

牛瘤胃微生物菌群变化及其影响因素

祁宏伟 仲伟光 王玉婷 赵玉民*

(吉林省农业科学院 畜牧科学分院,吉林 公主岭 136100)

摘要 牛的瘤胃中富含各种微生物,微生物与瘤胃之间互生互利,对于牛的生长发育具有重要作用。本研究对牛瘤胃中常见的微生物菌群及其变化特征进行了综述,对影响牛瘤胃中微生物菌群变化的因素进行分析,以期为牛的生长发育、疾病防控和质量安全提供科学有效的指导。

关键词 牛;瘤胃;微生物菌群;多样性变化;影响因素

中图分类号 S823 文章编号 1007-4333(2018)09-0075-06

文献标志码 A

Changes of microbial flora in cattle rumen and its influential factors

QI Hongwei, ZHONG Weiguang, WANG Yuting, ZHAO Yumin*

(Animal Science Branch, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, China)

Abstract The rumen of bovine is rich in various microorganisms. The relationship between microorganisms and rumen is a mutually beneficial relationship, which plays an important role in the growth and development of cattle. In this study, the microbial flora and the variation characteristics of bovine rumen are reviewed, and the factors which influence the microbial flora changes in bovine rumen are analyzed to provide scientific and effective guidance for the development of bovine growth, disease prevention and control as well as quality safety.

Keywords cattle; rumen; microbial flora; diversity change; influential factor

牛作为反刍动物,具有瘤胃这一特殊构造的生理结构,能够消化其他动物难以消化的纤维素、半纤维素和木质素等食物,并且通过自身的生理生化反应,转化合成为宿主和人类直接利用的营养物质。牛瘤胃本身并不能消化纤维素和木质素等物质,而依赖与之共生的各种微生物菌群的作用,这些微生物能够帮助宿主从低营养水平的饲料中摄取生长发育所需要的能量,同时具有为宿主分解和代谢有毒物质的能力。因此,研究牛瘤胃中的这些微生物菌群变化及其影响,不仅对于牛生长发育过程中的营养需求提供帮助,而且对于牛的疾病防控、畜产品质量安全等方面具有重要指导意义。

1 牛瘤胃常见微生物菌群

牛瘤胃中的生物菌群种类繁多、数量庞大,主要

有细菌、真菌、古菌、原虫、病毒和噬菌体等。据估测,1 g 牛瘤胃液中,含有 100 多亿个细菌、1 万多个真菌,10 至 100 多万个原虫等^[1-2]。正是这些数量众多菌群的共同作用,参与了宿主的营养代谢、吸收、机体免疫等过程,如降解蛋白质、淀粉等,并产生氨基酸和脂肪酸等物质,保障了宿主的正常生长发育和繁殖。目前牛瘤胃中已鉴定出 60 余种细菌,如:Kuhnert 等^[3]从牛瘤胃中发现了一种革兰阴性非运动型球菌 *Basfia succiniciproducens*,在厌氧条件下可以将葡萄糖转化为葡萄酸。张青青等^[4]从牛瘤胃中筛选出了一种能够产纤维二糖磷酸化酶的克雷伯氏菌属菌株 BY-a; Newbrook 等^[5]从牛瘤胃中分离出一种细菌菌株 Ru1^T,属于一种新型的梅毒螺旋体属。真菌方面,目前已从牛瘤胃中分离出来 6 个属 16 个种类,这些真菌对于降解大片段的植物

收稿日期: 2017-12-21

基金项目: 吉林省重点科技攻关项目(20160204015NY);吉林省农业科技创新工程项目(CXGC2017Y003);国家肉牛牦牛产业技术体系(CARS-37)

