

不同蛋白质饲料对宣汉黄牛瘤胃固相粘附蛋白分解菌数量的影响

吴小燕, 王之盛*, 邹华围

(四川农业大学动物营养研究所, 教育部动物抗病营养重点实验室, 雅安 625014)

摘要: 旨在研究豆粕、菜粕和棉粕 3 种蛋白质饲料对四川宣汉黄牛瘤胃固相粘附蛋白分解菌[嗜淀粉瘤胃杆菌(*R. amylophilus*)、溶纤维丁酸弧菌(*B. fibrisolvens*)、瘤胃普雷沃氏菌(*P. ruminicola*)和牛链球菌(*S. bovis*)]数量的影响。选用 4 头健康且体重相近装有永久瘤胃瘘管的宣汉黄牛, 采用 4×4 的拉丁方设计, 共 4 期, 每期 10 d, 分别饲喂以豆粕(SBM)、菜粕(RSM)和棉粕(CSM)替换基础日粮(CN)精料 15% 的日粮, 采用 PCR 技术分析蛋白分解菌数量的变化。结果表明: 1) 豆粕组嗜淀粉瘤胃杆菌、溶纤维丁酸弧菌、栖瘤胃普雷沃氏菌和牛链球菌的数量分别在采食后 9、9、5 和 5 h 时达到最大值, 菜粕组分别在采食后 3、7、7 和 1 h 时达到最大值, 棉粕组分别在采食后 9、9、7 和 1 h 时达到最大值; 2) 豆粕组嗜淀粉瘤胃杆菌数量的平均值最高, 棉粕组最低($P < 0.05$); 棉粕组溶纤维丁酸弧菌、栖瘤胃普雷沃氏菌和牛链球菌数量的平均值最高, 豆粕组最低($P < 0.05$)。综上, 不同蛋白质饲料显著影响瘤胃固相粘附蛋白分解菌的数量, 以棉粕对瘤胃固相粘附蛋白分解菌的促进效应最好。

关键词: 菜粕; 豆粕; 棉粕; 宣汉黄牛; 蛋白分解菌

中图分类号: S823; S816.4

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2014)06-0953-07

Different Protein Sources Dietary Affect the Quantities of Rumen Proteobacteria Adhesive to Solid Fractions in Xuanhan Yellow Cattle

WU Xiao-yan, WANG Zhi-sheng*, ZOU Hua-wei

(Key Laboratory for Animal Disease-Resistance Nutrition of Ministry of Education, Institute of Animal Nutrition, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: The objective of this paper was to investigate the effects of three protein feeds (soybean meal, rapeseed meal and cottonseed meal) on quantities of ruminal proteobacteria (*R. amylophilus*, *B. fibrisolvens*, *P. ruminicola* and *S. bovis*) adhered to solid fractions in Sichuan Xuanhan Yellow cattle. Four rumen-cannulated Xuanhan Yellow cattle with similar healthy and weight were each fed four diets with different protein feeds over a period in a 4×4 Latin Square design, which were basal diet(CN), replaced 15% concentration of basal diet with soybean meal (SBM), rapeseed meal (RSM) and cottonseed meal (CSM), respectively. The PCR technique was used to analyze the change of the population of ruminal proteobacteria adhesive to solid fractions. The results showed that: 1) the quantities of *R. amylophilus*, *B. fibrisolvens*, *P. ruminicola* and *S. Bo-vis* in group SBM reached the highest point at 9, 9, 5 and 5 h after morning feeding, the group RSM at 3, 7, 7 and 1 h, the group CSM at 9, 9, 7 and 1 h. 2) the highest mean value was found in group SBM while the lowest in the group CSM on *R. amylophilus* ($P < 0.05$) quantity; the highest mean value was recorded in group CSM while the lowest in SBM on the quantities of *B. fibri-*

收稿日期: 2013-11-14

基金项目: 国家肉牛牦牛产业技术体系(CARS-38); 农业部公益性行业专项饲料营养价值与畜禽饲养标准研究与应用(20090300608)

作者简介: 吴小燕(1987-), 女, 四川绵阳人, 硕士生, 主要从事反刍动物营养与饲料研究, E-mail: 812181840@qq.com

* 通信作者: 王之盛, 教授, 博士生导师, 主要从事反刍动物营养与饲料研究, E-mail: wangzs67@163.com

solvans, *P. ruminicola* and *S. Bovis* ($P < 0.05$) quantities. In conclusion, different protein feeds significantly affected the quantities of ruminal proteobacteria, and cottonseed meal had a better promoting effect on ruminal proteobacteria adhesive to solid fractions.

