

饱和链烷技术测定绵羊食性食量精确性研究

刘贵河^{1,2}, 林立军¹, 张英俊¹, 汪诗平², 韩建国¹, 马秀枝²

(¹中国农业大学草地研究所, 北京 100094; ²中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008)

摘要:【目的】验证饱和链烷技术测定家畜食性和食量的精确性, 确定绵羊粪便中链烷的回收率。【方法】于2004年秋季在中国科学院内蒙古草原生态系统定位研究站用不同放牧演替阶段的优势植物羊草 (*Leymus chinensis*)、糙隐子草 (*Cleistogenes squarrosa*) 和冷蒿 (*Artemisia frigida*) 按一定比例混合组成日粮, 饲喂9只2岁羯羊, 每只羊投喂一粒QSM胶囊, 试验期内每天记录绵羊实际牧草采食量、采食成分和排粪量, 利用气相色谱分析牧草和粪样的链烷含量, 应用链烷技术测定绵羊的排粪量、不同牧草采食比例和总干物质采食量, 并与实际值进行比较。【结果】3种牧草链烷模式存在种间差异; 绵羊粪便中链烷的回收率随链烷长度的增加而线性增加; 绵羊排粪量测定值与实际值存在极显著的正相关 ($P < 0.01$, $r = 0.9994$); 绵羊采食羊草、糙隐子草和冷蒿比例的测定值与实际值存在极显著 ($P < 0.01$) 正相关, 相关系数分别为 0.9913、0.9864 和 0.9999; 绵羊干物质采食量用 C_{33} 、 C_{32} 和 C_{31} 、 C_{32} 比值测定的值分别比实际值低 4% ($\pm 1.3\%$) 和 7% ($\pm 1.3\%$), 但差异不显著 ($P > 0.05$)。【结论】饱和链烷技术可以精确测定典型草原绵羊的排粪量、食物组成和采食量。

关键词: 绵羊; 饱和链烷; 食性; 食量; 精确性

Study on the Accuracy and Precision of n-Alkanes as Markers for Estimation of Diet Composition and Herbage Intake of Sheep

LIU Gui-he^{1,2}, LIN Li-jun¹, ZHANG Ying-jun¹, WANG Shi-ping², HAN Jian-guo¹, MA Xiu-zhi²

(¹Institute of Grassland Science, China Agricultural University, Beijing 100094; ²Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008)

Abstract: 【Objective】An experiment was carried out to determine the accuracy and precision of n-alkanes as markers for estimation of feces output, diet composition and herbage intake of sheep, and measure fecal recoveries of n-alkanes in sheep, 【Method】The experiment was carried out at the Inner Mongolia Grassland Ecosystem Research Station of the Chinese Academy of Sciences in autumn 2004. Nine wethers selected from a group at 2-years-old of age were fed with fresh mixtures of *Leymus chinensis* (30%), *Cleistogenes squarrosa* (20%) and *Artemisia frigida* (50%) in known proportions and amounts for 14 days. Artificial QSM capsules were dosed during the experiment. The samples of herbage and feces were collected daily for 7 days and dried for analysing the n-alkane concentration by a gas chromatography. 【Result】The results showed that there was a difference in concentration of n-alkanes among 3 species forages, and fecal recoveries of n-alkanes linear increased with increasing carbon chain lengths. There were significant correlations ($P < 0.01$) between estimated feces output ($r = 0.9994$), dietary composition of *L. chinensis* ($r = 0.9913$), *C. squarrosa* ($r = 0.9864$), *A. frigida* ($r = 0.9999$) and herbage intake using n-alkane technique and the actual values. Estimated intakes were 4% ($\pm 1.3\%$) and 7% ($\pm 1.3\%$) lower than the actual intake by sheep based on $C_{33}:C_{32}$ and $C_{31}:C_{32}$ n-alkane ratios, respectively, but were not differ significantly ($P > 0.05$). 【Conclusion】In conclusion, n-alkane technique can provide an accurate and precise estimation of feces output, diet composition and herbage intake of sheep.

Key words: Sheep; n-alkane; Diet composition; Herbage intake; Accuracy and precision

收稿日期: 2005-03-05; 接受日期: 2006-04-13

基金项目: 国家自然科学基金重大研究计划重点基金项目 (90211017) 国家自然科学基金 (30371019) 和中国科学院知识创新工程方向性项目 (KSCX2-SW-107)

作者简介: 刘贵河 (1968-), 男, 内蒙古太仆寺旗人, 博士研究生, 研究方向为草地生态与管理。Tel: 13241907566; E-mail: guiheliu@sohu.com; 通讯作者张英俊 (1971-), 男, 内蒙四子王旗人, 副教授, 博士, 研究方向为草原生态与管理。Tel: 010-62733409; E-mail: zhangyj@cau.edu.cn; 通读作者汪诗平 (1964-), 男, 安徽桐城人, 研究员, 博士, 研究方向为草原生态与放牧管理。E-mail: wangship@yahoo.com

