕 Rapeseed meal	3.40		
棉籽 Cottonseed	8.30		
碳酸氢钠 Sodium bicarbonate	0.64		
食盐 Salt	0.49		
磷酸氢钙 Dicalcium phosphate	0.54		
预混料 ^① Vitamin-mineral premix	0.33		

注:①每 kg 预混料中含有 VA 2 000 kIU;VD 450 kIU;VE 10 kIU;Cu (as copper sulfate) 4 560 mg;Mn 4 590 mg;Zn (as zinc sulfate) 12 100 mg;Se 200 mg;I 270 mg;Co 60 mg。②泌乳净能根据各原料能量计算所得,其余为实测值。

Note:①Provided per kg of premix:VA 2 000 kIU;VD 450 kIU;VE 10 kIU;Cu (as copper sulfate) 4 560 mg;Mn 4 590 mg;Zn (as zinc sulfate) 12 100 mg;Se 200 mg;I 270 mg;Co 60 mg。②NEL is calculated value according to ingredients energy, while others are measured values.

1.5.2 瘤胃液采集与处理

试验期第5周和第9周,用口腔采样器采集饲喂后2 h 奶牛瘤胃液,采集时弃掉初采集含有较多粘液的部分,在采集样品后现场用4层纱布过滤立即测定其pH。取滤液10 mL,并加入0.1 mL 6 mol/L 盐酸,盖紧盖摇匀,−20 °C 冷冻保存,采用靛酚比色法^[18]测定瘤胃液中氨氮(NH₃-H)浓度;另取滤液10 mL,−20 °C 冷冻保存,实验室中用气相色谱仪测定挥发性脂肪酸(VFA)含量,测定项目为乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸和VFA总量;取10 mL 过滤后的瘤胃液,100g 离心10 min 除去原虫和食物残渣,用三氯乙酸沉淀法测定菌体蛋白(BCP)浓度^[19]。

1.6 数据处理与分析

试验数据经Excel 2007 初步整理,采用SAS 9.2 软件中GLM 模型进行分析。采用Duncan's 检验法进行各组间的多重比较, $P \leq 0.05$ 表示差异显著, $P \leq 0.10$ 表示有显著变化的趋势。

2 结果

2.1 环境温湿度记录结果

试验期间牛舍温湿度指数变化情况如图1所

示。牛舍早(06:00)、中(14:00)、晚(22:00)的平均THI 分别为79.4(69.4~86.2)、84.6(69.8~91.5)和80.8(69.8~87.8),且每天平均温湿度指数都在72 以上,说明整个试验期间试验牛处于持续热应激状态。

2.2 营养物质表观消化率

由表2 可见,BE 添加水平对热应激奶牛日粮中DM、CP、NDF、ADF 和OM 表观消化率的影响均不显著($P > 0.05$),但是,随着饲喂时间的延长,热应激奶牛日粮中DM、CP、NDF、ADF 和OM 表观消化率显著降低($P \leq 0.05$)。

2.3 瘤胃发酵参数

BE 对热应激奶牛瘤胃发酵参数的影响见表3。BE 添加水平对热应激奶牛瘤胃液pH 和NH₃-H 含量,丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸浓度以及乙酸/丙酸无显著影响($P > 0.05$);但5.0 g/kg 组的乙酸浓度与对照组和0.5 g/kg 组相比有降低的趋势($P = 0.06$);5.0 g/kg 组的总挥发性脂肪酸浓度与对照组相比显著降低($P = 0.05$);与2.5 g/kg 组和5.0 g/kg 组相比,0.5 g/kg 组BCP 含量显著提高($P < 0.05$)。

