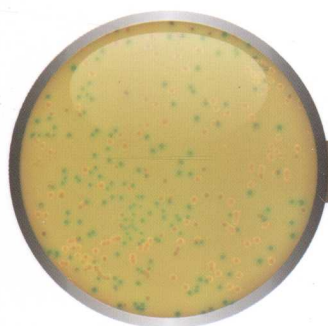


国家自然科学基金青年基金项目 (31201825) 和
山西省科技攻关项目 (20110311031) 资助

反刍动物瘤胃微生物 及其利用

裴彩霞 著



NLIC2970926143

中国农业科学技术出版社

国家自然科学基金青年基金项目 (31201825) 和
山西省科技攻关项目 (20110311031) 资助

反刍动物瘤胃微生物 及其利用

裴彩霞 著



中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

反刍动物瘤胃微生物及其利用 / 裴彩霞著. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2012. 11

ISBN 978 - 7 - 5116 - 1116 - 1

I. ①反… II. ①裴… III. ①反刍动物 - 瘤胃微生物研究 IV. ①S823

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 265188 号

责任编辑 张孝安

责任校对 贾晓红

出版者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010) 82109708 (编辑室) (010) 82109702 (发行部)
(010) 82109709 (读者服务部)

传 真 (010) 82109708

网 址 <http://www.castp.cn>

经销者 各地新华书店

印刷者 北京昌联印刷有限公司

开 本 787mm × 1092mm 1/16

印 张 11.125

字 数 220 千字

版 次 2012 年 11 月第 1 版 2013 年 3 月第 2 次印刷

定 价 30.00 元

版权所有 · 翻印必究

作者简介

裴彩霞，女，1973年10月出生于山西省曲沃县。1996年毕业于山西农业大学动物营养与饲料加工专业，获学士学位，同时留校任教。2001年获山西农业大学动物营养与饲料科学硕士学位，2008年获南京农业大学动物营养与饲料科学博士学位，2012年山西农业大学畜牧学博士后出站。现任山西农业大学动物科技学院动物营养与饲料科学系副主任，副教授，硕士生导师。曾参加编写国家“十一五”规划教材1部，参编出版著作2部。曾承担科研项目6项，其中主持山西省青年基金项目 and 山西农业大学创新基金项目2项，参加国家自然科学基金重点项目、山西省科技攻关项目、山西省自然科学基金项目和山西省回国留学人员资助项目4项。现承担项目3项，其中主持国家青年基金项目、山西省科技攻关项目2项，参加国家自然科学基金项目1项。在《Anaerobe》《Livestock Science》《Animal Feed Science and Technology》《Animal》《微生物学报》《畜牧兽医学报》《草地学报》等学术刊物发表论文20余篇，其中被SCI收录5篇。

内容简介

本书系统总结了笔者主持和参加的多项课题的研究成果。全书共分为7章,包括瘤胃微生物种类的多样性、瘤胃微生物种类多样性和菌群结构的分子生物学研究技术、不同种类动物瘤胃微生物菌群的差异、瘤胃微生物间的互作、瘤胃微生物的生态分布、瘤胃微生物代谢的调控与瘤胃微生物的利用。内容充实,语言精练,行文流畅,可供农业院校动物营养与饲料科学专业的本科生、研究生以及从事畜牧科技与管理的人员参考。

前 言

随着我国经济迅速发展和人民生活水平不断提高,人们对畜产品的需求不断增长,但畜牧业的发展又不能与人类争粮,因此,应该大力发展能有效利用秸秆等非粮饲料的反刍动物的饲养。而反刍动物对饲料的利用率取决于瘤胃内的各种微生物,人们也非常重视对瘤胃微生物的研究。笔者在恩师朱伟云和董宽虎两位教授的关怀、培养和启示下,经过多年来不懈的努力,在瘤胃微生物的多样性、代谢的调控及利用方面做了大量的研究工作。为了适应现代畜牧科技发展的需要,实现科技成果成功转化为生产力,笔者系统总结了多年来主持和参加的多项科研项目资料,撰写了这本书。