0 引言

【本研究的重要意义】在放牧生态和反刍动物营养研究中，最关键的研究内容之一，也是困扰研究者最多的问题之一，就是估测完全自由放牧条件下家畜的食性食量，这是研究动—植物关系的基础，也是研究放牧家畜营养状况的基础^[1]。因为，放牧家畜食性食量及牧草消化率是计算草地载畜量和制定家畜营养标准及补饲量的重要依据，是放牧系统调控的关键^[2,3]。【前人研究进展】放牧家畜的采食量，尤其是所食植物的种类组成非常难以测定。随着放牧生态学和放牧行为科学的发展，许多科学家曾对其测定方法做过大量的研究工作，提出许多种常规测定方法，但这些方法都有很大的局限性，或者是测定精确度不高，或是实验繁琐、工作量大、费用昂贵、难以控制等^[4]。饱和链烷技术是一项测定放牧家畜食性食量的新技术，始于 20 世纪 80 年代末。该技术是利用植物表皮蜡质层中普遍存在的饱和性碳氢化合物或称饱和链烷（n-alkanes）作为内源标记物来测定放牧家畜的食性食量^[5]。在这些链烷中，偶数链烷含量低，奇数链烷含量高，家畜采食后不被吸收，在粪便中回收率高且相邻链烷回收率相近^[6]。通过投喂家畜人工合成的已知浓度的与奇数链烷相邻的偶数链烷胶囊，利用两者回收率相近的特点可以消除不完全回收的缺点，从而准确地测定家畜采食量^[7]。由于链烷在植物体中的模式存在明显的种间差异^[8]，故通过分析家畜采食的牧草种类和排泄粪中链烷含量，就可以计算出家畜采食牧草种类组成及其比例，进而推算出采食各种植物组分的量^[9,10]。【本研究切入点】但该项技术也受很多因素的影响，如牧草种类和部位、生育期及季节性变化、链烷的分析和计算方法等^[11-14]。为了进一步研究该技术在放牧领域中的应用，填补国内空白，试验选用内蒙古典型草原不同放牧演替阶段的已知数量和比例的 3 种主要牧草，在室内代谢笼中饲喂绵羊，确定该技术测定家畜食性和食量的精确性及其影响因素。【拟解决的关键问题】旨在更科学合理地管理草地和指导放牧家畜生产，同时也为饱和链烷技术在中国的应用提供科学的理论和实践依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

本研究于 2004 年 8 月 5 日至 8 月 19 日在中国科学院内蒙古草原生态系统定位研究站（北纬 43°26′~

44°08′，东经 116°04′~117°05′）进行，选择内蒙古典型草原不同放牧演替阶段的的优势植物羊草（*Leymus chinensis*）、糙隐子草（*Cleistogenes squarrosa*）和冷蒿（*Artemisia frigida*）按一定比例混合组成绵羊日粮。试验从 20 只 2 岁羯羊（内蒙古细毛羊×蒙古羊）中选择健康无病的 9 只，体重（38±2.4）kg。试验开始，每只羊投喂一粒 QSM 饱和链烷缓释胶囊（购于新西兰 Captec™ 公司），胶囊中含 C₃₂ 和 C₃₆ 各 1.0 g，每天释放 50 mg，可持续释放 17~23 d。试验期每只羊每天饲喂羊草（30%）、糙隐子草（20%）和冷蒿（50%）3 种鲜草混合的日粮 2.5 kg，分别在每日 8:00、12:00 和 15:00 分 3 次饲喂，傍晚给绵羊饮水、补盐。

1.2 样品采集和处理

饲喂绵羊前，每天准确称取 3 种鲜草各约 150 g，在 65℃ 烘干，测牧草干鲜比，饲喂后收集食剩的牧草并按种分开，每种牧草取约 50 g，准确称量后在 65℃ 烘干测干鲜比，以计算每种牧草每天实际采食的干物质量和比例；同时把试验期所取牧草分别混合均匀，粉碎过 1 mm 筛，备测链烷含量。

试验期每 24 h 收集一次全粪，准确称量实际排粪量。然后用四分法取 10% 粪样在 45℃ 烘干。然后将每只羊 7 d 的粪样按比例混合均匀，粉碎过 1 mm 筛，备测链烷含量。

1.3 链烷提取和化学分析

准确称取牧草样品 1.0 g 或粪样 0.8 g（精确到 0.001 g），放入 Pyrex 玻璃瓶中，加入 0.2 mg C₂₂、0.2 mg C₃₄ 标准样和 10 ml 乙醇化 KOH（1.5 mol·L⁻¹），封口置于 90℃ 烘箱中皂化 4.5 h，取出后加入 7 ml 庚烷和 5 ml 蒸馏水，摇匀后在 2 000 r/min 的离心机离心 5 min，上清液置于试管中，在 Pyrex 瓶中再加入 7 ml 庚烷，摇匀后在 2 000 r/min 的离心机再离心 5 min，上清液置于同一试管中，溶液用 2 g 硅胶过滤提纯，用庚烷反复清洗试管，将滤液中的庚烷用空气泵吹干得到链烷，然后溶解到 1 ml 庚烷中，注入 1 μl 于 GC-2010 气相色谱中（岛津公司生产）分析链烷含量。