第一作者: 祁宏伟,研究员,主要从事反刍动物营养与饲料科学的研究,E-mail:qihw2001@163.com

通讯作者: 赵玉民,研究员,主要从事肉用草食家畜繁育及生产技术研发工作,E-mail:zhaoym-02-12@vip.163.com

纤维和大颗粒饲料发挥着重要的作用^[6-7];因此,一些厌氧真菌也被作为饲料添加剂加以利用。杨波等^[8]从牛瘤胃内容物中分离出一株高产纤维素酶的真菌Z90,产羧甲基纤维素酶和滤纸酶(FPA)的活性非常高。Tuyen等^[9]研究证实,真菌能够显著影响牛瘤胃的发酵,与纤维素物质比较,更容易利用和降解饲料中的木质素。原虫对牛瘤胃发酵起着重要的作用,既能直接将瘤胃中的淀粉和纤维素降解为脂肪酸,又能吞噬牛瘤胃中的细菌等微生物。目前,已经在牛瘤胃中发现了15个属、46个种的原虫。牛瘤胃中的古菌数量相对较少,其中数量最多的是产甲烷菌(*Methanogen*),能够将瘤胃中的氢气、甲酸以及其他物质转化为甲烷和二氧化碳,因此,反刍类家畜也是导致温室效应的主要因素之一。目前一些产甲烷菌已经从牛瘤胃中得到分离和鉴定^[10]。

2 牛瘤胃微生物菌群变化特征

牛瘤胃与微生物之间构成复杂的微生态环境,这些微生物菌群变化影响着饲料的利用率和牛的营养吸收。对牛瘤胃中的微生物菌群变化特征进行研究,有助于进一步加强对反刍动物营养机制的认识。

2.1 多样性变化特征

牛瘤胃中菌群变化最主要的特征就是多样性,这体现在微生物数量、种类多样,也体现在不同个体中的微生物种类和数量的变化。Kim等^[1]对牛瘤胃中的13 000多个细菌进行16S rRNA基因测序分析,发现绝大多数真菌的变种属于厚壁菌门(56.1%)、拟杆菌门(30.54%)以及变形菌门(4.2%),说明这3大类微生物在牛瘤胃中占据主导地位。Fouts等^[11]对12头奶牛瘤胃中的内容物(粗饲料为干草和苜蓿)进行了基因测序,分别聚类得到52个真菌变种、4 370个细菌变种和10个古菌变种,发现与其它牛瘤胃中的微生物变种数量相比均有不同程度降低,其中古菌变种的量减少最多;在单个牛瘤胃中只检测到了40个真菌变种,其中 *Delphinellan*、丛赤壳属和 *Penicilliopsis* 等3个属的数量占瘤胃真菌总数的25%以上。不同个体之间的微生物组成也存在明显的差异:Jami等^[12]对16头荷斯坦奶牛瘤胃中的微生物进行研究发现,16S rRNA基因V2—V3区进行扩增子测序共得到近5 000个微生物变种,平均每头奶牛瘤胃中包含1 800多个变种,但16头奶牛瘤胃中共有的变种仅有157个;Jami等^[13]还发现,对于不同个体,仅有51%的细菌分类

相似。另外,牛瘤胃也可以被利用作为克隆文库,主要原因在于其富含功能基因,如 Weimer 和 Zanine 等^[14-15]从牛瘤胃中分离出了一种能将瘤胃内容物分解为己酸的梭状芽孢杆菌、牛链球菌,提高了干物质回收率和粗蛋白回收率,这些生物菌群和转化能力在工业生产中具有较大的应用潜能。

2.2 宿主不同发育阶段菌群变化特征

牛在从幼龄到成龄生长发育的过程中,瘤胃中的微生物种群和数量也发生明显的变化,表明微生物能够促进瘤胃的生长发育:Jami等^[16]研究了牛瘤胃从1日龄到2岁之间五个年龄阶段的菌群变化特征,发现随着年龄增长,瘤胃中厌氧菌的数量持续增多,但兼性厌氧菌和需氧菌的数量均减少,促进瘤胃发育成熟的细菌在牛出生1 d后就被检测到,而随着日龄增大,促进瘤胃发育成熟的细菌则变得越来越少;王晓旭^[17]研究发现,围产期的奶牛瘤胃中的乳酸杆菌和牛链球菌数量明显增多,这样能够加速促进乳酸的生成;但埃氏巨型球菌和反刍月形单胞菌的数量却显著下降,导致乳酸不能充分分解,从而引起挥发性脂肪酸浓度持续降低;产甲烷菌在维持瘤胃新陈代谢和功能上起着关键作用, Friedman等^[18]对不同发育阶段牛瘤胃产甲烷菌群落组成及功能动态进行了研究,发现牛瘤胃甲烷生成过程随年龄而变化,未发育成熟的牛,甲基营养生成甲烷的活性较高,可能与其瘤胃中的新菌 *Methanosarcinales* 有关,而在成年牛瘤胃中则观察到更高的营养活性,其中氢营养类别的比例较高。