本书是以笔者曾参加承担的“瘤胃甲烷形成和调控的微生物学和营养代谢基础”(国家自然科学基金重点项目,30530560)、“羊驼第一胃室纤维降解微生物的多样性及相关优势酶的研究”(国家自然科学基金青年基金项目,31201825)、“异位酸调节断奶前后犊牛瘤胃及小肠黏膜发育机制研究”(国家自然科学基金面上项目,31272471)、“铜对绵羊瘤胃微生物的调控及肉脂改善的研究”(山西省科技攻关项目,20110311031)、“节粮型饲料的综合开发与配套技术研究”(山西省科技攻关项目,961011)、“水溶性碳水化合物对农副产品营养价值的影响”(山西省自然科学基金项目,961024)、“生物转化料土栽培食用菌高产技术研究”(山西省回国留学人员资助项目,2002053)、“瘤胃真菌与瘤胃其他微生物的互作研究”(山西省青年基金项目,20051038)和“利用微生物发酵

提高粗饲料饲用价值的研究”(山西农业大学创新基金项目, 2004017) 等项目的研究成果为基础而撰写的。在课题的组织申报和科研实施过程中, 得到山西农业大学动物科技学院董常生教授、岳文斌教授、王俊东教授、李宏全教授、刘强教授、杨桂英高级实验师和杨致玲高级实验师关心和帮助, 在此表示衷心的感谢! 同时, 中心感谢课题组一起工作的同志, 主要有朱伟云教授、董宽虎教授、李建英教授、张福元教授、刘强教授、王聪教授、毛胜勇副教授、成艳芬博士等。并对中国农业科学技术出版社张孝安先生的审稿工作致以诚挚的谢意!

另外, 关于在本书中有关图示注释问题。由于目前国内暂无公开翻译对称名称, 因此, 在本书各章节中出现的一部分仅注有拉丁学名的图示, 在此特别标明。同时, 为方便读者查阅我们还将部分专有名词缩写给予中英注释。

本书撰写历时较长, 又经反复修改和校对, 但难免有疏漏和不当之处, 恳切希望广大读者提出宝贵意见, 共同商榷, 以便再版时修正。本书在审校过程中, 代振威、刘清清、王娟、姚建军等同志做了大量的工作, 在此一并致谢。

作者

2012年10月

目 录

第一章 瘤胃微生物种类的多样性	(1)
一、瘤胃细菌种类的多样性	(1)
二、瘤胃原虫种类的多样性	(15)
三、瘤胃厌氧真菌种类的多样性	(39)
四、瘤胃产甲烷菌种类的多样性	(45)
五、瘤胃噬菌体种类的多样性	(50)
第二章 瘤胃微生物种类多样性和菌群结构的分子生物学研究技术	(51)
一、瘤胃产甲烷菌多样性的 16S rRNA 基因序列分析技术	(51)
二、瘤胃微生物菌群的核酸分子探针杂交研究技术	(61)
三、瘤胃产甲烷菌克隆的 RFLP 分析技术	(62)
四、瘤胃微生物的多样性的 DGGE 研究技术	(66)
五、瘤胃真菌多样性的 ARISA 研究方法	(70)
第三章 不同种类动物瘤胃微生物菌群的差异	(74)
一、不同反刍动物瘤胃产甲烷古菌多样性的比较	(74)
二、羊驼与绵羊第一胃室微生物菌群的比较研究	(76)
三、羊驼与绵羊第一胃室细菌菌群的比较研究	(83)
第四章 瘤胃微生物间的互作	(90)
一、瘤胃细菌与真菌间的互作	(90)
二、瘤胃细菌与原虫间的互作研究	(96)
三、瘤胃细菌与产甲烷古菌间的互作	(99)
四、瘤胃真菌与原虫间的互作	(101)
五、瘤胃真菌与产甲烷古菌间的互作	(104)
六、瘤胃原虫与产甲烷古菌间的互作	(110)

第五章 瘤胃微生物的生态分布	(111)
一、瘤胃壁上的微生物	(111)
二、瘤胃液中的微生物	(112)
三、附着于饲料颗粒的微生物	(112)
四、产甲烷古菌在瘤胃中的生态分布研究	(113)
第六章 瘤胃微生物代谢的调控	(127)
一、瘤胃微生物代谢的研究进展	(127)
二、纳米铜对瘤胃微生物代谢的影响	(138)
三、丙二醇对瘤胃微生物代谢的影响	(143)
四、2-甲基丁酸对瘤胃微生物代谢的影响	(145)
第七章 瘤胃微生物的利用	(148)
一、瘤胃微生物利用的研究进展	(148)
二、利用瘤胃微生物评价饲料营养价值的研究	(152)
三、利用瘤胃微生物发酵饲料的研究	(155)
四、利用瘤胃微生物酶的研究	(156)
主要参考文献	(159)
专有名词缩写中英注释	(169)