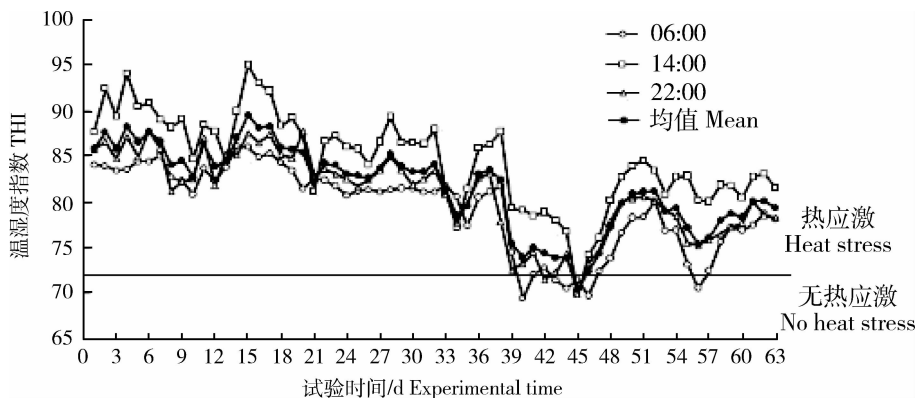


图1 试验期间牛舍温湿度指数

Fig. 1 Temperature humidity index of barn during experimental period

表2 BE对热应激奶牛营养物质表观消化率的影响

Table 2 Effect of BE on nutrient apparent digestibility in heat-stressed dairy cows

w/%

项目 Item	处理/(g/kg) Treatments				时间/周 Time		标准误 SEM	P值 P value		
	0	0.5	2.5	5.0	5	9		处理 ^① Trt	时间 Time	交互 ^② Trt×Time
干物质 DM	71.84	71.52	72.05	72.86	74.42	69.69	0.39	0.38	<0.01	0.92
粗蛋白质 CP	74.05	72.80	73.80	73.47	77.11	69.85	0.50	0.45	<0.01	0.52
中性洗涤纤维 NDF	58.12	55.14	56.35	57.77	57.85	55.65	0.55	0.15	0.05	0.36
酸性洗涤纤维 ADF	43.80	43.81	41.77	44.80	48.32	38.43	0.89	0.56	<0.01	0.71
有机物 OM	73.86	73.81	73.94	74.64	75.45	72.65	0.33	0.68	<0.01	0.95

注:①Trt 为处理;②Trt×Time 为处理与采样时间之间互作

Note:①Trt means treatment effect;②Trt×Time means the interaction between treatment and sampling time.

表3 BE对热应激奶牛瘤胃发酵参数的影响表

Table 3 Effect of BE on fermentation parameters in heat-stressed dairy cows

项目 Item	处理/(g/kg) Treatments				时间/周 Time		标准误 SEM	P值 P value		
	0	0.5	2.5	5	5	9		处理 Trt	时间 Time	交互 Trt×Time
pH	6.17	6.27	6.21	6.32	6.24	6.25	0.03	0.33	0.85	0.66
氨氮/(mg/dL) NH ₃ -H	10.63	7.90	10.28	9.76	10.45	8.75	0.51	0.24	0.09	0.62
乙酸/(mmol/L) Acetate	63.07 a	62.60 a	61.10 ab	56.40 b	58.46	63.13	1.02	0.06	0.02	0.25
丙酸/(mmol/L) Propionate	25.51	24.17	24.22	22.71	23.10	25.20	0.64	0.50	0.11	0.84
异丁酸/(mmol/L) Isobutyrate	0.78	0.72	0.71	0.72	0.72	0.75	0.02	0.54	0.51	0.60
丁酸/(mmol/L) Butyrate	11.36	11.39	10.79	10.05	10.14	11.65	0.26	0.18	<0.01	0.73
异戊酸/(mmol/L) Isovalerate	1.37	1.37	1.39	1.36	1.34	1.41	0.05	0.99	0.49	0.67
戊酸/(mmol/L) Valerate	1.22	1.22	1.21	1.12	1.16	1.22	0.03	0.61	0.34	0.89
总挥发性脂肪酸/(mmol/L)	104.94 a	101.47 ab	99.42 ab	92.37 b	94.92	104.15	1.77	0.05	<0.01	0.73
Total VFA										
乙酸/丙酸 Acetate/Propionate	2.55	2.66	2.58	2.53	2.60	2.56	0.05	0.81	0.68	0.25
菌体蛋白/(mg/mL) BCP ^①	0.75 ab	0.84 a	0.68 b	0.63 b	0.76	0.69	0.03	0.03	0.09	<0.01

注:同行数据不同小写字母表示差异显著(P≤0.05),不同大写字母表示差异极显著(P≤0.01),无字母表示差异不显著(P>0.05)。①

BCP 为瘤胃液中除去原虫和食物残渣后得到的细菌蛋白质。

Note:In the same row, values with different small letter mean significant difference (P<0.05), and with different capital letter mean significant difference(P<0.01), while with no letter means no significant different (P>0.05). ① BCP means the bacterial proteins in rumen fluid which has removed protozoa and food residue.