2.3 微生物菌群之间的相互作用

牛瘤胃微生物之间可以通过相互作用来提高对牛胃纤维素等复杂碳水化合物的消化能力。一部分微生物可以为另一部分微生物提供生长发育所需要的营养,同时对产物的抑制也有很好的消除作用。瘤胃中微生物的相互关系可以分为合作、共生、竞争、寄生等,纤维素、半纤维素和果胶物质等降解过程就是瘤胃微生物之间相互合作的结果。微生物能够借助纤维素降解菌分泌的酶消化瘤胃内容物中的淀粉等,产生的降解产物可以为纤维素菌生长提供营养物质,这种现象称之为“互喂现象”,牛瘤胃中多种细菌参与了促进纤维素酶的活性并将纤维素转化为营养物质^[19]。另外,瘤胃中的某类微生物可能会干扰其它微生物的生长,如瘤胃原虫可以捕食瘤胃中的一些细菌,利用细菌降解后产生的氨基酸来合成原虫所需的虫体蛋白,这种捕食行为可能会改变

牛瘤胃中的菌群结构。Ozutsumi 等^[20]对肉牛瘤胃中具备原虫和去除原虫的纤维素降解菌研究发现,去除原虫的肉牛瘤胃中,黄色瘤胃球菌和白色瘤胃球菌的 16S rDNA 数量基因分别比具备原虫的肉牛瘤胃组分别高出 2.0 和 3.5 倍。瘤胃中细菌和原虫还存在内共生关系,如瘤胃中的双毛属、真双毛属、内毛属等纤毛原虫体表存在外共生的细菌,而等毛科原虫体表则不存在^[21]。另外,Asa 等^[22]从牛瘤胃中发现一种由明串珠菌和乳酸菌合成的一种抗真菌物质 PRA(Panel reactive antibodies),该物质具有蛋白酶抗性,能够抑制产甲烷菌的生成。

3 牛瘤胃微生物菌群变化影响因素

影响牛瘤胃中微生物菌群变化的影响因素很多,如宿主种类、基因型、日粮结构、药物添加剂、抗生素及外源微生物等。

3.1 宿主种类及基因型

宿主种类和基因型不同,瘤胃内容物中的微生物种类、数量和含量也各不相同。刘开朗等^[23]对鲁西肉牛、晋南牛、荷斯坦奶牛、黄牛、牦牛、Hanwoo 等 6 个不同牛品种的对比发现:鲁西肉牛瘤胃中的微生物群落中,优势菌群为梭菌和拟杆菌;荷斯坦奶牛的 5 种不同个体饲喂不同日粮的 16S rDNA 文库组成类似,但与鲁西肉牛、黄牛等亚洲品种对比存在显著差异,这说明对于瘤胃微生物群落组成来说,牛品种的影响大于日粮等其他因素。周熊艳等^[24]研究发现,与云南本地黄牛相比,云南大额牛瘤胃中黄花瘤胃球菌最多,并且含有大量的毛螺菌、纤维分解菌等,这也是云南大额牛高纤维粗料的消化能力明显高于前者的主要原因。Yang 等^[25]对沼泽型水牛和大额牛瘤胃中的细菌 16S rRNA 基因序列库进行了克隆和测序,并与荷斯坦牛的基因序列库进行了对比,发现双孢梭菌、硫氧化细菌、略紫色梭菌等细菌仅在水牛序列中存在,溶纤维丁酸弧菌在大额牛和水牛中有发现,生黄瘤胃球菌仅存在于荷斯坦牛和水牛序列中,瘤胃解琥珀酸菌和瘤胃假丁酸弧菌在 3 个牛品种中共有。Chaudhary 等^[26]对印度家牛和水牛饲喂了相同饲料,对比发现水牛瘤胃中的黄色瘤胃球菌和厌氧真菌数量要低于印度家牛,而纤维素降解菌、白色瘤胃球菌则高于家牛。