第一章 瘤胃微生物种类的多样性

反刍动物与单胃动物最大的区别在于其拥有多个胃室，并且前胃中栖息着复杂、多样、非致病的各种微生物，包括瘤胃细菌、厌氧真菌和瘤胃原虫，还有少数噬菌体。这些微生物的多样性是宿主和微生物之间强烈选择和协同进化的结果，对于宿主消化纤维素、半纤维素等自身不能消化的植物物质的消化方面起决定性作用。对于反刍动物前胃微生物的研究主要集中于牛和羊的瘤胃微生物，因此本章主要介绍瘤胃微生物的多样性。

一、瘤胃细菌种类的多样性

在瘤胃微生物中细菌的种类和数量最多，瘤胃液中的细菌浓度可达 $10^{10} \sim 10^{11}$ 个/ml。16S 核糖体 DNA 序列分析结果表明，瘤胃细菌主要属于拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和厚壁菌门 (Firmicutes)，通常根据形态或功能进行分类。瘤胃细菌根据形态可大致分为球菌、短杆菌、长杆菌、弧菌和螺旋菌等；根据功能可分为纤维素降解细菌、半纤维素降解细菌、淀粉降解细菌、蛋白降解细菌、脂肪降解细菌、酸利用菌和乳酸产生菌等，本节主要根据它们在瘤胃中的功能分类来介绍主要的瘤胃细菌。

(一) 纤维素降解细菌

在已知的瘤胃细菌中，能降解纤维素的细菌主要有产琥珀酸丝状杆菌 (*Fibrobacter succinogenes*)、黄色瘤胃球菌 (*Ruminococcus flavefaciens*)、白色瘤胃球菌 (*Ruminococcus albus*)、溶纤维丁酸弧菌 (*Butyrivibrio fibrisolvens*) 和小瘤胃杆菌 (*Ruminobacter parvum*)，以及梭菌属 (*Clostridium cellobioparum*、*Clostridium longisporum*、*Clostridium lochheadii* 和 *C. chartatabidum*) 和真细菌属 (*Eubacterium cellulosolvens*) 的一些菌株。

1. 产琥珀酸丝状杆菌 (*Fibrobacter succinogenes*)

产琥珀酸丝状杆菌在瘤胃中普遍存在，并具有很强的降解纤维素的能力，是瘤胃中主要的纤维素降解细菌，隶属于纤维杆菌纲 (Fibrobacteres)、纤维杆

菌目 (Fibrobacterales) 纤维杆菌科 (Fibrobacteraceae) 纤维杆菌属 (*Fibrobacter*)。它过去被称产琥珀酸拟杆菌 (*Bacteroides succinogenes*)，1988 年研究发现其种群发生关系上与拟杆菌相差较大，故被重新命名 (Montgomery 等, 1988)。此菌是严格厌氧的革兰氏阴性菌，初次分离细胞主要为杆状 (图 1-1A)，继续培养后变成球状、柠檬状或卵状 (图 1-1B)，长度 $1.0 \sim 2.0 \mu\text{m}$ ，宽 $0.3 \sim 0.4 \mu\text{m}$ ，大多呈单体存在，也成对或短链状、玫瑰花团状排列。长时间培养，细胞易迅速死亡。

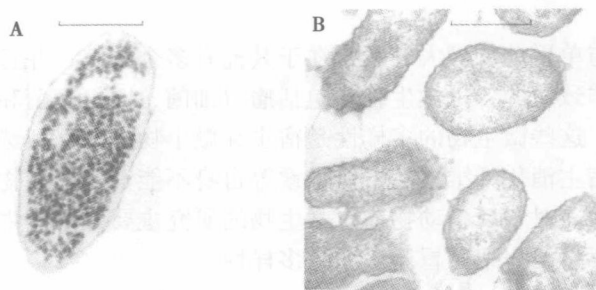


图 1-1 产琥珀酸丝状杆菌的电镜照片

Figure 1-1 Transmission electromicrograph of *Fibrobacter succinogenes*

(资料来源: Stewart 等, 1981)