1.4 色谱条件

GC-2010 配置 FID (flame ionization detector) 检测器，色谱柱为 TC-1 型毛细柱（0.25 mm 直径，30 m 长，0.25 μm 厚）。分离法注入（Split ratio 55:1）。载气氦气速率 1.3 kg·cm⁻²（1.0 ml·min⁻¹ 左右），氮气速率 40 ml·min⁻¹，氢气为 0.5 kg·cm⁻²（30 ml·min⁻¹ 左右）。柱箱温度设置为升温程序，起始温度 200℃，停留 0.5 min，然后以 20℃·min⁻¹ 升温 250℃，再以 10℃·min⁻¹

从 250 升温到 300 ,以 6 ·min⁻¹ 从 300 升温到 324 ,以 3 ·min⁻¹ 从 324 升温到 350 ,然后在 3 min 内从 350 降温到 200 。注射器和监测器的温度都保持在 350 。

1.5 校准

含有 C₂₀ 到 C₃₆ 的标准溶液设置为 5 个浓度梯度,由浓度和峰面积的回归关系得出标准曲线,用以计算样品中链烷的浓度。采用标准添加法,即在每个样品测定时均加入 C₂₂ 和 C₃₄,根据二者加入前后浓度的比值建立回归方程以校正样品中链烷的萃取损失^[12]。

1.6 回收率计算

粪样中各种链烷含量乘以 7d 粪便干物质排出量即为粪中链烷总量,牧草中各种链烷含量乘以 7d 相应牧草干物质采食量即为采食牧草链烷总量,二者比值即为相应链烷的回收率。

1.7 利用链烷技术计算排粪量

$$\text{排粪量} = (C_{36} \text{ 回收率} \times D_{36}) / F_{36}$$

其中: D₃₆ 是投喂 QSM 胶囊后每天释放的 C₃₆ 量 (50 mg); F₃₆ 为粪中 C₃₆ 链烷的浓度

1.8 牧草采食比例和采食量 (DMI) 计算

绵羊采食牧草成分采用最小平方优化程序 Eatwhat 进行计算^[15],在此基础上,利用下述公式计算绵羊干物质采食量。

$$\text{DMI} = (F_{33}/F_{32}) \times D_{32} / [H_{33} - (F_{33}/F_{32}) \times H_{32}]$$

$$\text{DMI} = (F_{31}/F_{32}) \times D_{32} / [H_{31} - (F_{31}/F_{32}) \times H_{32}]$$

其中: H₃₁、H₃₂ 和 H₃₃ 分别是家畜所采食牧草相对应的总链烷含量, F₃₁、F₃₂ 和 F₃₃ 分别是粪便中相对应链烷的含量, D₃₂ 是投喂 QSM 胶囊后每天释放的 C₃₂ 量 (50 mg)。

1.9 数据分析

比较实际和运用链烷技术测定的绵羊排粪量、采食成分比例和采食量,并利用 SAS V6.12 统计软件进行方差分析、相关分析和回归分析。

2 结果与分析

2.1 3 种牧草链烷模式

从图 1~3 可以看出,3 种牧草的链烷特征模式是不同的,每种牧草的奇数链烷含量均远远高于相邻偶数链烷含量。其中,羊草和糙隐子草含偶数链烷含量甚少,二者均以 C₂₇、C₂₉、C₃₁、C₃₃ 含量丰富,且以 C₃₁ 含量最高(羊草为 79、糙隐子草为 85 mg·kg⁻¹ DM),其次为 C₂₉,说明禾草中偶数链烷含量甚微,长奇数长链烷占优势。而冷蒿含有的链烷种类较多,但仍以

奇数链烷含量丰富,且远远量高于前两种禾草相应的链烷含量,其中以 C₂₉ 含量最高 (1081 mg·kg⁻¹ DM),其次为 C₃₁ (731 mg·kg⁻¹ DM),这说明双子叶牧草优势链烷含量与单子叶禾草有明显的差异;同时,3 种牧草优势链烷含量的比值也存在显著的差异,其中,冷蒿 C₂₉:C₃₃ 远远高于其它两种禾草的比值 (表 1)。

2.2 绵羊粪便中链烷回收率

9 只绵羊粪便中不同长度链烷的回收率见表 2,从 C₂₁ 到 C₃₅ 其回收率呈线性增加,其线性关系为 y = 0.0387x + 0.5428 (R² = 0.9668),其中 x 为碳链长度, y 为绵羊粪便中回收率。