3.2 日粮结构及组成

日粮结构及组成是影响牛瘤胃微生物菌群发生变化的主要因素之一。反刍家畜饲喂高粗料日粮

时,瘤胃细菌多属于革兰氏阴性菌;而当饲料中的能量饲料增加后,革兰氏阳性菌数量增多,且大部分细菌为厌氧菌。杨宏波等^[27]研究发现,高精料全价颗粒饲料能够提高犊牛瘤胃中的乙酸和总挥发性脂肪酸的水平,但同时也会抑制厌氧真菌和瘤胃纤维降解菌的活性及数量。Fernando 等^[28]研究表明,在饲喂高粗料日粮的情况下,牛瘤胃中的纤维素分解酶的种类和数量较多,而当饲喂高精饲料日粮时,瘤胃中的拟杆菌数量较多;同时随着精饲料比例的增大,牛链球菌和埃氏巨型球菌等呈显著增加趋势,这充分说明瘤胃可以根据日粮组成的变化而重新建立相应的微生态体系。Pitta 等^[29]用 3 种日粮(质量比分别为:精料:粗饲料=1:3、精料:粗饲料=1:1、100%粗饲料)饲喂水牛后发现,饲喂 100%粗饲料的水牛瘤胃中纤维杆菌属和球菌属细菌要显著高于其他 2 组;而普氏菌属在精料:粗饲料=1:1 这一组中数量则最多。Vito 等^[30]在内洛尔肉牛的饲料中添加了粗甘油,发现随着粗甘油添加量的逐渐加大,瘤胃中的纤维素的降解率逐步提高;白色瘤胃球菌和黄化瘤胃球菌数量降低,等毛虫属和内毛虫属等微生物的含量也持续降低,然而产琥珀酸丝状杆菌(*Filamentous Bacillus succinate*)和产甲烷菌没有数量变化。吴小燕^[31]在试验中分别用豆粕、菜籽粕和棉籽粕替代 15%基础日粮精料饲喂宣汉黄牛,研究发现:豆粕能够显著提高瘤胃中嗜淀粉瘤胃杆菌的数量;棉籽粕对牛瘤胃固相粘附蛋白分解菌数量有显著的增值作用;菜粕饲喂的牛瘤胃中固相粘附纤维降解菌群的数量明显增加,且菜粕、棉粕等蛋白质饲料与碳水化合物相比,对瘤胃固相粘附细菌多样性的影响更显著。

3.3 药物添加剂、抗生素及外源微生物

当牛疾病发生后,往往采取饲喂药物添加剂、注射抗生素或者添加外源性微生物等措施,增加机体免疫力,抵抗疾病侵袭。药物、抗生素以及外源微生物在对致病菌发挥作用的同时,对非病原性微生物也会产生不同的影响^[32]。柴胡是一类具有抗炎退烧作用的中药,在奶牛日粮中添加不同剂量的柴胡,RT-PCR 分析结果显示奶牛瘤胃中的纤维素分解菌的活力和数量并没有产生显著的变化,虽然瘤胃中细菌的种类有所减少,优势菌的数量却呈现增加的趋势^[33]。维吉尼亚霉素是一类革兰氏阳性菌的抑制剂,能够促进动物的生长和减少酸中毒,日粮中添加一定剂量的维吉尼亚霉素后,肉牛瘤胃中的

蛋白降解菌和淀粉降解菌数量明显下降,但是对原虫、纤维降解菌和总细菌的数量并没有产生显著影响^[34]。海南霉素具有保护瘤胃肽和降低反刍动物甲烷排放的作用,在奶牛日粮中添加海南霉素后,瘤胃中的微生物区系发生明显变化,其中原虫数量减少60.24%、溶纤维丁酸弧菌数量减少38.24%、真菌的数量减少12.73%,但黄色瘤胃球菌和白色瘤胃球菌数量却未发生变化^[35]。陈光吉等^[36]利用经过乳酸菌、枯草芽孢杆菌和酵母菌等发酵处理的富含活性微生物的饲料饲喂肉牛后,发现瘤胃液中的黄色瘤胃球菌、白色瘤胃球菌、乳酸杆菌、牛链球菌数量较对照组均有极显著提高。杨春涛等^[37]研究也证实,饲粮中添加地衣芽孢杆菌及其复合菌,丰富了瘤胃纤维分解菌种类和增加了优势菌群数量,提高了瘤胃细菌多样性,微生物区系更趋于稳定。

