

不同类型日粮奶牛体外消化性能与甲烷产生量比较

娜仁花^{1,2}, 董红敏¹, 陶秀萍¹, 马瑞娟¹, 习佳林¹

(1.中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081;2.内蒙古农业大学动物科学与医学学院, 呼和浩特 010018)

摘要:为控制动物甲烷排放提供参考依据,以奶牛为瘤胃液供体动物,采用体外消化法进行了日粮类型对CH₄产生量及其与消化性能关系的研究。结果表明,日粮精粗比均为40:60的条件下,粗料为玉米秸秆青贮日粮的CH₄产生量、消化单位干物质(DM)的CH₄产生量、单位消化能量的CH₄产生量比粗料为干玉米秸秆日粮分别减少了30%、37%、32%,差异显著($P<0.05$);粗料均为玉米秸秆青贮的条件下,精粗比60:40日粮的CH₄产生量、消化单位DM的CH₄产生量、单位消化能量的CH₄产生量比精粗比40:60日粮分别减少了21%、23%、23%,差异显著($P<0.05$)。玉米秸秆经过青贮处理或适当增加日粮中精料比例可以显著减少甲烷的产生,同时可以提高干物质消化率和消化能比例。

关键词:甲烷;体外消化试验;日粮精粗比;青贮秸秆

中图分类号:X511 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)08-1576-06

Effects of Diet Composition on in Vitro Digestibility and Methane Emissions of Cows

NA Ren-hua^{1,2}, DONG Hong-min¹, TAO Xiu-ping¹, MA Rui-juan¹, XI Jia-lin¹

(1. Agricultural Environment and Sustainable Development Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;
2. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: Animal production is a major greenhouse gas emission source in agricultural sector, and ruminants are the most important animal of methane(CH₄) emissions, and mitigation of CH₄ emissions from ruminants has been a hot topic in the world. To investigate the effects of diet forage:concentrate ratio on in vitro digestibility and methane emissions of cows, two diet forage:concentrate ratios(F/C) of 40:60 and 60:40, two different forage ingredients of corn stalk silage(CSS) and dry corn stalk(DCS) were studies in vitro experiments, and the results were expected to be useful in strategy development of methane mitigation in cows in the future. The results showed that diet ingredients significantly affected CH₄ emissions($P<0.05$) at a fixed F/C of 40:60, CH₄ emissions from CSS were 30%, 37% and 32% less than DCS in terms of total amount, mL CH₄ emitted/kg dry matter(DM), mL CH₄ emitted/MJ digestible energy(DE), respectively. When CSS forage was selected, changing F/C from 40:60 to 60:40, the total amount of CH₄ emissions, mL CH₄ emitted/kg DM, mL CH₄ emitted/MJ DE reduced by 21%, 23% and 23%, respectively, significant differences($P<0.05$) were observed. Therefore, both enhancing concentrate content in cow diet and silage treatment of corn stalk could reduce methane emissions and improve digestibility and DE.

Keywords: methane; in vitro digestion experiment; forage to concentrate ratio; silage treatment

近年来,我国奶牛养殖业得到了迅速发展。但与发达国家相比,我国奶牛业普遍存在生产水平较低的现象。除品种的原因外,日粮品质低、精粗比例不适宜是影响奶牛生产性能的重要因素。品质低劣的饲料不仅会降低奶牛业经济效益,引起营养代谢病,甚至还

导致甲烷(CH₄)排放量的增加^[1-2]。日粮的营养价值和采食量的多少是动物理想生产水平综合性能发挥的主要决定因素。但是仅从营养价值评定饲料的优劣程度是不科学和不完善的,因为相同营养价值的饲料由于其消化性能的差异所产生的饲养效果不尽相同。CH₄是反刍动物瘤胃中碳水化合物发酵的产物,甲烷排放意味着能量的损失,据报道以CH₄形式损失的能量约占饲料总能的2%~15%^[3]。据报道我国动物肠道发酵CH₄排放占农业CH₄排放总量的59.21%,占全国CH₄排放的29.70%^[4]。因此,研究反刍动物甲烷排