3 讨论

3.1 对热应激奶牛营养物质表观消化率的影响

饲料中的营养物质只有在奶牛体内被消化后才能吸收利用,而对饲料的消化方式主要是瘤胃微生物消化,因此,营养物质的表观消化率及瘤胃发酵参数是反映奶牛健康和瘤胃内环境的重要指标。目前关于热应激对奶牛营养物质消化率影响的研究报道较少,且前人的研究结果也不尽一致。马燕芬等^[20]研究表明,热应激极显著地降低了奶山羊 DM、CP、ADF、NDF 和 OM 消化率。同时,王建平等^[4]研究表明:奶牛在严重热应激环境下大量饮水,使得瘤胃内容物流通速率过快,且奶牛流涎增加,采食下降,瘤胃 PH 值改变,造成消化障碍,同时瘤胃温度过高会降低瘤胃微生物活性,不利于瘤胃发酵,这些因素共同造成营养物质消化率下降。然而 NRC (1989)^[21]报道,由于热应激使得动物采食量下降,饲料的营养物质消化率会有一定程度的升高。热应激降低热应激奶牛营养物质消化率,影响生产性能和经济效应,因此寻求缓解热应激的添加物备受关注。本研究结果表明 BE 添加水平对热应激奶牛日粮中 DM、CP、ADF、NDF 和 OM 的消化率没有影响,这与本课题组 Pan 等^[13]的研究结果相似,即 0.25~0.50 g/kg BE 能够对泌乳早期荷斯坦奶牛热应激状态有一定缓解作用,但对营养物质表观消化率均没有影响。本试验结果中随着饲喂时间的延长,奶牛营养物质的消化率显著降低,这可能是由于热应激的累积效应。本试验在先前研究的基础上成倍加大了 BE 的添加剂量,在一定程度上证实了其研究结果,同时 5.0 g/kg 添加量不会对泌乳后期的热应激奶牛营养物质表观消化率有负面影响。

3.2 对热应激奶牛瘤胃发酵参数的影响

奶牛瘤胃是一个稳定的生态系统,为微生物提供了良好的代谢环境。瘤胃发酵参数是反映奶牛瘤胃内环境是否稳定的重要依据。瘤胃 VFA 提供奶牛机体所需的前提物质和能量,VFA 与瘤胃微生物种群、瘤胃内容物的组成及瘤胃功能有着十分密切的关系^[22]。本试验中,与对照组和 0.5 g/kg 组相比,5.0 g/kg 组的瘤胃乙酸浓度有降低的趋势($P=0.06$);与对照组相比,添加 5.0 g/kg 的 BE 显著降低瘤胃总 VFA 浓度($P=0.05$),表明过高剂量添加 BE 对瘤胃发酵不利。BE 中主要生物活性成分包括皂苷和挥发油。有学者研究报道^[23-24],体外试验

中随着皂苷添加水平的提高,乙酸浓度显著降低。Busquet 等^[25]通过体外试验研究不同浓度的 12 种植物挥发油对瘤胃发酵的影响,发现在最高质量浓度下(3 000 mg/L)绝大部分挥发油处理显著降低了瘤胃总 VFA 浓度。Benchaar 等^[26]报道,高剂量的植物提取挥发油会造成瘤胃总 VFA 产量降低,这些与本研究结果一致。

瘤胃中的微生物蛋白是反刍动物重要的蛋白质来源,瘤胃微生物蛋白又包括菌体蛋白和原虫蛋白,但主要来自菌体蛋白。原虫对细菌的吞噬作用会造成细菌数量减少和菌体蛋白产量降低^[27]。