4 结语

微生物和宿主及不同微生物菌群之间,经过长期的进化和选择,已经形成了一种动态平衡的关系,对于提高宿主的生长发育、提高农产品质量安全和减少环境污染方面具有重要的意义。目前围绕牛瘤胃微生物群落的研究,已经深入到宏基因组学和分子生物学领域,并且围绕生物多样性、影响因素等方面开展了大量研究,其中对细菌种群研究较多,而对真菌和古菌等种群研究相对较少,对于不同微生物菌群的相互作用关系研究开展得也不够深入。另外,目前对瘤胃微生物的研究大多集中在瘤胃微生物作用机制上,对于瘤胃微生物的体外开发利用研究相对较少。因此,在瘤胃共生微生物的研究领域还有待国内外进行深层次的研究和探索。

参考文献 References

- [1] Kim M, Morrison M, Yu Z. Status of the phylogenetic diversity census of ruminal microbiomes [J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2011, 76(1):49-63
- [2] Ross E M, Petrovski S, Moate P J, Hayes B J. Metagenomics of rumen bacteriophage from thirteen lactating dairy cattle [J]. *Bmc Microbiology*, 2013, 13(1):242
- [3] Kuhnert P, Scholten E, Haefner S, Mayor D, Frey J. *Basfia succiniciproducens* gen nov, spnov., a new member of the family Pasteurellaceae isolated from bovine rumen [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2010, 60(1):44-50
- [4] 张青青,樊海妍,徐新慧,张璐璐,陈红歌.牛瘤胃产纤维二糖磷化酶细菌的筛选及产酶条件研究[J].河南农业科学,2017,46(4):113-117
- [5] Zhang Q Q, Fan H Y, Xu X H, Zhang L L, Chen H G. Screening and fermentation conditions of cellobiose phosphorylase-producing bacteria from bovine rumen [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2017, 46 (4): 113-117 (in Chinese)
- [6] Newbrook K, Staton G J, Clegg S R, Birtles R J, Carter S D, Evans N J. *Treponema ruminis* sp. nov., a spirochaete isolated from the bovine rumen [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2017, 67 (5): 1349-1354
- [7] 曹阳春,杨红建,沈博通.高产纤维降解酶牦牛瘤胃厌氧真菌分离株的筛选与鉴定[J].中国农业大学学报,2010,15(3):70-74
- [8] Cao Y C, Yang H J, Shen B T. Screening and identification of high activity cellulolytic anaerobic fungi from rumen of yak [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2010, 15(3): 70-74(in Chinese)
- [9] Paul S S, Deb S M, Punia B S, Singh D, Kumar R. Fibrolytic potential of anaerobic fungi (*Piromyces*, sp) isolated from wild cattle and blue bulls in pure culture and effect of their addition on *in vitro*, fermentation of wheat straw and methane emission by rumen fluid of buffaloes [J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 2010, 90(7):1218-1226
- [10] 杨波,潘乐毅,何瑶,郑谨策,李纯,卢向阳,田云.一株高产纤维素酶真菌的选育与鉴定[J].氨基酸和生物资源,2015, 37(1):67-70
- [11] Yang B, Pan L Y, He Y, Zheng J C, Li C, Lu X Y, Tian Y. Breeding and identification of a fungus with high-yield cellulose [J]. *Amino Acids & Biotic Resources*, 2015, 37(1): 67-70 (in Chinese)
- [12] Tuyen V D, Cone J W, Baars J J, Sonnenberg A S M, Hendriks W H. Fungal strain and incubation period affect chemical composition and nutrient availability of wheat straw for rumen fermentation [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 111(5):336
- [13] 张俊.奶牛瘤胃原虫引物设计优化及其在日粮效应评价中的应用[D].北京:中国农业科学院, 2015
- [14] Zhang J. New rumen ciliate primers targeting full-length 18S rRNA genes and its application in evaluating dietary effect on ciliate diversity in the rumen of dairy cows [D]. Beijing: *Chinese Academy of Agricultural Sciences*, 2015 (in Chinese)
- [15] Fouts D E, Szpakowski S, Purushe J, Torralba M, Waterman R C, MacNeil M D, Alexander L J, Nelson K E. Next generation sequencing to define prokaryotic and fungal diversity in the bovine rumen [J]. *Plos One*, 2012, 7(11):1-11
- [16] Jami E, Shtrzer N, Mizrahi I. Evaluation of automated ribosomal intergenic spacer analysis for bacterial fingerprinting of rumen microbiome compared to pyrosequencing technology [J]. *Pathogens*, 2014, 3(1):109