Key words: rapeseed meal; soybean meal; cottonseed meal; Xuanhan Yellow cattle; ruminal proteobacteria

我国蛋白饲料资源处于供不应求的局面。国家饲料工业办公室预估,2020年我国蛋白质饲料的需要量达到0.72亿吨,而资源供给量仅为0.24亿吨,供需缺口达到0.48亿吨^[1]。高效合理的利用蛋白饲料资源可在一定程度上缓解蛋白饲料资源供不应求的局面。反刍动物的日粮主要依靠瘤胃微生物来消化,嗜淀粉瘤胃杆菌、溶纤维丁酸弧菌、栖瘤胃普雷沃氏菌是瘤胃中主要的3大蛋白降解菌,牛链球菌也具有高蛋白降解酶活性^[2]。充分利用这些瘤胃微生物,是调控反刍动物蛋白质营养、节约蛋白质饲料、缓解蛋白质资源短缺的重要途径之一。目前对瘤胃微生物的研究主要集中在精粗比^[3-6]和粗饲料^[7-9]方面,关于特定蛋白质饲料对瘤胃蛋白分解菌数量的影响并不十分清楚;且大多试验动物都是奶牛和羊^[3,5,8,10-11],对四川省主要的肉牛品种宣汉黄牛的研究未见报道。瘤胃微生物种群在瘤胃内主要以3种方式存在:一是存在于瘤胃液中;二是附着于瘤胃内壁上;三是黏附于饲料颗粒上^[12]。大量研究表明瘤胃固相中的微生物数量高于瘤胃液中的微生物数量^[5,8-9,13],是瘤胃中主要的功能微生物。因此研究不同蛋白质饲料对宣汉黄牛瘤胃固相粘附蛋白分解菌数量的影响显得非常重要。豆粕、菜粕和棉粕是我国产量最高、经常使用的主要优质植物性蛋白饲料。

本试验在对这3种蛋白质饲料进行了营养价值评定的基础上,研究宣汉黄牛采食不同蛋白质饲料后其瘤胃蛋白分解菌数量的变化,旨在为更好的调控瘤胃微生态,更合理地利用蛋白质饲料资源配制肉牛饲料提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

菜粕、豆粕、棉粕及其他饲料成分来自四川农业大学动物营养研究所试验基地。

TIANamp Stool DNA Kit, RNaseA (100 mg · mL⁻¹), 6 × DNA loading buffer, DNA Marker, DNase/RNase-free ddH₂O, SuperRealPreMix

Plus(SYBR Green)均购自TIANGEN(北京)公司。荧光定量PCR仪(美国Bio-rad CFX96TM)、核酸蛋白检测仪(美国Beckman DU-800)和凝胶成像系统(美国Syngene)。

1.2 试验设计

选取四川农业大学动物营养研究所试验基地4头体况良好,年龄体重接近,安装有永久性瘤胃瘘管的去势宣汉黄牛。采用4 × 4的拉丁方设计,共4期,每期10 d(预试7 d,采样3 d)。每天定时定量饲喂2次(07:00和17:00),拴系饲养,自由饮水。基础饲料参考中国肉牛饲养标准(2004版)设计,1.3倍维持需要,精粗比为4:6,粗料为稻草、苜蓿草粉和白酒糟。试验组饲料(豆粕组SBM、菜粕组RSM、棉粕组CSM)分别用豆粕、菜籽粕和棉籽粕替换基础饲料(CN)精料的15%,试验饲料一次性备齐。饲料组成及营养水平见表1。采样期时,连续3 d通过瘤胃瘘管采集瘤胃内容物,在每头牛的瘤胃内分别取上、下、左、右、中5个位置的瘤胃内容物约200 g,并用4层纱布过滤分离出固、液相食糜,固相样品装入无菌封口袋中。样品于-80 °C保存备用。3 d采样时间分别为第1天08:00和14:00,第2天10:00和16:00,第3天12:00,即饲喂后1、3、5、7和9 h。