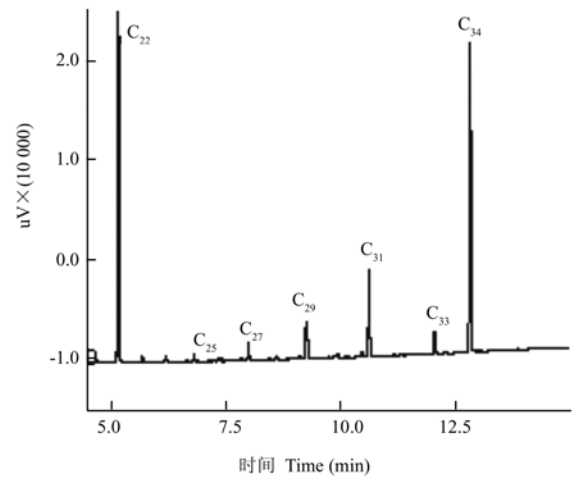


图 1 羊草链烷模式图
Fig. 1 Pattern of alkane in *Leymus chinensis*

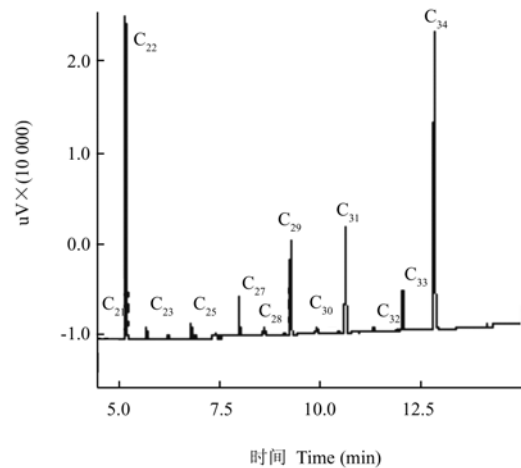


图 2 糙隐子草全株链烷模式图
Fig. 2 Pattern of alkane in *Cleistogenes squarrosa*

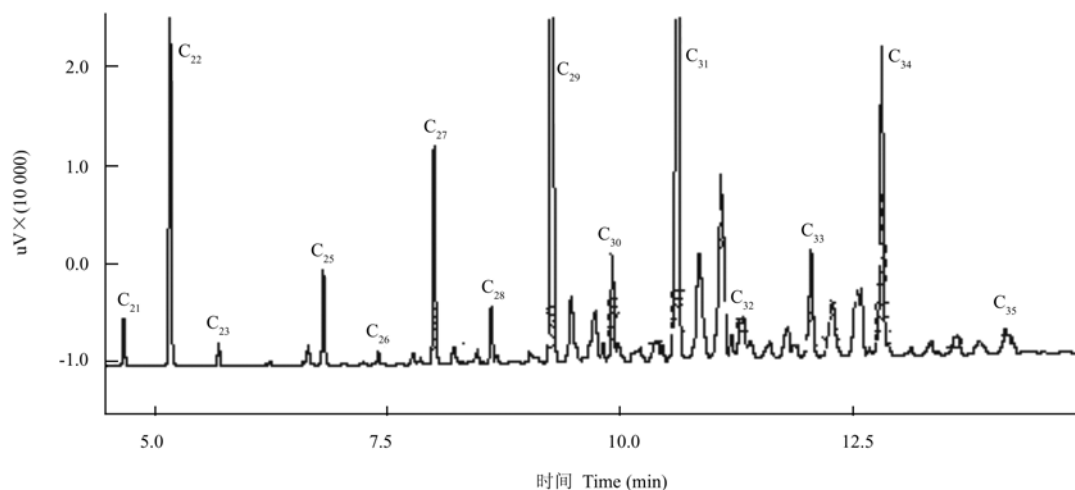


图 3 冷蒿链烷模式图

Fig. 3 Pattern of alkane in *Artemisia frigida*

表 1 牧草中优势链烷含量的比值

Table 1 Ratios of dominant n-alkanes concentrations in herbage

牧草名称 Species	比值 Ratio		
	C ₂₉ : C ₃₁	C ₂₉ : C ₃₃	C ₃₁ : C ₃₃
羊草 <i>L. chinensis</i>	0.53	1.27	2.40
糙隐子草 <i>C. squarrosa</i>	0.90	1.77	1.98
冷蒿 <i>A. frigida</i>	1.48	7.98	5.39

表 2 绵羊粪便中不同长度链烷的回收率及标准差

Table 2 Faecal recoveries of n-alkanes and standard errors (S.E) in fece of sheep

碳链长度 n-alkanes	C ₂₁	C ₂₃	C ₂₄	C ₂₅	C ₂₆	C ₂₇	C ₂₈	C ₂₉	C ₃₀	C ₃₁	C ₃₂	C ₃₃	C ₃₅	C ₃₆
回收率 Recoveries	0.58	0.64	0.70	0.66	0.74	0.75	0.83	0.84	0.89	0.90	0.94	1.00	1.11	1.08
标准差 S.E	0.03	0.04	0.05	0.04	0.05	0.03	0.05	0.04	0.04	0.05	0.07	0.05	0.10	0.07

2.3 绵羊排粪量

绵羊排粪量实际值和测定值的比较见图 4, 两者之间存在高度正相关 ($r = 0.9994$), 其回归直线的斜率为 1.04 左右; 另外, 9 只绵羊排粪量实际值和测定值经 t 检验, 差异不显著 ($P > 0.001$), 说明链烷技术可以准确测定绵羊排粪量。

2.4 绵羊采食牧草比例

绵羊采食牧草比例实际值和测定值间存在显著正相关, 羊草、糙隐子草和冷蒿的相关系数分别为 0.9913、0.9864 和 0.9999, 将采食 3 种牧草实际比例与测定比例平均数相比, 糙隐子草为 1.007、羊草为 0.995、冷蒿为 1.001, 三者的回归直线斜率介于 0.93 ~ 1.09 之间(图 5 ~ 7); 9 只绵羊采食 3 种牧草的测定比例分别为糙隐子草 23.9% ($\pm 2.8\%$)、羊草 33.0%