收稿日期:2010-03-02

作者简介:娜仁花(1969—),女,内蒙古呼和浩特人,在职博士生,副教授,从事家畜环境卫生学教学工作,研究方向为动物营养与环境。E-mail:nrh0123456@hotmail.com

通讯作者:董红敏 E-mail:donghm@mail.caas.net.cn

放对控制温室气体排放至关重要。国内外对反刍动物 CH₄ 排放研究主要集中在甲烷排放因子的确定和粗饲料对消化指标的研究^[1,5~10], 国内关于在体外条件下不同类型日粮对甲烷排放及其与日粮消化性能关系方面的影响研究还未见报道。

本试验以不同类型日粮为研究对象, 利用体外消化试验法, 探讨了不同类型日粮的体外消化性能与甲烷产生量的关系, 以期对奶牛的 CH₄ 减排及制定中国 CH₄ 排放清单提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验日粮(体外培养底物)

以玉米、豆粕为主要精料原料, 以干玉米秸秆及玉米秸秆青贮为主要粗料原料, 配置精粗比为 40:60 的秸秆型日粮 A 及精粗比为 40:60 和 60:40 的青贮型日粮 B 和 C。精料的组成见表 1, 3 种原料和 3 种试验日粮的营养水平见表 2 和表 3。

1.1.2 瘤胃液供体动物

选择 2 头健康、体重为 680 kg 左右, 泌乳期相近

表 1 精料的组成及比例

Table 1 Composition and proportion of concentrate

精料	比例/%
玉米	30.90
豆粕	7.00
小麦麸	4.50
菜籽粕	1.30
棉籽粕	4.80
1%的预混料 ^{1,2}	0.50
磷酸氢钙	0.10
石粉	0.40
食盐	0.50
苜蓿	25.00
芦苇	25.00

注:1.多维(每千克配合饲料提供):维生素 A 1 000 000 IU、维生素 D 65 000 IU、维生素 E 5 000 IU;2.矿添(每千克配合饲料提供):铜 1 750 mg、铁 2 000 mg、锰 2 550 mg、锌 5 500 mg、硒 75 mg、碘 70 mg、钴 40 mg。

表 2 原料的主要营养水平

Table 2 Main nutritive degrees of the main raw materials

营养成分	精料	玉米秸秆青贮	干玉米秸秆
GE/MJ·kg ⁻¹	15.37	16.24	15.87
CP/%DM	17.62	6.25	4.10
NDF/%DM	49.17	69.85	70.22
ADF/%DM	9.78	42.74	50.51
DM/%	88.93	93.77	96.81

注:NDF 为中性洗涤纤维; ADF 为酸性洗涤纤维; DM 为干物质; GE 为总能; CP 为粗蛋白。

且安装有永久性瘤胃瘘管的荷斯坦奶牛作为瘤胃液供体动物。

1.2 体外消化试验

1.2.1 体外消化装置

由 100 mL 的玻璃发酵瓶、可精确控温 [(39±0.5)℃] 的恒温培养箱、国产注射器及 CO₂ 钢瓶组成。

1.2.2 试验用溶液的配制

具体成分见表 4。

1.2.3 瘤胃液的采集

晨饲前从 2 头瘤胃液供体牛供采集 200 mL 瘤胃液, 通过 4 层纱布过滤, 置于预先充有 CO₂ 且用 39 ℃ 水温热的保温瓶中, 立即盖严瓶口, 迅速返回实验室。

1.2.4 体外消化试验条件和步骤

参照目前国内较多沿用的 Tilley 和 Terry 等提出的两级离体消化试验方法^[11]。瘤胃微生物消化法是借助生物学方法在体外模拟饲料在动物瘤胃、皱胃和部分小肠的消化过程并估测饲料消化率的方法, 与体内法有很高的相关性^[12], 并且可以避免体内法如使用试验动物、做外科手术等的不足。因此在饲料营养价值评定中得到广泛的应用。该法主要包括瘤胃液发酵和酸性胃蛋白酶的消化两个阶段。