1.3 测定指标及方法

将瘤胃固相样品4 °C解冻后,参考S. Kang等^[14]和R. Laure等^[15]的方法洗脱固相粘附微生物:称取1 g样品于10 mL离心管中,加入5 mL PBS悬浮,轻摇30 s,350 g室温离心15 min,取上清于一新的离心管(松散粘附的固相微生物)。再向残渣部分加入4 mL厌氧条件下制备的0.15% (v/v) Tween-80,充分混匀后在冰上放置2.5 h,350 g室温离心15 min,取上清(紧密粘附的固相微生物)于前一新的离心管,10 000 g 4 °C离心20 min,去上清留沉淀,沉淀即为固相粘附微生物菌体。然后使用TIANamp Stool DNA Kit试剂盒稍加修改提取微生物总DNA。修改地方^[3]:(1)95 °C孵育10 min;(2)加GB前先加入5 μL RNase A,混匀后37

表 1 基础日粮组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of basal diets(air-dry basis)

%

原料 Ingredient	含量 Content	营养成分 Nutrient	水平 Level
苜蓿草粉 Alfalfa meal	19.56	干物质 DM	91.27
稻草 Rice straw	17.48	粗蛋白 CP	11.56
白酒糟 Distilled grain	21.52	综合净能/(MJ·kg ⁻¹) NEmf	6.24
玉米 Corn	27.53	中性洗涤纤维 NDF	39.35
小麦麸 Wheat bran	12.13	酸性洗涤纤维 ADF	24.92
小苏打 Sodium bicarbonate	0.53	酸性洗涤木质素 ADL	5.90
食盐 Salt	0.53	钙 Ca	0.44
添加剂 Additive	0.72	总磷 TP	0.30
合计 Total	100.00		

每千克日粮干物质中:VA 9 000 IU,VD 2 000 IU,VE 16 IU,铁 50 mg,铜 10 mg,锌 30 mg,锰 20 mg,钴 0.1 mg,碘 0.5 mg,硒 0.1 mg

Main trace elements and vitamins(per kg of diets): VA 9 000 IU,VD 2 000 IU,VE 16 IU; Fe 50 mg,Cu 10 mg,Zn 30 mg,Mn 20 mg,Co 0.1 mg,I 0.5 mg,Se 0.1 mg

℃水浴 30 min。然后加入 15 μL Proteinase K,混匀 56 ℃水浴 1 h(每 20 min 轻轻颠倒混匀)。采用核酸蛋白浓度仪测定提取的 DNA 浓度(ng·μL⁻¹)及 260 nm/280 nm 的 OD 比值。于-20 ℃保存。

采用 PCR 技术测定各组饲喂后 1、3、5、7 和 9 h 时宣汉黄牛瘤胃固相粘附蛋白分解菌相对于瘤胃总菌 16S rDNA 的含量。引物序列见表 2,引物由上海华大生物技术有限公司合成。反应体系为 15 μL;2×SuperReal PreMix Plus 7.5 μL,上、下游引

物(10 μmol·L⁻¹)各 0.45 μL,DNA 溶液 0.6 μL,RNase-free ddH₂O 6 μL。扩增条件:95 ℃预变性 15 min;95 ℃变性 10 s,相应的退火温度 30 s,共 40 个循环。自动检测荧光强度。扩增反应的特异性通过对 PCR 终产物制作熔解曲线来确定,方法:从 65 ℃升温到 95 ℃,每熔 10 s 升高 1 ℃,仪器自动绘制熔解曲线。PCR 产物采用 2%的琼脂糖凝胶电泳检测。