($\pm 2.9\%$)、冷蒿 43.1% ($\pm 5.7\%$), 与实际牧草比例和测定比例分别进行 t 检验, 差异均不显著 ($P > 0.01$), 说明链烷技术可以准确测定绵羊采食 3 种牧草的比例。

2.5 绵羊采食量

绵羊采食量实际值和利用 C₃₁:C₃₂ (图 8-A) 和 C₃₃:C₃₂ (图 8-B) 测定值间存在显著性正相关 ($r = 0.7458, 0.7072$), 其回归直线的斜率分别为 1.37 和 1.31。9 只绵羊平均每天干物质采食量实际值为 0.919 ± 0.09 kg, 用 C₃₁:C₃₂ 和 C₃₃:C₃₂ 测定的采食量分别为 $0.852 \pm 0.16, 0.885 \pm 0.16$ kg, 将实际采食量和测定采食量经 t 检验, 差异不显著 ($P > 0.05$), 说明链烷技术可以准确测定绵羊总干物质采食量。

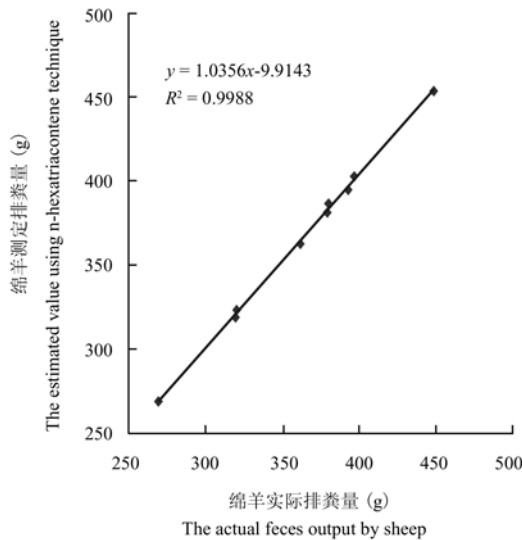


图 4 绵羊排粪量实际值和测定值比较

Fig. 4 Regression relationship between the actual feces output by sheep and estimated value using n-hexatriacontane (C₃₆) technique

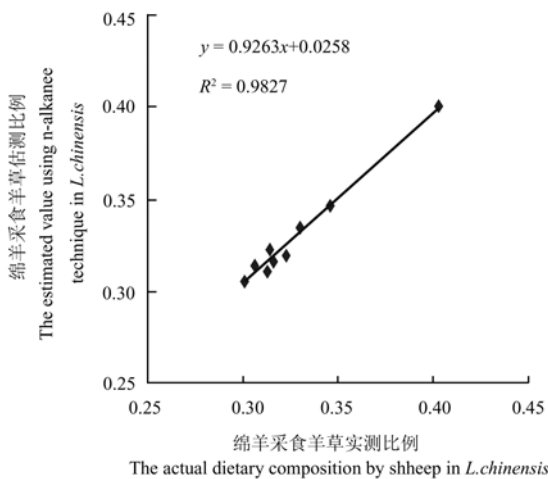


图 5 羊草采食实际值与测定比例比较

Fig. 5 Regression relationship between the actual dietary composition by sheep and estimated value using n-alkane technique in *Leymus chinensis*

3 讨论

3.1 牧草中链烷种类和含量的差异是评价家畜采食牧草种类组成和采食量的依据, 试验材料中禾草奇数链烷含量丰富, 偶数链烷含量少, 此结果与 Dove 等^[14]和 Zhang 等^[16]研究的结果相一致; 冷蒿的链烷组成和含量与豆科牧草地三叶的结果类似^[17], 与鸭茅、多年

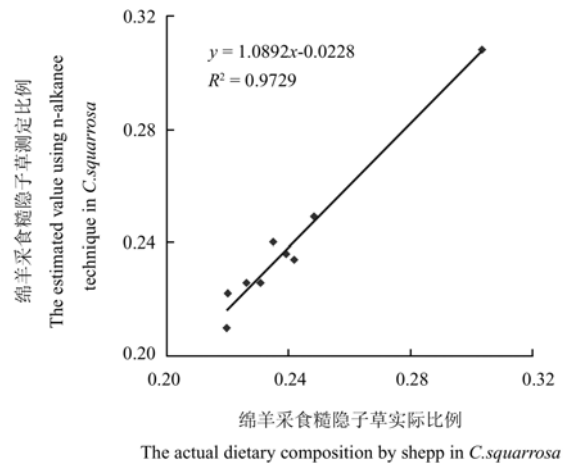


图 6 糙隐子草采食实际与测定比例比较

Fig. 6 Regression relationship between the actual dietary composition by sheep and estimated value using n-alkane technique in *Cleistogenes squarrosa*