- [13] Jami E, Mizrahi I. Composition and similarity of bovine rumen microbiota across individual animals [J]. *Plos One*, 2012, 7(3):33-36
- [14] Weimer P J, Stevenson D M. Isolation, characterization, and quantification of clostridium kluyveri from the bovine rumen [J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2012, 94(2): 461
- [15] Zanine A D M, Bonelli E A, Souza A L D, Ferreira D J, Santos E M, Ribeiro M D, Gero L J V. Effects of streptococcus bovis isolated from bovine rumen on the fermentation characteristics and nutritive value of Tanzania grass silage [J]. *Scientific World Journal*, 2016, (7):1-6
- [16] Jami E, Israel A, Kotser A, Mizrahi I. Exploring the bovine rumen bacterial community from birth to adulthood [J]. *Isme Journal Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 2013, 7(6):1069
- [17] 王晓旭.围产期奶牛瘤胃微生物区系的变化及微生态制剂的调控作用[D].长春:吉林大学, 2012
Wang X X. Variation of microbial flora in rumen and regulation of microecologic preparation in transition period dairy cows [D]. Changchun: Jilin University, 2012 (in Chinese)
- [18] Friedman N, Jami E, Mizrahi I. Compositional and functional dynamics of the bovine rumen methanogenic community across different developmental stages [J]. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(8):3365-3373
- [19] Bensoussan L, Moraes S, Dassa B, Friedman N, Henrissat B. Broad phylogeny and functionality of cellulosomal components in the bovine rumen microbiome [J]. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(1):185-197
- [20] Ozutsumi Y, Tajima K, Takenaka A, Friedman N, Henrissat B, Lombard V, Bayer E A, Mizrahi I. Real-time PCR detection of the effects of protozoa on rumen bacteria in cattle [J]. *Current Microbiology*, 2006, 52(2):158-162
- [21] Görtz H D. Intracellular bacteria in ciliates [J]. *International Microbiology*, 2001, 4(3):143-150
- [22] Asa R, Tanaka A, Uehara A, Shinzato I, Toride Y, Usui N, Hirakawa K and Takahashi J. Effects of protease-resistant antimicrobial substances produced by lactic acid bacteria on rumen methanogenesis [J]. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 2010, 23(6):700-707
- [23] 刘开朗,卜登攀,王加启,于萍,李旦,赵圣国,贺云霞,魏宏阳,周凌云.六个不同品种牛的瘤胃微生物群落的比较分析[J].中国农业大学学报, 2009, 14(1):19-24
Liu K L, Bu D P, Wang J Q, Yu P, Li D, Zhao S G, He Y X, Wei H Y, Zhou L L. Comparative analysis of rumen microbial communities in six species cattle [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2009, 14(1):19-24 (in Chinese)
- [24] 周熊艳,王松明,顾招兵,吴锡川,冷静,毛华明,李清,冯勋,杨舒黎.云南大额牛瘤胃微生物多样性分析[J].中国畜牧兽医, 2016, 43(5):1162-1168
- Zhou X Y, Wang S M, Gu Z B, Wu X C, Leng J, Mao H M, Li Q, Feng L, Yang S L. Diversity analysis of rumen microbes in Yunnan gayals [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2016, 43(5):1162-1168 (in Chinese)
- [25] Yang S L, Ma S C, Jing C, Mao H, He Y, Xi D, Yang L, He T, Deng W. Bacterial diversity in the rumen of gayals (*Bos frontalis*), Swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*) and Holstein cow as revealed by cloned 16S rRNA gene sequences. [J]. *Molecular Biology Reports*, 2010, 37 (4): 2063-2073
- [26] Chaudhary P P, Dagar S S, Sirohi S K. Comparative quantification of major rumen microbial population in Indian cattle and buffalo fed on wheat straws based diet [J]. *PJMR*, 2012, 2(3): 105-108
- [27] 杨宏波,刘红,占今舜,林森,赵国琦.不同精粗比颗粒饲料对断奶公犊牛瘤胃发酵参数和微生物的影响[J].草业学报, 2015, 24(12):131-138
Yang H B, Liu H, Zhan J S, Lin M, Zhao G Q. Effects of diet pellets with different concentrate-roughage ratios on rumen fermentation parameters and microorganism abundance in weaned bull calves [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2015, 24 (12):131-138 (in Chinese)
- [28] Fernando S C, Purvis H T, Najar F Z, Sukharnikov L O, Krehbiel C R. Rumen microbial population dynamics during adaptation to a high-grain diet [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(22):7482-7490
- [29] Pitta D W, Kumar S, Veiccharelli B, Parmar N, Reddy B B. Bacterial diversity associated with feeding dry forage at different dietary concentrations in the rumen contents of Mehshana buffalo (*Bubalus bubalis*) using 16S pyrotags [J]. *Anaerobe*, 2014, 25(1):31-41
- [30] Vito E S, Messana J D, Castagnino P S, Granja-Salcedo Y T, Dallantonio E E. Effect of crude glycerine in supplement on the intake, rumen fermentation, and microbial profile of Nellore steers grazing tropical grass [J]. *Livestock Science*, 2016, 192:17-24
- [31] 吴小燕.不同来源饲料对宣汉黄牛瘤胃固相粘附微生物数量及细菌区系的影响[D].雅安:四川农业大学, 2014
Wu X X. Effect of different source feedstuffs on the quantities of rumen microbes and bacterial community adhesives to solid fractions in Xuanhan yellow cattle [D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2014 (in Chinese)
- [32] 李伟.β-内酰胺类抗生素有抗奶对犊牛瘤胃菌群结构及生长影响的研究[D].大庆:黑龙江八一农垦大学, 2017
Li W. Study on the effects of milk containing β-lactams antibiotic on calves development and rumen bacteria structure [D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2017
- [33] 潘龙,卜登攀,王加启,程建波,孙先枝,王秀敏,秦俊杰,袁耀明,张幸开.柴胡中草药对奶牛瘤胃菌群多样性及纤维分解菌的影响[J].草业学报, 2015, 24(3):219-225
Pan L, Bu D P, Wang J Q, Cheng J B, Sun X Z, Wang X M,