根据模拟活体消化的要求, 离体消化必须保持下列 3 个条件:一为厌氧条件。在依靠瘤胃微生物发酵的第一阶段, 必须保持厌氧状态。二为温度条件。瘤胃微生物活动及其酶的作用都需要适宜的温度(38~39 ℃)。三为恒定的 pH 值。第一阶段瘤胃厌氧发

表 3 3 种不同精粗比日粮的主要营养水平

Table 3 Main nutritive degrees of the 3 different ratios of the concentrate to roughage

日粮类型	粗料类型	精粗比	GE/MJ·kg ⁻¹	CP/%DM	NDF/%DM	ADF/%DM	DM/%
A	干玉米秸秆	40:60	15.67	9.51	61.80	34.22	93.66
B	玉米秸秆青贮	40:60	15.89	10.80	61.58	29.56	91.83
C	玉米秸秆青贮	60:40	15.72	13.07	57.44	22.96	90.87

表4 试验溶液成分组成

Table 4 Components of the experimental solution

缓冲液	氯化钙溶液	氯化汞溶液	碳酸钠溶液	盐酸-胃蛋白酶溶液
3.71 g Na ₂ HPO ₄	4 g CaCl ₂ 定容至 100 mL	5 g HgCl ₂	105 g Na ₂ CO ₃	胃蛋白酶(1:10 000)
9.8 g NaHCO ₃				3 mol·L ⁻¹ HCl 溶液
0.75 g KCl				
0.47 g NaCl				
1.0 g 尿素				
0.12 g MgSO ₄ ·7H ₂ O				
加蒸馏水至 1 000 mL	使用前加 1 mL 该液于 1 L 缓冲液中	加蒸馏水至 100 mL	加蒸馏水至 1 000 mL	10 g 胃蛋白酶溶解于 100 mL 3 mol·L ⁻¹ HCl 溶液中

酵时 pH 值要保持在 6.7~6.9 范围内。在第二阶段胃蛋白酶消化时通过加酸使 pH 值降到 1.5。在整个培养过程中培养液 pH 值都必须保持恒定。

试验第一步:将精料、干玉米秸秆及玉米秸秆青贮于 65 ℃烘干并粉碎过 1 mm 筛,配制 3 种不同精粗比的试验日粮,准确称取 0.5 g 样品(A 日粮是 0.2 g 精料+0.3 g 干玉米秸秆;B 日粮是 0.2 g 精料+0.3 g 玉米秸秆青贮;C 日粮是 0.3 g 精料+0.2 g 玉米秸秆青贮)装在自制尼龙袋中,然后放入培养瓶中。每种日粮设 6 个重复,同时设 3 个空白(只有培养液和尼龙袋而无底物)。将新鲜瘤胃液通过 4 层纱布过滤,然后量取所需体积(奶牛瘤胃液与缓冲液的体积比为 1:3)迅速加入准备好的预热到 (39±0.5)℃的缓冲液中制成混合培养液,混合培养液在通入 CO₂ 的同时加热搅拌。之后在每个培养瓶中加入 40 mL 混合培养液,并通入 CO₂ 约 3 min 使其达到厌氧状态,然后迅速用胶塞密封,胶塞插上注射器,放入 (39±0.5)℃水浴摇床上培养 48 h。在培养的第 2、4、6、8、10、24 h 各振荡 5~8 min。

试验第二步:第一步培养结束后,各培养瓶中加入 3 mL 盐酸-胃蛋白酶溶液,再放入 (39±0.5)℃水浴中培养 48 h,振荡时间及次数同第一步。培养结束后在各培养瓶中加入 1 mL 5% HgCl₂ 和 2 mL Na₂CO₃ 溶液,以停止胃蛋白酶的消化作用。