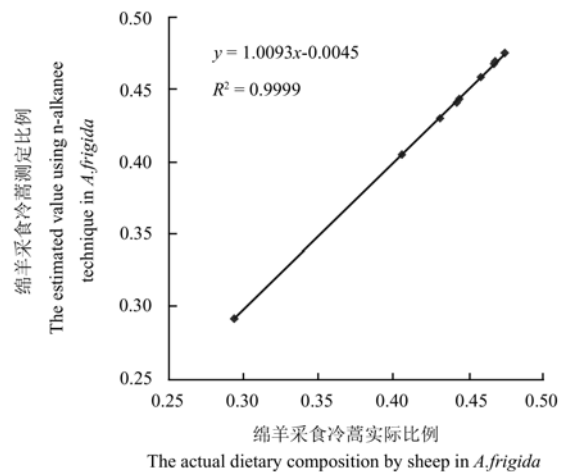


图 7 冷蒿采食实际与测定比例比较

Fig. 7 Regression relationship between the actual dietary composition by sheep and estimated value using n-alkane technique in *Artemisia frigida*

生黑麦草等不同^[6], 双子叶牧草和单子叶牧草优势链烷含量和比值的差异再次验证了不同牧草含有独特的“植物指纹”信息^[6,7,13]。这正是推广并运用链烷技术评价家畜食性和食量的理论基础。

3.2 粪便中链烷的回收率是运用链烷技术精确测定食草动物食性和食量的前提, 牧草中链烷通过家畜消化道后的回收率存在差异。Mayes 等^[5]研究表明, 链

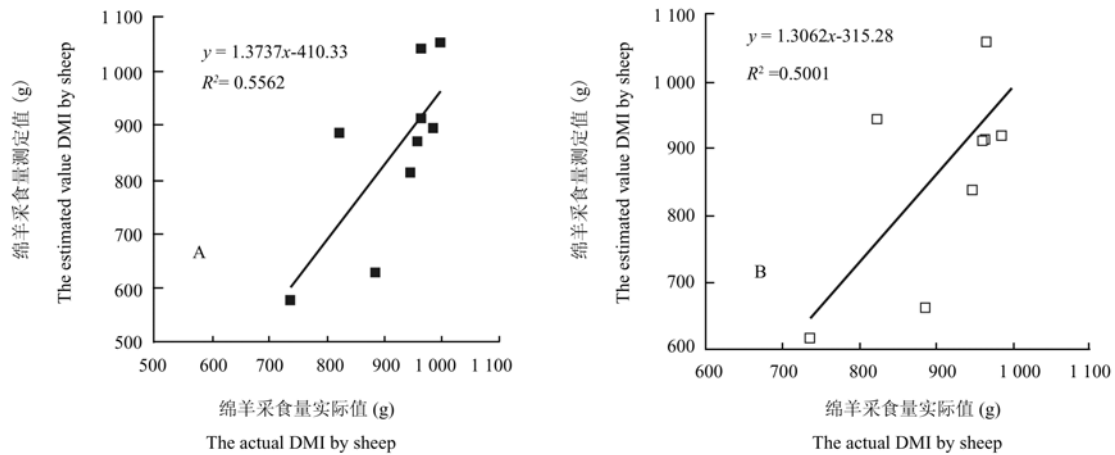


图 8 绵羊采食量实际值与用 $C_{31}:C_{32}$ (A) 和 $C_{33}:C_{32}$ (B) 的测定值比较

Fig. 8 Relationship between the actual DMI by sheep and the estimated value from $C_{31}:C_{32}$ (A) and $C_{33}:C_{32}$ (B) n-alkane ratios

烷回收率随链烷长度增加而增加^[18], 如链烷 C_{28} 到 C_{35} , 回收率由 78.6%线性增加为 95.3%; 而 Vulich 等^[19]测定的链烷从 C_{28} 到 C_{35} , 回收率由 93.3%减少为 91.1%。本研究表明, 链烷从 C_{21} 到 C_{35} , 回收率由 59%线性增加到 111%, 这与以上研究人员的结果类似。但 Ordakowski 等^[20] 研究结果表明, 链烷的回收率与碳链的长度没有关系。链烷的回收率受很多因素的影响, 其中分析方法和样品处理影响较大, 如乙醇化 KOH 的浓度、皂化时间、提取链烷有机溶剂的选择、内标物的使用和计算、样品的干燥方式等^[8,11,19]。在低温 (15~25) 下长链烷提取不完全, 高温 (65) 用正庚烷可以完全提取^[12], 原因是高温环境下, 长链烷可以从溶解层全部转移到溶剂层中, 故一般在加正庚烷前要在 60 下加热皂化样品 10 min, 保证长链烷的全部提取。需要说明的是即使在高温下, 短链烷也不会被完全提取, 但比低温下提取的量。此外, 仅用 C_{34} 作为内标在校正萃取损失时, 短链烷会被高估, 仅用 C_{22} 作为内标在校正萃取损失时, 长链烷会被低估, 这样会对食性和食量的测定造成误差。为了减少这种误差, 本研究采用 C_{22} 和 C_{34} 两种内标, 并用其比值的回归方程去校正其它链烷在萃取中的损失。此外, 粪便中链烷的回收率不因采食量和采食牧草组分的变化而变化^[21] 本试验 9 只绵羊粪便中链烷的回收率相似, 不受试验动物个体采食量差异的影响^[22]。