产琥珀酸丝状杆菌能利用纤维素、纤维二糖、葡萄糖等底物，但不能利用木聚糖、蔗糖、D-木糖、阿拉伯糖、果糖等底物，其纯培养菌具有很强的降解结构性的、坚韧物质如秸秆的能力，能够降解一些不被黄色瘤胃球菌降解的某些同质异晶体纤维素，发酵产物主要为乙酸和琥珀酸，不产生 H_2 。该菌的生长必需戊酸和异丁酸，也常需要生物素和对氨基苯甲酸。脂肪酸主要用来合成磷脂，异丁酸用来合成脂肪醛和支链 16 碳及 14 碳脂肪酸，戊酸转化成脂肪醛和直链 13 碳及 15 碳脂肪酸。

与黄色瘤胃球菌和白色瘤胃球菌等纤维素降解细菌相比，产琥珀酸丝状杆菌对抗生素具有较强的耐受能力，当动物饲用抗生素阿伏霉素时，该菌可成为瘤胃中占主导地位的纤维素降解细菌。但是，近来研究表明，某些植物次生代谢物，如酚类物质和黄芪的可溶性物质，可抑制产琥珀酸丝状杆菌。

2. 瘤胃球菌 (*Ruminococcus* species)

瘤胃球菌隶属于梭菌纲 (Clostridia) 梭菌目 (Clostridiales) 毛螺旋菌科 (Lachnospiraceae) 瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*)。其中，黄色瘤胃球菌 (*R. flavefaciens*) 和白色瘤胃球菌 (*R. albus*) 广泛存在于草食动物胃肠道中，是瘤胃中主要的纤维降解菌，通常在瘤胃中白色瘤胃球菌数量大于黄色瘤胃球菌。它们均为严格厌氧型革兰氏阳性球菌，直径 $0.7 \sim 1.6 \mu\text{m}$ 。黄色瘤胃球菌

细胞革兰氏染色反应常发生变异而出现革兰氏阴性反应，细胞常排列成长链（图 1-2），产生黄色色素。白色瘤胃球菌革兰氏染色呈稳定的阳性反应，常以成双球菌存在，不产生黄色色素，菌落常呈白色。

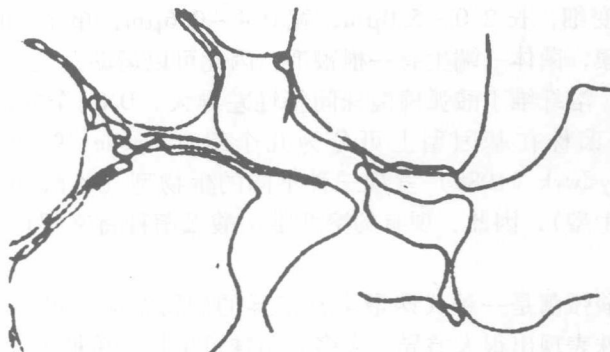


图 1-2 黄色瘤胃球菌的显微镜照片

Figure 1-2 Photomicrograph of *Ruminococcus flavefaciens*

（资料来源：Sijpesteijn, 1951）

黄色瘤胃球菌和白色瘤胃球菌均能利用纤维素、纤维二糖、木聚糖等底物，不能发酵淀粉、麦芽糖、半乳糖等底物。黄色瘤胃球菌产生的木聚糖酶属于结构极其复杂的复合酶体，该菌还能产生多簇内切葡聚糖酶和一种外切葡聚糖酶。很多黄色瘤胃球菌菌株都能降解那些通常难降解的、坚韧的纤维，如棉花纤维，而白色瘤胃球菌中有些不是纤维降解菌。这些瘤胃球菌都能利用纤维二糖，白色瘤胃球菌优先利用纤维二糖，然后利用葡萄糖，但是黄色瘤胃球菌通常不能利用葡萄糖。黄色瘤胃球菌和白色瘤胃球菌的生长都需要异戊酸、异丁酸和生物素。白色瘤胃球菌在培养基中快速生长、荚膜的形成和纤维素降解时都需要 3-苯基丙酸，而黄色瘤胃球菌则不需要。许多瘤胃球菌需要苯丙氨酸和吡哆胺，有的需要硫胺素、核黄素和叶酸。很多菌株需要氨，氨的利用优先于氨基酸。黄色瘤胃球菌和白色瘤胃球菌降解半纤维素和果胶的程度通常受生长底物的诱导。黄色瘤胃球菌的主要发酵产物为琥珀酸和乙酸，还有甲酸及少量的氢气、乙醇和乳酸。白色瘤胃球菌的主要发酵产物为乙酸，几乎不产生琥珀酸，但可产生大量的氢气和乙醇，有的菌株可产生乳酸。