1.3 测试指标与方法

1.3.1 CH₄ 产生量

根据注射器活塞顶起的刻度直接读取产气量,然后取样,用安捷伦气相色谱仪(美国)测定 CH₄ 浓度,并分别乘以相应日粮的产气量即可得出 CH₄ 产生量。

色谱条件:载气为 99.999% 高纯氮气,燃气为 99.999% 高纯氢气,空气为助燃气。柱温 70 ℃,前进样口温度 50 ℃,后进样口温度 375 ℃,FID 检测器温度 200 ℃,空气流速 360 mL·min⁻¹,氢气流速 45 mL·min⁻¹,

氮气流速 25 mL·min⁻¹。进样量 1 mL,试验过程中使用的 CH₄ 标准气体浓度为 5.03×10⁻⁶ V/V 和 1 530×10⁻⁶ V/V。

1.3.2 体外干物质消化率(IVDMD)

消化结束后将培养瓶中尼龙袋取出洗净,105 ℃烘干 12~24 h。用下列公式计算体外干物质消化率。

$$IVDMD = W_1 \times DM - (W_2 - W_3) / W_1 \times DM$$

式中:W₁ 为试验日粮重,g;DM 为试验日粮干物质重,%;W₂ 为尼龙袋+残渣重,g;W₃ 为空白样残渣重,g。

1.3.3 体外消化能(IVDE)

将消化结束后的尼龙袋取出洗净,105 ℃烘干 12~24 h。收集烘干残留物采用 Parr1281 能量测定仪测定其能量,检测方法为 ISO9831:1998。用下列公式计算体外消化能。

$$IVDE = W_1 \times GE_1 - W_2 \times GE_2$$

式中:W₁ 为试验日粮重量,g;GE₁ 为试验日粮能量,MJ·kg⁻¹;W₂ 为消化残留物重量,g;GE₂ 为消化残留物能量,MJ·kg⁻¹。

1.4 数据处理与分析

试验数据采用 Excel 2003 软件进行记录整理,以 SAS 统计软件中 ANOVA 过程进行方差分析,采用 Duncan 法进行多重比较,试验结果以平均数±SD 表示。

2 结果与分析

试验结果见表 5。体外消化试验分两步进行,第一步为模拟瘤胃的厌氧发酵过程,第二步为模拟真胃消化过程。因此本试验的 CH₄ 产生量为第一步 48 h 内的累积产生量。由表 5 得知,3 种日粮的 CH₄ 产生量、消化单位干物质(DM)的 CH₄ 产生量、消化单位能量的 CH₄ 产生量均为 A>B>C,其中 A 和 B 日粮之间以及 B 和 C 日粮之间差异显著($P<0.05$),秸秆型 A

日粮的3种指标分别比高精比C日粮增加了82%、106%、89%，差异极显著($P<0.01$)。由此可见，日粮的粗料类型以及日粮精粗比对CH₄产生量有着显著的影响。而体外干物质消化率(IVDMD)、体外消化能(IVDE)、IVDE/GE均表现为C>B>A，即C日粮分别比B日粮和A日粮提高了3.58%、1.86%、3.00%和14.25%、15.30%、15.01%，差异不显著($P>0.05$)；B日粮比A日粮提高了10.30%、13.21%、11.66%，差异不显著($P>0.05$)。A日粮CH₄能极显著高于B和C日粮($P<0.01$)，B日粮CH₄能虽然高于C日粮，但差异不显著($P>0.05$)。

3 讨论

反刍动物从日粮中摄入的结构性碳水化合物(主要包括纤维素、半纤维素、果胶等)和非结构性碳水化合物(如淀粉)被瘤胃微生物分泌的酶水解为短链的二糖(麦芽糖、纤维二糖、木二糖)及单糖。然后在细胞内酶的作用下迅速地将其降解为乙酸、丙酸、丁酸等挥发性脂肪酸和40%的二氧化碳、30%~40%的甲烷及少量氢气等气体。甲烷产生量主要受饲料类型、采食量、环境温度等因素的影响。而饲料类型对其的影响主要是通过瘤胃内发酵模式产生，如果饲料品质较高或精料比例适当时，瘤胃内发酵会产生较高比例的丙酸，降低CH₄产生量。而丙酸主要为机体提供生长和生产的能量，从而可以提高饲料消化性能和动物的生产水平。