Patra 等^[28]研究认为皂苷能够选择性地影响瘤胃细菌和真菌,可能会对瘤胃代谢造成有益或有害的影响,由于皂苷具有多种化学结构,其添加剂量不同,所以对瘤胃发酵的影响结果并不统一,但在瘤胃中最主要的作用是抑制原虫生长,从而增加 BCP 的合成效率,促进蛋白流向十二指肠。这种抑制原虫作用被认为是由于皂苷与原虫细胞膜上的胆固醇形成不可逆转的复合物,从而造成原虫细胞膜的破坏,细胞溶解死亡,而细菌膜上无固醇^[29]。由于原虫对细菌的捕食减少,使总细菌数增加,从而增加 BCP 含量,然而并不是所有菌种的数量都会增加。Wallace 等^[30]研究发现皂苷在刺激栖瘤胃普雷沃菌生长的同时会抑制溶纤维丁酸弧菌和牛链球菌的生长;同时皂苷对革兰氏阳性菌(通常乙酸产生者)具有更强的抗菌性^[28,31]。Mcintosh 等^[32]在研究瘤胃细菌对挥发油的适应性时发现,每当添加浓度提高 0.8 倍以上,便会始终抑制 50% 细菌的生长;同时高剂量的皂苷(0.6 g/L)会抑制细菌的生长^[33]。所以本试验结果可能是由于 0.5 g/kg 添加水平抑制了原虫生长,从而刺激细菌的生长,增加了瘤胃 BCP 含量;而由于 2.5 和 5.0 g/kg 添加组的浓度过高,BE 进一步抑制了瘤胃细菌特别是与合成乙酸相关细菌的生长,造成 BCP 含量、乙酸和总 VFA 浓度降低。奶牛瘤胃是个复杂的系统,BE 对热应激奶牛瘤胃微生物的影响还有待更深一步地研究。

本课题组 Pan 等^[13]研究结果显示添加 BE 对泌乳前期热应激奶牛的瘤胃 PH 有增加趋势,但是对 $\text{NH}_3\text{-H}$ 含量和 VFA 浓度及乙酸/丙酸均无显著影响。这可能是由于 BE 的添加量、奶牛的泌乳期、气候等因素不同造成的差异。本试验中 5.0 g/kg BE 对奶牛肝脏有损伤(数据未给出),表现出临床毒性,这可能是降低瘤胃发酵指标的另一方面原因,

并且关于 BE 添加水平影响泌乳后期热应激奶牛瘤胃发酵的原理尚未见相关研究报道,还有待更深入研究。

4 结 论

BE 对热应激奶牛营养物质消化率无显著影响,添加 5.0 g/kg BE 会降低泌乳后期荷斯坦奶牛瘤胃中乙酸和总 VFA 的浓度,不利于瘤胃发酵。本试验建议添加剂量不宜超过 5.0 g/kg。