白色瘤胃球菌可产生细菌素，对黄色瘤胃球菌具有抑制作用。瘤胃球菌属菌产生的一些代谢物还可抑制瘤胃真菌降解纤维。另外，瘤胃球菌对离子载体抗生素如莫能菌素、瘤胃低 pH 值都很敏感。

除白色瘤胃球菌和黄色瘤胃球菌外，瘤胃中还发现有其他瘤胃球菌，其中 *R. bromii* 具有降解淀粉的作用，在瘤胃淀粉降解过程中起很大作用。

3. 溶纤维丁酸弧菌 (*Butyrivibrio fibrisolvens*)

溶纤维丁酸弧菌属于梭菌纲 (Clostridia) 梭菌目 (Clostridiales) 毛螺旋菌科 (Lachnospiraceae) 丁酸弧菌属 (*Butyrivibrio*)。该菌细胞呈典型的弧状杆菌, 一端逐渐变细, 长 $2.0 \sim 5.0 \mu\text{m}$, 宽 $0.4 \sim 0.6 \mu\text{m}$, 单个或成对或呈链状排列, 具有荚膜, 菌体一端生有一根鞭毛, 因此可以运动, 是一种严格厌氧型革兰氏阳性菌。溶纤维丁酸弧菌菌株间特性差异大。DNA 杂交以及 16S rDNA 序列分析表明菌株在基因型上可分为几个组 (Forster 等, 1996), Vander Toorn 和 Van Gyslwyk (1985) 发现三种不同的生物型 (乙酸利用型、乙酸产生型和丙酸产生型), 因此, 现有的溶纤维丁酸弧菌种将来很可能还需要重新分类。

溶纤维丁酸弧菌是一种代谢最丰富多样的瘤胃细菌, 可发酵的底物范围广, 但不同菌株表现出很大差异。大多数菌株可生长在单糖上, 包括戊糖如木糖和阿拉伯糖, 可生长在其他微生物产生的可溶性降解产物的培养基上, 还可生长在含淀粉、果胶多糖以及其他非纤维多糖的培养基上。该菌在完整细胞壁和纤维素上生长较差。但从瘤胃中能分离到具有纤维降解活性的菌株, 菌细胞能迅速彻底地消化纤维素, 但这种活性在实验室条件下不常见, 可能因培养过程中基因丢失的缘故。很多菌株具有降解木聚糖的能力, 除产生胞外木聚糖酶活性外, 还产生乙酰木聚糖酯酶。这些菌株还可利用木聚糖的降解产物, 但其利用程度与不同植物木聚糖侧链的特性和部位有关。有研究表明, 糖醛酸以及带有酚酸的木寡糖可以被用于菌株的生长。溶纤维丁酸弧菌的发酵产物主要有 CO_2 、氢气、乙醇、乙酸、丁酸、甲酸和乳酸。如果培养基中含有瘤胃液, 该菌则不是产生乙酸而是吸收乙酸, 可能转化成丁酸。

溶纤维丁酸弧菌具有淀粉降解酶活性、蛋白降解酶活性, 以及氢化作用, 可能在瘤胃中淀粉的降解、蛋白质降解, 以及生物氢化过程中起一定作用。

4. 梭菌属 (*Clostridium* species)

梭菌属隶属于梭菌纲 (Clostridia) 梭菌目 (Clostridiales) 梭菌科 (Clostridiaceae) 梭菌属 (*Clostridium*)。其菌细胞呈杆状, 长 $3.0 \sim 6.0 \mu\text{m}$, 直径约 $0.8 \mu\text{m}$, 具有周身鞭毛, 可以运动, 是严格厌氧型革兰氏阴性菌。

梭菌常发现于瘤胃, 虽然不是瘤胃中的主要细菌, 但其在瘤胃中的种类多, 有纤维素降解梭菌, 如 *C. cellobioparum*、*C. longisporum*、*C. lochheadii* 和 *C. chartatabidum*, 有的菌株可降解几丁质, 有的菌株可降解含羞草素, 有的可水解蛋白质。产气荚膜梭菌 (*C. perfringens*) 和丁酸梭菌 (*C. butyricum*) 可分离自饲喂高含量淀粉的反刍动物瘤胃。发酵底物范围广, 发酵产物主要为甲酸、丁酸和乙酸, 还有丙酸和氢气等。