表 2 微生物引物序列

Table 2 The primers of rumen microbes

目标菌 Target bacterial	引物序列(5'→3') Primer sequence	退火温度/℃ T _m	产物大小/bp Product size	参考文献 Reference
总细菌 Total bacterial	F:ACTCCTACGGGAGGCAGCAG R:ATTACCGCGGCTGCTGG	52	174	[16]
嗜淀粉瘤胃杆菌 <i>Ruminobacter amylophilus</i>	F:CTAAGCTAACGCGATAAAT R:AACCCAACATCTCACGAC	60.3	235	[17]
栖瘤胃普雷沃氏菌 <i>Prevotella ruminicola</i>	F:GCGAAAGTCGGATTAATGCTCTATG R:CCCATCCTATAGCGGTAACCTTTG	63.3	78	[18]
牛链球菌 <i>Streptococcus bovis</i>	F:TTCCTAGAGATAGGAAGTTTCTTCGG R:ATGATGGCAACTAACAATAGGGGT	57	127	[19]
溶纤维丁酸弧菌 <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	F:CAGCAGGGAAGATAATGAC R:TGCAATACCGGAGTTGAG	57.3	171	[17]

F. 上游引物;R. 反向引物

F. Forward primer;R. Reverse primer

1.4 数据统计分析

由公式：目标菌（% 总菌 16S rDNA）= $2^{-(C_{i,目标菌}-C_{i,总菌})} \times 100$ 计算各菌相对于瘤胃总菌 16S rDNA 的含量。试验结果用 Excel 2007 进行预处理,用 SPSS 18.0 统计软件对结果进行单因素方差分析,采用 Duncan 氏多重比较检验,结果以“平均值±标准差”表示 ($P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著)。

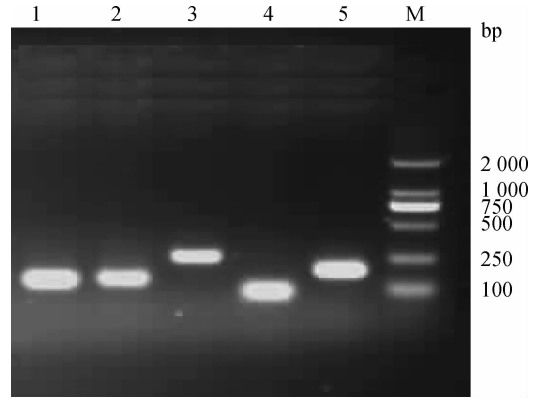
2 结果

2.1 DNA 提取结果和引物特异性

提取的 DNA $OD_{260\text{ nm}} / OD_{280\text{ nm}}$ 值在 1.8~2.0,说明得到的 DNA 能够很好的应用于后面的 PCR 扩增试验。各微生物 PCR 产物电泳检测结果如图 1 所示,扩增条带清晰且无拖带现象,扩增片段长度与文献报道基本一致。说明所采用的引物有很高的特异性,扩增体系没有被污染,扩增条件和参数适宜。

2.2 不同蛋白质饲料对瘤胃固相粘附嗜淀粉瘤胃杆菌数量的影响

如表 3,各组嗜淀粉瘤胃杆菌数量变化趋势相



1. 总菌;2. 牛链球菌;3. 嗜淀粉瘤胃杆菌;4. 栖瘤胃普雷沃氏菌;5. 溶纤维丁酸弧菌
1. Total bacterial; 2. *Streptococcus bovis*; 3. *Ruminobacter amylophilus*; 4. *Prevotella ruminicola*; 5. *Butyrivibrio fibrisolvens*

图 1 微生物 PCR 产物电泳图

Fig. 1 Products of rumen microbial PCR amplification

似,均为先升高后下降再升高。基础组、菜粕组、豆粕组和棉粕组分别在采食后 3、3、9 和 9 h 达到最大值。采食后 1 h,菜粕组嗜淀粉瘤胃杆菌数量显著高于棉粕组和基础组 ($P < 0.05$),高出豆粕组

表 3 不同蛋白质饲料对瘤胃固相粘附不同菌种数量的影响 (%总菌 16S rDNA)

Table 3 The effects of different protein feeds on the quantities of different strains(%total bacterial 16S rDNA)