3.3 链烷技术测定牧草采食比例是通过牧草链烷含量与经回收率校正后的粪便中链烷含量建立联立方程来计算的^[7], 但随着计算机软件的发展, 最小平方和

优化程序 (EatWhat)^[15]被广泛应用, 在测定牧草采食比例时更为简单、快速、准确^[23], 其中使用比牧草种类数多的链烷数量测定的结果与使用与牧草种类数相等的链烷数量测定的结果存在差异, 但不显著^[15], 本研究结果与之类似。此外, 在测定种类组成较多的草地及牧草不同部位采食时误差也较大, 这与牧草的地域性、生育期和季节变化关系较大^[11,13], 需要进一步深入研究。

3.4 饱和链烷技术理论上可以测定 15 种混合牧草草地的家畜采食量和采食牧草比例^[14], Vulich 等^[19]用 $C_{33}:C_{32}$ 和 $C_{31}:C_{32}$ 比值成功地评价了 3 种牧草的干物质采食量, 其中, $C_{33}:C_{32}$ 测定的 DMI 比实际值高 3% ($\pm 1.2\%$), $C_{31}:C_{32}$ 测定的 DMI 比实际值低 8% ($\pm 1.1\%$), 而本研究用 $C_{33}:C_{32}$ 和 $C_{31}:C_{32}$ 两种方法测定了 3 种牧草的采食量, 但结果都偏低, 分别比实际值低 4% ($\pm 1.3\%$) 和 7% ($\pm 1.3\%$), 其主要原因是两只试验羊的测定值偏低, 可能与这两只羊瘤胃瘘管中溢出的食糜较多而导致粪便样品中链烷浓度相对较高有关, 如果用 7 只羊的数据计算, 则 $C_{33}:C_{32}$ 测定的 DMI 比实际值高 1% ($\pm 1.0\%$), $C_{31}:C_{32}$ 测定的 DMI 比实际值低 3% ($\pm 0.9\%$)。因此, 建议用瘤胃瘘管羊做投喂链烷试验时, 应减少瘤胃食糜的采集或损失。同时, 测定采食量所用的链烷种类在牧草中的含量对测定结果也会有影响, 本试验中 3 种牧草 C_{31} 含量较高, 测定结果却偏差较大, 而 C_{33} 含量较低, 测定结果偏差较小, 这与 Vulich 等^[19]的结果类似, 但与 Laredo^[11]等和 Newman^[24]得出的结论相反, 可能与所

采食的牧草地域有关。此外,其他研究人员用该技术也成功地测定了 3~5 种牧混合牧草的采食^[25,26],而 Martins 等^[27]对种类组成较多的混合草地也做出了成功的测定。在应用链烷技术正确测定家畜食性食量除了取样要有代表性^[28]、样品分析方法和计算方法一致外^[15],还要对组成草地的牧草进行链烷含量的测定,如果牧草中长链烷含量较低时,用该技术测定食性食量会产生很大的误差^[24],因此该技术的应用有一定的地域性限制。

4 结 论

3 种牧草中奇数链烷含量较多,偶数链烷含量较少,三者的链烷模式存在种间差异,其中双子叶牧草冷蒿的链烷种类和含量与单子叶羊草和糙隐子草差异明显;家畜粪便中链烷的回收率随链烷长度的增加而线性增加,且投喂的偶数链烷和牧草中奇数链烷的回收率相近;应用链烷技术可以精确测定绵羊排粪量、采食 3 种牧草的比例和干物质采食量。

致谢: 特别感谢德国基尔大学博士生 Thomas Glindemann 和中国科学院植物研究所王金枝老师在野外定位研究站取样工作中给予的帮助,感谢中国农业大学草地研究所历卫宏老师在室内样品分析中的帮助。