5. 小瘤胃杆菌 (*Ruminobacter parvum*)

小瘤胃杆菌隶属于 γ -变形菌纲 (Gammaproteobacteria) 气单胞菌目 (Aeromonadales) 琥珀酸弧菌科 (Succinivibrionaceae) 瘤胃杆菌属 (*Ruminobacter*)。该菌细胞呈短杆状, 可运动, 是严格厌氧, 细胞革兰氏染色呈阴性。

小瘤胃杆菌能发酵丙酮酸、D-阿拉伯糖、D-木糖、纤维二糖、蔗糖、麦芽糖、纤维素、糊精、木聚糖和果胶等, 发酵纤维二糖的产物有乳酸、乙醇、乙酸、CO₂ 和氢气。该菌生长需要酵母提取物中一种耐热的非 B 族维生素、金属或挥发性脂肪酸 (volatile fatty acid, VFA) 的物质, 并且不能长期传代培养。

6. 真细菌 (*Eubacterium species*)

真细菌隶属于梭菌纲 (Clostridia) 梭菌目 (Clostridiales) 真杆菌科 (Eubacteriaceae) 真杆菌属 (*Eubacterium*)。瘤胃中的真细菌最早由 Bryant 和 Burkey 在 1953 年发现, 此后已发现多种, 有的可利用 CO₂ 和氢气产生乙酸, 有的可降解木聚糖或没食子酸盐, 其中研究较多的是反刍兽真细菌 (*E. ruminantium*) 和溶纤维真细菌 (*E. cellulosolvens*)。

反刍兽真细菌细胞呈短杆状, 长 0.7 ~ 2.0 μm , 宽 0.5 ~ 0.7 μm , 一般单体、成对或短链排列, 不运动, 是严格厌氧, 细胞革兰氏染色呈阳性, 老龄细胞染色后易褪色。氨是该菌生长必需的氮源, 生长还需一种或多种挥发性脂肪酸: n-戊酸、异戊酸、2-甲基丁酸或异丁酸。可发酵纤维二糖、葡萄糖和果糖, 发酵产物主要为丁酸、甲酸和乳酸。据报道, 该菌可占分离自牛瘤胃的可培养细菌的 5%。

溶纤维真细菌形状与反刍兽真细菌相同, 但有数根周鞭毛, 可运动。该菌具有纤维降解能力, 有研究估计 (Prins 等, 1972), 该菌在饲喂青干草和精饲料的奶牛瘤胃中的数量可占总纤维降解细菌的 50%。体外培养时, 表现出较强的降解植物细胞壁的能力。

瘤胃中还存在其他真细菌, 如纤维分解菌 *Eubacterium* sp. F₁ (Wong 和 Chee, 未发表, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/161703203>) 发现于牛的瘤胃, 而在羊驼第一胃中大量存在 (Pei 等, 2010); *E. oxidoreducens* 能以 H₂ 和甲酸为电子供体降解没食子酸和连苯三酚, 产生乙酸和丁酸等产物。

(二) 淀粉降解细菌

一些纤维素降解菌, 如 *Clostridium lochheadii*、产琥珀酸丝状杆菌和溶纤维丁酸弧菌的某些菌株, 也可以降解淀粉。能降解淀粉的非纤维降解菌有: 牛链球菌、嗜淀粉瘤胃杆菌、栖瘤胃普雷沃氏菌、溶淀粉琥珀酸单胞菌, 以及反刍兽新月形单胞菌的很多菌株。

1. 牛链球菌 (*Streptococcus bovis*)

牛链球菌是广泛存在于瘤胃中的淀粉降解菌, 隶属于芽孢杆菌纲 (Bacilli) 乳杆菌目 (Lactobacillales) 链球菌科 (Streptococcaceae) 链球菌属 (*Streptococcus*)。该菌细胞呈圆形或卵圆形, 直径约 $0.9 \sim 1.0 \mu\text{m}$, 常排列成链状。革兰氏阳性, 但老龄细胞也可呈革兰氏阴性。无鞭毛, 不具游动性。多数菌株兼性厌氧, 有的严格厌氧, 也有的菌株可以耐氧。牛链球菌生长快, 其群体对数期数量倍增时间 (Population doubling time) 与大肠杆菌的相当。