组别 Group		1 h	3 h	5 h	7 h	9 h	平均值 Mean
嗜淀粉瘤胃杆菌 <i>R. amylophilus</i> ($\times 10^{-1}$)	CN	0.15±0.13 ^b	0.42±0.13 ^b	0.03±0.01 ^c	0.07±0.03 ^c	0.16±0.05 ^c	0.17±0.08 ^c
	RSM	0.55±0.42 ^a	0.79±0.19 ^a	0.18±0.08 ^b	0.26±0.06 ^b	0.65±0.14 ^b	0.49±0.13 ^a
	SBM	0.38±0.02 ^a	0.40±0.03 ^b	0.43±0.06 ^a	0.42±0.14 ^a	0.86±0.11 ^a	0.50±0.24 ^a
	CSM	0.02±0.00 ^b	0.43±0.16 ^b	0.14±0.01 ^b	0.07±0.03 ^c	0.90±0.14 ^a	0.31±0.04 ^b
溶纤维丁酸弧菌 <i>B. fibrisolvens</i>	CN	0.77±0.19 ^a	1.70±0.58 ^a	0.35±0.17 ^b	0.42±0.13 ^b	1.90±0.14 ^a	1.03±0.71 ^a
	RSM	0.93±0.81 ^a	0.53±0.06 ^c	1.00±0.53 ^a	1.75±0.65 ^a	0.56±0.31 ^c	0.95±0.67 ^a
	SBM	0.12±0.04 ^b	0.38±0.14 ^c	0.50±0.19 ^b	0.31±0.03 ^b	1.01±0.22 ^b	0.46±0.04 ^b
	CSM	0.84±0.35 ^a	0.92±0.21 ^b	0.46±0.04 ^b	1.72±0.04 ^a	1.91±0.07 ^a	1.17±0.59 ^a
栖瘤胃普雷沃氏菌 <i>P. ruminicola</i>	CN	0.32±0.22	0.64±0.22 ^a	0.38±0.18 ^b	0.37±0.13 ^c	0.32±0.13 ^c	0.40±0.21 ^c
	RSM	0.38±0.17	0.27±0.02 ^c	0.53±0.31 ^b	0.74±0.25 ^b	0.27±0.05 ^c	0.44±0.26 ^c
	SBM	0.35±0.07	0.36±0.08 ^{bc}	0.83±0.06 ^a	0.54±0.02 ^c	0.67±0.04 ^b	0.55±0.19 ^b
	CSM	0.47±0.16	0.47±0.15 ^b	0.91±0.24 ^a	1.09±0.24 ^a	0.78±0.09 ^a	0.74±0.30 ^a
牛链球菌 <i>Strep. bovis</i> ($\times 10^{-1}$)	CN	0.11±0.02 ^b	0.15±0.05 ^b	0.44±0.08 ^a	0.12±0.05 ^d	0.24±0.08 ^b	0.21±0.14 ^c
	RSM	0.73±0.53 ^a	0.17±0.01 ^b	0.28±0.07 ^b	0.37±0.07 ^b	0.21±0.03 ^b	0.35±0.03 ^b
	SBM	0.10±0.01 ^b	0.22±0.05 ^b	0.26±0.07 ^b	0.24±0.04 ^c	0.22±0.04 ^b	0.21±0.07 ^c
	CSM	0.65±0.16 ^a	0.47±0.12 ^a	0.49±0.05 ^a	0.61±0.05 ^a	0.63±0.12 ^a	0.57±0.13 ^a

同列数据肩标相同或无字母表示差异不显著 ($P > 0.05$),相邻字母表示差异显著 ($P < 0.05$),相隔字母表示差异极显著 ($P < 0.01$)
In the same column, values with the same or no letter superscripts mean not significant difference ($P > 0.05$), neighbor letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$), parted letter superscripts mean extremely significant difference ($P < 0.01$)

0.17% ($P > 0.05$)。3 h 时菜粕组显著高于其余 3 组 ($P < 0.05$)。5 和 7 h 时则以豆粕组嗜淀粉瘤胃杆菌数量最高,显著高于其余 3 组 ($P < 0.05$)。9 h 时,棉粕组和豆粕组显著高于菜粕组 ($P < 0.05$),极显著高于基础组 ($P < 0.01$)。以平均值来看,豆粕组和菜粕组嗜淀粉瘤胃杆菌数量相近,显著高于棉粕组 ($P < 0.05$),极显著高于基础组 ($P < 0.01$)。