从本试验结果分析得出，在体外消化试验条件下，日粮组成及精粗比对CH₄产生量、消化单位DM的CH₄产生量、单位消化能量的CH₄产生量均有显著($P<0.05$)的影响。

较高含量的纤维物质影响到瘤胃微生物的发酵，导致较低的体内消化率。郝正里报道，用绵羊瘤胃液进行两级离体消化表明，饲料粗纤维含量与其体外干物质消化率存在相关关系($r=-0.78, P<0.01$)^[13]。苏秀侠等利用不同品种秸秆青贮饲料进行体外消化

的试验也证明了粗纤维含量与体外干物质消化率存在负相关关系^[14]。日粮中消化慢的部分伴随较高的甲烷产量^[15]。本试验中，秸秆型A日粮、低精比B日粮、高精比C日粮的中性洗涤纤维(NDF)及酸性洗涤纤维(ADF)含量分别为61.80%、61.58%、57.44%及34.22%、29.56%、22.96%，而体外干物质消化率(IVDMD)则为61.83%、68.20%、70.64%，体外发酵48 h CH₄产生量为11.46、9.50、7.49 mL，与上述报道一致。

糟谷广高利用TMR(精粗比=50:50)饲喂泌乳奶牛的试验表明，使用消化性能良好的饲料在提高干物质消化率的同时还可以减少CH₄的排放量。他认为，TMR的干物质消化率每上升1%，CH₄产生量会减少4%~5%，并提出CH₄产生量与干物质消化率之间有较高的负相关关系($R^2=0.88$)^[16]。日本其他学者在饲料中添加富马酸(占饲料DM的2%)饲喂荷斯坦去势牛的试验表明，添加组和对照组(无添加富马酸)的DM消化率和干物质甲烷产量分别为57.6%、57.4%和21.1、27 L·kg⁻¹^[17]。本试验中，CH₄产生量与干物质消化率之间也呈极显著的负相关关系($R^2=0.81, P=0.0023<0.01$ ，见图1)。

动物消化能是指日粮总能和粪便能量的差值。消化能越高意味着动物对饲料总能的利用率越高，通过

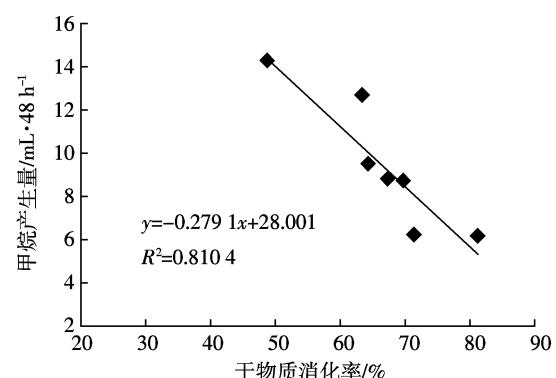


图1 体外干物质消化率与甲烷产生量的关系

Figure 1 Relationship of the in vitro dry matter digestibility and the methane production

表5 不同精粗比日粮体外消化性能与甲烷产量的比较

Table 5 Comparison of the in vitro digestion capacities and methane production degrees of the different ratios of the concentrate to rousphage

日粮类型	CH ₄ /mL·48 h ⁻¹	IVDMD/%	CH ₄ /L·消化 kgDM ⁻¹	IVDE/MJ	CH ₄ /L·消化 MJ 能量 ⁻¹	CH ₄ 能/KJ	IVDE/GE/%
A	13.62±0.78a	61.83±12.34a	48.40±10.22a	4.77±0.99a	2.59±0.23a	0.54±0.03 a	60.89±12.65a
B	9.50±0.00b	68.20±6.23a	30.54±2.59b	5.40±0.50a	1.77±0.15b	0.38±0.00 c	67.99±6.27a
C	7.49±1.48c	70.64±6.58a	23.49±2.08c	5.50±0.53a	1.37±0.12c	0.30±0.06 c	70.03±6.72a