牛链球菌可以利用 NH_3 作为其唯一氮源, 但其生长需要生物素, CO_2 等物质, 硫胺素、精氨酸等物质可以刺激其快速生长。该菌不能降解纤维素, 淀粉发酵产物为乳酸, 因此, 该菌与瘤胃乳酸中毒密切相关, 而受到广泛关注。据报道, 该菌是淀粉降解菌中降解谷类淀粉能力最强的一种 (McAllister 等, 1990)。该菌产生的淀粉降解酶主要为作用于粗淀粉的一种胞外酶, 也有作用于可溶性淀粉的胞内酶。该菌细胞内 pH 值可以随细胞外的 pH 值降低而降低, 因此瘤胃中脂肪酸积累引起的酸性环境不会影响牛链球菌的生长。在通常情况下, 该菌常以葡萄糖被动转运机制利用葡萄糖, 但当葡萄糖浓度很高时, 过量部分可以通过扩散机制被利用, 因此该菌常限制了其他糖降解菌对底物的利用。另外, 牛链球菌也可以利用水溶性纤维糊精, 因此, 在粗饲料日粮条件下, 该菌在瘤胃中依然可以生存。

2. 嗜淀粉瘤胃杆菌 (*Ruminobacter amylophilus*)

嗜淀粉瘤胃杆菌是瘤胃中主要淀粉降解菌之一, 隶属于 γ -变形菌纲 (Gammaproteobacteria) 气单胞菌目 (Aeromonadales) 琥珀酸弧菌科 (Succinivibrionaceae) 瘤胃杆菌属 (*Ruminobacter*)。该菌原名嗜淀粉拟杆菌 (*Bacteroides amylophilus*), 1986 年 Stackebrandt 和 Hippe 根据 16S 核糖体 RNA 序列重新命名。该菌其形态多样, 从卵球形到圆端长杆状, 或不规则的弧形, 长 $1.0 \sim 3.0 \mu\text{m}$, 宽 $1.0 \mu\text{m}$ 。在酵母提取液 + 类胰蛋白酶 + 瘤胃液的液体培养基中培养, 一般呈单体或成对存在, 是严格厌氧的革兰氏阴性菌。一般情况下, 嗜淀粉瘤胃杆菌在瘤胃中的数量较少, 但当动物采食谷物类混合日粮时该菌数量迅速增加。

嗜淀粉瘤胃杆菌主要发酵淀粉。有研究报道, 嗜淀粉瘤胃杆菌通过其胞内淀粉酶降解淀粉: 淀粉颗粒首先与细胞表面受体结合, 然后转运至细胞内进行水解。嗜淀粉瘤胃杆菌还可利用麦芽糖、糖原和糊精, 但不能发酵和利用其他糖类。发酵产物主要为甲酸、乙酸和琥珀酸, 还有少量乳酸。嗜淀粉瘤胃杆菌生长还需要 CO_2 和氨。

嗜淀粉瘤胃杆菌具有很强的降解蛋白质的能力, 与栖瘤胃普雷沃氏菌和溶纤维丁酸弧菌 (*Butyrivibrio fibrisolvens*) 一起是瘤胃中三种主要的蛋白降解菌。

与后两者不同,嗜淀粉瘤胃杆菌的生长需要二氧化碳和氨,而无需肽或氨基酸,即使肽或氨基酸存在下该菌也主要利用氨。蛋白酶活性并不依赖于培养基中蛋白质或肽或氨基酸的存在。

3. 普雷沃氏菌 (*Prevotella species*)

普雷沃氏菌是广泛存在于瘤胃且数量最多的一类细菌,隶属于真细菌(eubacteria)的拟杆菌纲(Bacteroidetes)拟杆菌目(Bacteroidales)普雷沃氏菌科(Prevotellaceae)普雷沃氏属(*Prevotella*)。此菌过去被认为是拟杆菌属的栖瘤胃拟杆菌(*Bacteroides ruminicola*),1990年Shah和Collins重新定义拟杆菌属,认为栖瘤胃拟杆菌不应属于拟杆菌属,从而被划分为普雷沃氏菌属,称栖瘤胃普雷沃氏菌(*Prevotella ruminicola*)。栖瘤胃普雷沃氏菌严格厌氧,革兰氏阴性,多型性杆状或球杆状,长 $0.8 \sim 3.0 \mu\text{m}$,宽 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m}$ 。