- [35] Qin J J, Yuan Y M, Zhang X K. Effects of radix bupleuri herbal supplementation on bacterial community diversity in the rumen of lactating dairy cows [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2015, 24(3):219-225(in Chinese)
- [34] 郭同军,王加启,卜登攀,王建平,刘开朗,李旦,栾绍宇,哈斯额尔敦.日粮中添加维基尼亞霉素对肉牛瘤胃微生物数量的影响[J].东北农业大学学报,2009,40(7):71-76
- Guo T J, Wang J Q, Bu D P, Wang J P, Liu K L, Li D, Luan S Y, Hasi E D. Influence of adding virginiamycin to diets of steers on ruminal microbial populations [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2009, 40(7): 71-76 (in Chinese)
- [35] 辛杭书,段春宇,张永根,王明君,李仲玉,王志博,李富国.饲粮中添加海南霉素对奶牛瘤胃微生物区系的影响[J].动物营养学报,2012,24(11):2249-2256
- Xin H S, Duan C Y, Zhang Y G, Wang M J, Li Z Y, Wang Z B, Li F G. Dietary hainanmycin affects rumen microflora of dairy cows [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(11):2249-2256(in Chinese)
- [36] 陈光吉,严锦绣,郭春华,彭忠利,柏雪,张正帆,黄艳玲,蒋兴德.微生物发酵饲料对肉牛瘤胃液 pH 值和微生物数量的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2015(7):104-107
- Chen G J, Yan J X, Guo C H, Peng Z L, Bai X, Zhang Z F, Huang Y L, Jiang X D. Effects of microbial fermentation feed on pH value and microbial quantity in rumen fluid of beef cattle [J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2015(7):104-107(in Chinese)
- [37] 杨春涛,刁其玉,符运勤,张乃峰,屠焰.不同益生菌组合对 8~52 周龄后备牛瘤胃发酵和细菌多样性的影响[C]//中国畜牧兽医学会动物营养学分会第七届中国饲料营养学术研讨会论文集.北京:中国农业大学出版社. 2014(10):458
- Yang C T, Diao Q Y, Fu Y Q, Zhang N F, Tu Y. Effects of different probiotics on rumen fermentation and bacterial diversity in 8~52-week-old reserve bovine [C]// In: *Proceeding of the 7th China Academic Symposium of Feed Nutrition, Animal Nutrition Branch of Chinese Association of Animal Science and Veterinary Medicine*. Beijing: China Agricultural University Press, 2014(10):458(in Chinese)

责任编辑:杨爱东