2.3 不同蛋白质饲料对瘤胃固相粘附溶纤维丁酸弧菌数量的影响

豆粕组、棉粕组和基础组这 3 组溶纤维丁酸弧菌的数量都呈现出先升高后下降再升高的趋势,而菜粕组则与之相反,且这 3 组溶纤维丁酸弧菌的数量均在 9 h 时达到最大值,菜粕组则在 7 h 时已达到,如表 3。1 h 时,豆粕组溶纤维丁酸弧菌的数量显著低于其余 3 组 ($P < 0.05$)。3 h 时各处理组均显著低于基础组 ($P < 0.05$)。5 h 时菜粕组显著高于其余 3 组 ($P < 0.05$)。7 h 时菜粕组和棉粕组显著高于豆粕组和基础组 ($P < 0.05$)。9 h 时棉粕组和基础组显著高于豆粕组 ($P < 0.05$),极显著高于菜粕组 ($P < 0.01$)。以各组平均值来看,豆粕组溶纤维丁酸弧菌的数量最低 ($P < 0.05$)。

2.4 不同蛋白质饲料对瘤胃固相粘附栖瘤胃普雷沃氏菌数量的影响

由表 3 来看,各组栖瘤胃普雷沃氏菌数量变化趋势相似,均为先升高再下降,菜粕组和棉粕组均在 7 h 时达到最大值,豆粕组在 5 h 时达到最大值。在采食后 1 h 各组对栖瘤胃普雷沃氏菌的影响差异不显著 ($P > 0.05$)。3 h 时各处理组均显著低于基础组 ($P < 0.05$),棉粕组与豆粕组差异不显著 ($P > 0.05$),但与菜粕组差异显著 ($P < 0.05$)。5 h 时豆粕组和棉粕组显著高于菜粕组和基础组 ($P < 0.05$)。7 h 时棉粕组栖瘤胃普雷沃氏菌数量显著高于菜粕组 ($P < 0.05$),极显著高于豆粕组和基础组 ($P < 0.01$),菜粕组显著高于豆粕组和基础组 ($P < 0.05$)。9 h 时,仍然是棉粕组最高,显著高于豆粕组 ($P < 0.05$),极显著高于菜粕组和基础组 ($P < 0.01$)。从平均值来看,棉粕组栖瘤胃普雷沃氏菌数量最高,显著高于豆粕组 ($P < 0.05$),极显著高于菜粕组和基础组 ($P < 0.01$),豆粕组显著高于菜粕组和基础组 ($P < 0.05$)。

2.5 不同蛋白质饲料对瘤胃固相粘附牛链球菌数量的影响

如表 3,各组牛链球菌的数量变化趋势没有明显规律。除 1 和 5 h 外,其余各时间点均是棉粕组

显著高于其余各组 ($P < 0.05$)。1 h 时菜粕组和棉粕组显著高于豆粕组和基础组 ($P < 0.05$)。5 h 时棉粕组和基础组显著高于菜粕组和豆粕组 ($P < 0.05$)。以平均值来看,棉粕组显著高于菜粕组 ($P < 0.05$),极显著高于豆粕组和基础组 ($P < 0.01$)。

3 讨论

瘤胃微生物的生长取决于以肽、氨基酸和氨形式存在的氮的可利用程度^[20]。除主要的纤维降解菌外,多数瘤胃细菌都具有蛋白酶活性。嗜淀粉瘤胃杆菌是目前已知的蛋白降解活性最高的菌株之一,溶纤维丁酸弧菌是分离自动物的最主要的蛋白分解菌,栖瘤胃普雷沃氏菌可能是瘤胃中数量最多的蛋白降解菌,这 3 种是瘤胃中主要的 3 大蛋白降解菌。G. T. Attwood 等^[2]发现,牛链球菌也具有高蛋白降解酶活性,但在瘤胃中的数量很少。