注：同列肩标相同字母差异不显著($P>0.05$)；相邻字母差异显著($P<0.05$)；相间字母差异极显著($P<0.01$)。GE：试验日粮的总能量，MJ。

CH_4 损失的能量越少。本试验中,3种日粮的 CH_4 产生量及 CH_4 能的结果为A>B>C,而消化能的结果为C>B>A。

谢武华报道,牛羊采食粉碎后的作物秸秆会增加采食量和排粪量,减少 CH_4 的产生,但会提高消化能^[18]。本试验的 CH_4 产生量与体外消化能之间呈极显著的负相关关系($R^2=0.83, P=0.001 < 0.01$,见图2)。说明饲料消化能的提高可以减少 CH_4 的产生。

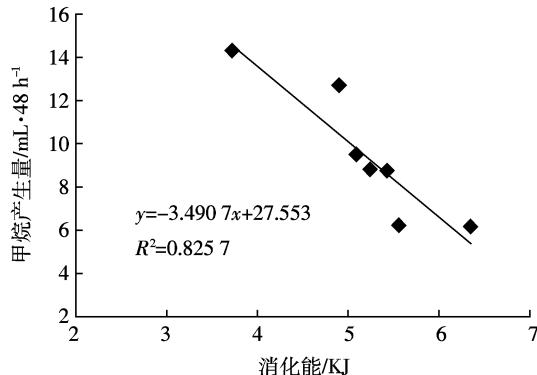


图2 体外消化能与甲烷产生量的关系

Figure 2 Relationship of the in vitro digestive energy and the methane production degree

4 结论

体外消化试验证明,玉米秸秆经青贮处理和适当增加日粮精料的比例有利于提高饲料消化性能,降低甲烷的产生。

日粮精粗比均为40:60的条件下,粗料为玉米秸秆青贮的B日粮 CH_4 产生量、消化单位干物质(DM)的 CH_4 产生量、单位消化能量的 CH_4 产生量比粗料为干玉米秸秆的A日粮分别减少了30%、37%、32%,差异显著($P<0.05$);粗料均为玉米秸秆青贮的条件下,精粗比为60:40的C日粮 CH_4 产生量、消化单位DM的 CH_4 产生量、单位消化能量的 CH_4 产生量比精粗比40:60的B日粮分别减少了21%、23%、23%,差异显著($P<0.05$)。B日粮和C日粮的 CH_4 分别比A日粮减少了30%和44%,差异极显著($P<0.01$);C日粮的 CH_4 比B日粮减少了21%,差异不显著($P>0.05$)。

体外消化试验具有可操作性和重复性强的特点,可以在饲料营养价值评定中推广应用。

参考文献:

- [1] 孙德成,赵智力,魏曼琳,等.不同精粗料比全混合日粮对奶牛瘤胃指标的影响[J].饲料研究,2008,10:47-50.
- [2] 萧宗法.饲料精粗比对荷兰种干乳牛消化道甲烷产量的影响 [J].中国畜牧学会会志,1998,27(Suppl):166.
- [3] XIAO Zong-fa. Effect of dietary forage to grain ratio on enteric methane production of dry Holstein cows[J]. J Chin Soc Anim Sci, 1998, 27 (Suppl):166.
- [4] Holter J B, Yong A J. Methane production in dry and lactating Holstein cows[J]. J Dairy Sci, 1992, 75:2165-2175.
- [5] DONG Hong-min, LI Yu-e, TAO Xiu-ping, et al. China greenhouse gas emissions from agricultural activity and its mitigation strategy[J]. Transactions of the CSAE, 2008, 24(10):269-273.
- [6] Hironaka R, Mathison G W, BrianK, et al. The effect of pelleting of alfalfa hay on methane production and digestibility by steers[J]. Sci Tot Environ, 1996, 180(3):221-227.
- [7] Hensen A, Groot T T, vanden Bulk W C M, et al. Dairy farm CH_4 and N_2O emissions, from one square metre to the full farm Seale[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2006, 112:146-152.
- [8] 游玉波.肉牛甲烷排放测定与估算模型的研究[D].北京:中国农业科学院,2007.
- [9] 樊霞,董红敏,韩鲁佳,等.肉牛甲烷排放影响因素的试验研究[J].农业工程学报,2006,22(8):179-182.
- [10] FAN Xia, DONG Hong-min, HAN Lu-jia, et al. Experimental study on the factors affecting methane emission of beef cattle[J]. Transactions of the CSAE, 2006, 22(8):179-182.
- [11] 樊霞.肉牛甲烷排放与粪便肥料成分含量快速预测方法和模型的研究[D].北京:中国农业大学,2004.
- [12] FAN Xia. Rapid prediction methods and models of methane emission and manure nutrient contents from beef cattle[D]. Beijing: China Agricultural University, 2004.
- [13] 彭小培.六氟化硫示踪法估算反刍动物甲烷排放量的研究 [D].广州:华南农业大学,2002.
- [14] PENG Xiao-pei. Study on estimation of methane emission of ruminants through sulfur hexafluoride tracer method[D]. Guangzhou: Agricultural University of South China, 2002.
- [15] Tilly J M A, Terry R A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops[J]. Journal of British Grassland Society, 1963, 18(2): 104-111.
- [16] Van Soest P J. Nutritional ecology of ruminants[M]. 2nd edition, America: Cornell University Press, 1994:476.
- [17] 郝正里,马海生,高凯,等.用羊粪液测定牧草干物质的体外消化率[J].甘肃畜牧兽医,1994,2:6-8.
- [18] HAO Zheng-li, MA Hai-sheng, GAO Kai, et al. Determination of the pasture dry matter digestibility in vitro using liquid sheep feces [J]. Gansu Animal and Veterinary Science, 1994, 2, 6-8.
- [19] 苏秀侠,祁宏伟,于秀芳.不同玉米品种秸秆青贮饲料干物质消化

- 率对比研究[J]. 饲料研究, 2004, 12: 1-3.
- SU Xiu-xia, QI Hong-wei, YU Xiu-fang. Comparision of dry matter digestibility of different breed cornstalk silage [J]. *Feed Research*, 2004, 12: 1-3.
- [15] Getachew G, Robinson P H, Depeters E J, et al. Methane production from commercial dairy rations estimated using an in vitro gas technique [J]. *Anim Feed Sci Technol*, 2005, 123(124): 391-402.
- [16] 糟谷広高. 降低干乳牛的粪尿量·氮排放量和乳牛的甲烷产生量 [J]. 根川農試 酪農研究通信, 2007, 第 16 号.
- SUkukoku. Reduction of dry cow's faeces, urine, nitrogen emission and CH₄ production of dairy cow[J]. *Nikawa Insititution of Agriculture Dairy Research Communication*, 2007, 16.
- [17] 農林水産技術会議事務局. 肉用牛からのメタン産生抑制技術の開発[J]. 研究成果, 2002, 404, 12.
- Research academy of agriculture, forestry aquaculture Sciences. Development of new approaches to reduce methane emissions from beef cattle[J]. *Research Result*, 2002, 404, 12.
- [18] 谢武华, 范连荣, 夏广顺. 控制瘤胃甲烷和发酵热产生提高反刍动物能量转化率[J]. 山东畜牧兽医, 2005, 3: 13-14.
- XIE Wu-hua, FAN Lian-rong, XIA Guang-shun. Control the production of CH₄ and fermentation heat from rumen to improve energy conversion rate of ruminants[J]. *Shandong Journal of Animal Husbandry and Veterinary Science*, 2005, 3: 13-14.