参 考 文 献

- [1] 李如治. 家畜环境卫生学[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社, 2003:42-43
- [2] Armstrong D V. Heat stress interaction with shade and cooling [J]. J Dairy Sci, 1994, 77(7): 2044-2050
- [3] 姚勤, 黄章根, 李凤刚, 等. 季节对奶牛生产的影响[J]. 畜牧与兽, 2006, 38(36): 25-25
- [4] Bernabucci U, Lacetera N, Danieli P P, et al. Influence of different periods of exposure to hot environment on rumen function and diet digestibility in sheep[J]. Int J Biometeorol, 2009, 53: 387-395
- [5] 王建平, 王加启, 卜登攀, 等. 热应激对奶牛影响的研究进展[J]. 中国奶牛, 2008 (7): 21-23
- [6] Tan L L, Cai X, Hu Z H, et al. Localization and dynamic change of saikosaponin in root of *Bupleurum chinense* [J]. J Integr Plant Biol, 2008, 50: 951-957
- [7] Ashour M L, El-Readi M, Youns M, et al. Chemical composition and biological activity of the essential oil obtained from *Bupleurum marginatum* (Apiaceae) [J]. J Pharm Pharmacol, 2009, 61: 1079-1087
- [8] Xu H, Zhang Y Y, Zhang J W, et al. Isolation and characterization of an anti-complementary polysaccharide D3-S1 from the roots of *Bupleurum smithii* [J]. International Immunopharmacology, 2007(7): 175-182
- [9] 罗峰, 孟肖飞. 柴胡的药理分析及应用[J]. 中医学报, 2012, 27 (7): 863-864
- [10] Ashour M L, Wink M. Genus *Bupleurum*: A review of its phytochemistry, pharmacology and modes of action [J]. J Pharm Pharmacol, 2011, 63: 305-321
- [11] 张云波, 梁园, 夏爱军. 柴胡解热作用的药理研究进展[J]. 中国药业, 2011, 20(3): 79-80
- [12] 金国泰, 李博, 王树荣. 柴胡解热的物质基础、药效及机制研究 [J]. 西部中医药, 2014, 27(2): 20-22
- [13] Pan L, Bu D P, Wang J Q, et al. Effects of *Radix Bupleuri* extract supplementation on lactation performance and rumen fermentation in heat-stressed lactating Holstein cows [J]. Anim Feed Sci Tech, 2014, 187: 1-8
- [14] 黄伟, 孙蓉, 张作平. 柴胡总皂苷粗提物多次给药对大鼠肝毒性的“量-时-毒”关系研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35: 3344-3347
- [15] Liu Y M, Li Z Y, Liu X M, et al. Review on the toxic effects of radix bupleuri [J]. Curr Opin Complement Alternat Med, 2014 (1): 3-7
- [16] 中华人民共和国农业部. NY/T 34-2004 中华人民共和国农业行业标准: 奶牛饲养标准[S]. 北京: 中国农业出版社, 2004
- [17] Van Soest P J, Robertson J B, Lewis B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition [J]. J Dairy Sci, 1991, 74 (10): 3583-3597
- [18] 王加启. 反刍动物营养学研究方法[M]. 北京: 中国出版集团现代教育出版社, 2011: 136-138
- [19] 王放. 瘤胃细菌和原虫蛋白测定方法初步研究[J]. 中国畜牧杂志, 1990, 26(2): 43-44
- [20] 马燕芬, 杜瑞平, 高民. 热应激对奶山羊生产性能及瘤胃上皮细胞形态结构的影响[J]. 中国农业科学, 2013, 46(21): 4486-4495
- [21] National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle [M]. 6 th ed. Washington D C: National Academy Press, 1989
- [22] 李旺. 瘤胃挥发性脂肪酸的作用及影响因素[J]. 中国畜牧杂志, 2012, 48(7): 63-66
- [23] 冯志华, 高艳霞, 龚建刚, 等. 蒺藜皂苷对体外瘤胃发酵的影响 [J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(1): 103-107
- [24] Castro-Montoya J M, Makkar H P S, Becker K. Chemical composition of rumen microbial fraction and fermentation parameters as affected by tannins and saponins using an in vitro rumen fermentation system [J]. Canadian Journal of Animal Science, 2011, 91(3): 433-448
- [25] Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, et al. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation [J]. J Dairy Sci, 2006, 89 (2): 761-771
- [26] Bencha C, Calsamiglia S, Chaves A V, et al. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production [J]. Anim Feed Sci Tech, 2008, 145: 209-228
- [27] Mathieu F, Jouany J P, Senaud J, et al. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on fermentations in the rumen of faunated and defaunated sheep; protozoal and probiotic interactions [J]. Reproduction Nutrition Development, 1996, 36(3): 271-287
- [28] Patra A K, Saxena J. The effect and mode of action of saponins on the microbial populations and fermentation in the rumen and ruminant production [J]. Nutr Res Rev, 2009, 22: 204-219
- [29] Francis G, Kerem Z, Makkar H P S, et al. The biological action of saponins in animal systems: A review [J]. British Journal of Nutrition, 2002, 88(06): 587-605
- [30] Wallace R J, Arthaud L, Newbold C J. Influence of *Yucca schidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1994, 60(6): 1762-1767
- [31] Killeen G F, Madigan C A, Connolly C R, et al. Antimicrobial saponins of *Yucca schidigera* and the implications of their in vitro properties for their in vivo impact [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(8): 3178-3186
- [32] McIntosh F M, Williams P, Losa R, et al. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(8): 5011-5014
- [33] Patra A K, Stiverson J, Yu Z. Effects of quillaja and *Yucca* saponins on communities and select populations of rumen bacteria and archaea, and fermentation *in vitro* [J]. J Appl Microbiol, 2012, 113: 1329-1340