M. Devant 等^[21]认为蛋白质的来源、结构和加工等都可能影响其瘤胃降解,进而影响瘤胃微生物。不同的饲料蛋白质可能由于其粗蛋白质、酸溶蛋白质或 $\text{NH}_3\text{-N}$ 等比例的不同^[22],而引起微生物区系的变化^[23]。王梦芝等^[24-25]运用 PCR-SSCP 技术研究体外和体内不同蛋白质饲料对瘤胃微生物群体结构的影响,结果表明,蛋白质源对瘤胃细菌类群结构有显著影响。许曾曾^[26]体外试验表明,不同蛋白来源的处理间瘤胃微生物发酵模式发生了显著变化,实际上反映了微生物区系的改变。本试验中,各蛋白分解菌在采食后 3 h 均呈升高的趋势,可能是因为动物采食 2~3 h 后,蛋白质在瘤胃内发酵降解为微生物的生长提供了充足的养分。采食后 1 h 时,菜粕组各蛋白分解菌的数量均高于豆粕组,9 h 时正好相反,这主要是因为菜粕的快速降解部分高于豆粕和棉粕,豆粕慢速降解部分高于菜粕^[27-28]。豆粕组嗜淀粉瘤胃杆菌的数量最高,溶纤维丁酸弧菌的数量最低,可能因为豆粕的粗蛋白、可溶性蛋白及可发酵碳水化合物含量相对较高,在瘤胃内发酵降解较快^[27,29],有益于微生物的代谢和繁殖,但由于溶纤丁弧菌的蛋白酶活性随底物营养水平的提高而提高,并受高浓度氨基酸和肽的抑制,而嗜淀粉拟杆菌则不易受上述因素的影响^[30]。本试验棉粕组溶纤维丁酸弧菌的数量最高,这与不溶性蛋白存在时溶纤丁弧菌活性增强不相符,因为本课题组之前的研究结果菜粕的不可利用蛋白质含量极显著地高于

豆粕和棉粕,具体原因有待进一步研究。

4 结 论

不同蛋白质饲料显著影响瘤胃固相粘附蛋白分解菌的数量,以棉粕对瘤胃固相粘附蛋白分解菌的促进效应最好。

参考文献:

- [1] 袁 涛,张伟力.我国几种蛋白质饲料资源现状[J].江西饲料,2004,(2):25-28.
- [2] ATTWOOD G T,REILLY K. Identification of proteolytic rumen bacteria isolated from New Zealand cattle[J]. *J Appl Bacteriol*,1995,79:22-29.
- [3] FERNANDO S C,PURVIS II H T,NAJAR F Z, et al. Rumen microbial population dynamics during adaptation to a high-grain diet[J]. *Appl Environ Microbiol*,2010,76(22):7482-7490.
- [4] KIM M,MORRISON M,YU Z, et al. Phylogenetic diversity of bacterial communities in bovine rumen as affected by diets and microenvironments[J]. *Folia Microbiol*,2011,56(5):453-458.
- [5] PETR R M,FORSTER R J,YANG W, et al. Characterization of rumen bacterial diversity and fermentation parameters in concentrate fed cattle with and without forage[J]. *J Appl Microbiol*,2012,112(6):1152-1162.
- [6] CARBERRY C A,KENNY, HAN S, et al. Effect of phenotypic residual feed intake and dietary forage content on the rumen microbial community of beef cattle[J]. *Appl Environ Microbiol*,2012,78(14):4949-4958.
- [7] 冯 薇,王加启,刘开朗,等.运 PCR-DGGE 分析比较瘤胃中不同饲料固相粘附微生物区系[J].畜牧兽医学报,2010,41(12):1556-1562.
- [8] HUWS S A,LEE M R,MUETZEL S M, et al. Forage type and fish oil cause shifts in rumen bacterial diversity[J]. *FEMS Microbiol Ecol*,2010,73(2):396-407.
- [9] KONG Y,TEATHER R,FORSTER R. Composition,spatial distribution,and diversity of the bacterial communities in the rumen of cows fed different forages[J]. *FEMS Microbiol Ecol*,2010,74(3):612-622.
- [10] MATSUI H,USHIDA K,KOJIMA Y. Effect of dietary concentrate on fungal zoosporogenesis in sheep rumen[J]. *Asia-Austr J Anim Sci*,1997,10(6):599-602
- [11] TAJIMA K,AMINOV R I,NAGAMINE T, et al. Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with real-time PCR[J]. *Appl Environ Microbiol*,2001,67(6):2766-2774.
- [12] MCALLISTER T A,BAE H D,JONES G A, et al. Microbial attachment and feed digestion in the rumen[J]. *J Anim Sci*,1994,72:3004-3018.
- [13] KIM M,MORRISON M,YU Z. Status of the phylogenetic diversity census of ruminal microbiomes[J]. *FEMS Microbiol Ecol*,2011,76:49-63.
- [14] KANG S,DENMAN S E,MORRISON M I. An efficient RNA extraction method for estimating gut microbial diversity by polymerase chain reaction[J]. *Current Microbiol*,2009,58:464-471.
- [15] LAURE R,YU Z T,PARISI V A. Novel microbial diversity adherent to plant biomass in the herbivore gastrointestinal tract,as revealed by ribosomal intergenic spacer analysis and rrs gene sequencing[J]. *Environ Microbiol*,2005,(7):530-543.
- [16] MUYEZER Y G,DEWAAL E C,UITTERLINDEN A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes encoding for 16S rRNA[J]. *Appl Environ Microbiol*,1993,59:695-700.
- [17] 徐爱秋,王梦芝,王洪荣,等.体外培养条件下氨基酸对瘤胃蛋白质降解菌生长限制性的影响[J].动物营养学报,2010,22(1):88-92.
- [18] KHAFIPOUR E,PLAIZIER J C. Rumen microbiome composition determined using two nutritional models of subacuteruminal acidosis[J]. *Appl Environ Microbiol*,2009,75(22):7115-7124.
- [19] WANG M Z,WANG H R,CAO H C, et al. Effects of limiting amino acids on rumen fermentation and microbial community *in vitro*[J]. *Agricultural Sciences in China*,2008,7(12):1524-1531.
- [20] RUSSELL J B,OCONNOR J D,FOX D G. Net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation[J]. *J Anim Sci*,1992,70(11):3551-3561.
- [21] DEVANT M,FERRET A,CALSAMIGLIA S, et al. Effect of nitrogen source in high-concentrate low-protein beef cattle diets on microbial fermentation studied *in vivo* and *in vitro*[J]. *J Anim Sci*,2001,79:1944-1953.
- [22] YAN T,AGNEW R E. Prediction of nutritive values in grass silages: I. Nutrient digestibility and energy concentration using nutrient compositions and fermentation characteristics[J]. *J Anim Sci*,2004,82:

- 1367-1379.
- [23] HETTA M, CONE J W, GUSTAVSSON A M, et al. The effect of additives in silages of pure timothy and timothy mixed with red clover on chemical composition and *in vitro* rumen fermentation characteristics [J]. *Grass Forage Sci*, 2003, 58: 249-257.
- [24] 王梦芝, 喻礼怀, 王洪荣, 等. 不同蛋白质饲料对瘤胃微生物体外发酵和群体结构的影响[J]. *动物营养学报*, 2009, 21(5): 673-679.
- [25] 王梦芝, 沈建昭, 刘莹, 等. 蛋白质来源对瘤胃细菌和原虫群体结构的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2011, 47(3): 35-40.
- [26] 许曾曾. 蛋白质饲料种类和添加水平对活体外瘤胃发酵和微生物氨基酸组成的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2004.
- [27] GHOORCHI T, ARBABI S. Study of protein characteristic of five feeds by CNCPS model [J]. *Asian J Anim Vet Adv*, 2010, 5(8): 584-591.
- [28] 周荣, 王加启, 潘发明, 等. 饲料蛋白组分对反刍家畜常用饲料小肠吸收蛋白质含量的影响[J]. *华北农学报*, 2010, 25(B12): 165-169.
- [29] 何英. 糠麸, 糟渣, 饼粕类饲料猪有效能预测模型的研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2004.
- [30] BLACKBURN T H. Production by *Bacteroides amylophilus* strain H18 [J]. *J General Microbiol*, 1968, 53: 27-36.

(编辑 郭云雁)