References

- [1] 汪诗平, 王艳芬, 陈佐忠. 不同放牧率对内蒙古细毛羊生长和繁殖性能的影响. 中国农业科学, 2003, 36: 1545-1553.
Wang S P, Wang Y F, Chen Z Z. Influence of stocking rate on reproduction and performance of Inner Mongolia fine wool sheep in Inner Mongolia steppe. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 36: 1545-1553. (in Chinese)
- [2] 汪诗平, 李永宏, 王艳芬. 绵羊的采食行为与草场空间异质性关系. 生态学报, 1999, 19: 431-434.
Wang S P, Li Y H, Wang Y F. Relationship between foraging areas of sheep (wether) and spatial heterogeneity of grassland and landscape. *Acta Ecologica Sinica*, 1999, 19: 431-434. (in Chinese)
- [3] 汪诗平. 不同放牧季节绵羊的食性及食物多样性及食物多样性与草地植物多样性间的关系. 生态学报, 2000, 20: 951-957.
Wang S P. The dietary composition of fine wool sheep and plant diversity in Inner Mongolia steppe. *Acta Ecologica Sinica*, 2000, 20: 951-957. (in Chinese)
- [4] 汪诗平. 几种草食动物日粮植物组成研究技术和方法的比较. 草业学报, 1995, 4 (3): 8-16.
Wang S P. A Review of methods used to determine botanical composition of diets for herbivores. *Acta Prataculturae Sinica*, 1995, 4 (3): 8-16. (in Chinese)
- [5] Mayes R W, Lamb C S, Colgrove P M. The use of dosed and herbage n-alkanes as markers for the determination of herbage intake. *Journal Agricultural Science Cambridge*, 1986, 107: 161-170.
- [6] Malossini F, Piasentier E, Bovolenta S. n-Alkane content of some forages. *Journal Science Food Agricultural*, 1990, 53: 405-409.
- [7] Dove H, Mayes R W. The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition herbivores: a review. *Journal Agricultural Research Australian*, 1991, 42: 913-952.
- [8] Dove H. Using the n-alkanes of plant cuticular wax to estimate the species composition of herbage mixtures. *Journal Agricultural Research Australian*, 1992, 43: 1711-1724.
- [9] Mayes R W, Dove H. Measurement of dietary nutrient intake in free-ranging mammalian herbivores. *Nutrition Research Reviews*, 2000, 13: 107-138.
- [10] Zhang Y J. Introduction of plant wax alkane technique. *Proceedings of China International Grassland Conferences*. Beijing: 2002: 77-81.
- [11] Laredo M A, Simpson G D, Minson D J, Orpin C G. The potential for using n-alkanes in tropical forages as a marker for the determination of dry matter intake by grazing ruminants. *Journal Agricultural Science Cambridge*, 1991, 117: 355-361.
- [12] Oliván M, Osoro K. Effect of temperature on alkane extraction from faeces and herbage. *Journal Agricultural Science Cambridge*, 1999, 132: 305-312.
- [13] Kelman W, Bugalho M, Dove H. Cuticular wax alkanes and alcohols used as markers to estimate diet composition of sheep, (*Ovis aries*) *Biochemical Systematics and Ecology*, 2003, 31: 919-927.
- [14] Dove H, Mayes R W, Freer M. Effects of species, plant part, and plant age on the concentrations in the cuticular wax of pasture plants. *Journal Agricultural Research Australian*, 1996, 47: 1333-1347.
- [15] Dove H, Moore A D. Using a least-squares optimization procedure to estimate botanical composition based on the alkanes of plant cuticular wax. *Australian Journal of Agricultural Research*, 1995, 46: 1535-1544.
- [16] Zhang Y J, Togamura Y, Akiyama F, Otsuki K. Differences in the n-alkane concentration of four species of wild plants in Japan. *Grassland Science*, 2002, 48: 50-52.
- [17] Dove H, Mayes R W. Plant waxes components: A new approach to estimating intake and diet composition in herbivores. *Journal of Nutrition*, 1996, 126 (1): 13-26.
- [18] Dove H, Mayes R W, Freer M, Coombe J B, Foot J Z. Faecal

- recoveries of the alkanes of plant cuticular waxes in penned and in grazing sheep. *Proceedings XVI International Grassland Congress*, 1989, Vol. 1093-1094.
- [19] Vulich S A, O'riordan E G, Hanrahan J P. Use of n-alkanes for the estimation of herbage intake in sheep: accuracy and precision of the estimates. *Journal of Agricultural Science*, 1991, 116: 319-323.
- [20] Ordakowski A L, Kronfeld D S, Holland J L, Hargreaves B J, Gay L S, Harris P A, Dove H, Sklan D. Alkanes as internal markers to estimate digestibility of hay or hay plus concentrate diets in horses. *Journal of Animal Science*, 2001, 79 (6): 1516-1522.
- [21] Elwert C, Kluth H, Rodehutsord M. Effect of variable intake of alfalfa and wheat on fecal alkane recoveries and estimates of roughage intake in sheep. *Journal of Agricultural Science*, 2004, 142: 213-223.
- [22] Brosh A, Henkin Z, Rothman S J, Aharoni Y, Orloy A, Arieli A. Effects of fecal n-alkane recovery in estimates of diet composition. *Journal of Agricultural Science*, 2003, 140: 93-100.
- [23] Newman J A, Thompson W A, Penning P D, Mayes R W. Least-squares Estimation of Diet Composition from n-alkanes in Herbage and Faeces. *Journal Agricultural Research Australian*, 1995, 46: 793-805.
- [24] Newman J A, Cribari-neto F, Jensen M J. The sensitivity of n-alkane analysis to measurement error: implications for use in the study of diet composition. *Journal of Agricultural Science Cambridge*, 1998, 131: 465-476.
- [25] Russell E, Sandberg, Don C, Adams, Terry J, Klopfenstein, Richard J, Grant. N-alkane as an internal marker for predicting digestibility of forages. *Journal Range Manage*, 2000, 53: 159-163.
- [26] Mayes R W, Dove H. Measurement of dietary nutrient intake in free-ranging mammalian herbivores. *Nutrition Research Review*, 2000, 13: 107-138.
- [27] Martins H, Elston D A, Mayes R W, Milne J A. Assessment of the use of n-alkanes as markers to describe the complex diets of herbivores. *Journal of Agricultural Science*, 2002, 138: 425-434.
- [28] Zhang Y, Togamura Y, Otsuki K. Study on the n-alkane patterns in some grasses and factors affecting the n-alkane patterns. *Journal of Agricultural Science*, 2004, 142: 469-475.

(责任编辑 林鉴非)