栖瘤胃普雷沃氏菌的菌株间遗传差异大。过去只有栖瘤胃栖瘤胃亚种(*Prevotella ruminicola* subsp. *ruminicola*)和短栖瘤胃(*Prevotella ruminicola* subsp. *brevis*)亚种的区分。近年来,经过16S核糖体RNA序列分析以及鸟嘌呤+胞嘧啶(G+C)含量、形态和代谢等的研究,人们重新命名了栖瘤胃普雷沃氏菌种,并提出了三个新种,即短普雷沃氏菌(*Prevotella brevis*)、布氏普雷沃氏菌(*Prevotella bryantii*)和*Prevotella albensis*。Pei等(2010)的研究发现在绵羊瘤胃中类似于栖瘤胃普雷沃氏菌的有7种不同的序列。

普雷沃氏菌在瘤胃中可降解和利用淀粉和植物细胞壁多糖如木聚糖和果胶,但是不能降解纤维素。栖瘤胃普雷沃氏菌和布氏普雷沃氏菌可产生木聚糖酶和羧甲基纤维素酶,但是由于缺少真正的纤维素酶,因此在纯培养时不能降解细胞壁,但与纤维降解菌共培养时能有效地利用木聚糖和果胶。某些栖瘤胃普雷沃氏菌株具有很强的降解燕麦木聚寡糖的能力,但短普雷沃氏菌几乎不产生木聚糖酶和羧甲基纤维素酶。普雷沃氏菌的发酵产物主要包括乙酸、琥珀酸和丙酸,其中丙酸主要通过丙烯酸途径合成。另外,栖瘤胃普雷沃氏菌的一些菌株在代谢过程中会产生大量的黏液,与瘤胃鼓胀病的发生有一定的关系。

普雷沃氏菌在瘤胃中蛋白质的降解以及肽的吸收和发酵过程中起作用,其中栖瘤胃普雷沃氏菌是瘤胃中主要蛋白降解菌之一,而短普雷沃氏菌的蛋白酶活性为普雷沃氏菌中最高。具蛋白酶活性的普雷沃氏菌在瘤胃中普遍存在,而且,迄今发现的普雷沃氏菌菌株都具有二肽酶活性,这是其他瘤胃细菌所没有的特性。

在一些菌株中发现有温和性噬菌体、烈性噬菌体以及携带某些抗生素抗性的质粒(如抗四环素基因质粒)。通常普雷沃氏菌对莫能霉素敏感,但现已发现抗莫能霉素的突变株。

4. 溶淀粉琥珀酸单胞菌 (*Succinimonas amylolytica*)

溶淀粉琥珀酸单胞菌隶属于 γ -变形菌纲 (Gammaproteobacteria) 气单胞菌目 (Aeromonadales) 琥珀酸弧菌科 (Succinivibrionaceae) 琥珀酸单胞菌属 (*Succinimonas*)。其最早分离自饲喂稻草和谷类的牛瘤胃。菌细胞呈圆头直杆状或卵圆形, 长 $1.0 \sim 3.0 \mu\text{m}$, 宽 $1.0 \sim 1.5 \mu\text{m}$, 端生单鞭毛、能运动, 单体或成对排列, 是严格厌氧型革兰氏阴性菌。

溶淀粉琥珀酸单胞菌也属于淀粉降解细菌, 但其在瘤胃中的数量不及普雷沃氏菌和嗜淀粉瘤胃杆菌。该菌在动物中数量分布也无规律, 有时在饲喂高谷物精料的动物中, 一头动物瘤胃中很多而另一头动物瘤胃中很少, 但一般情况下, 当动物饲喂青贮苜蓿、苜蓿干草或麦秸时该菌在瘤胃中的数量很少。溶淀粉琥珀酸单胞菌通常只发酵淀粉和麦芽糖。发酵产物主要为乙酸和丙酸。该菌生长需要二氧化碳, 乙酸能刺激它生长。

5. 反刍兽新月形单胞菌 (*Selenomonas ruminantium*)

反刍兽新月形单胞菌隶属于梭菌纲 (Clostridia) 梭菌目 (Clostridiales) 韦荣氏菌科 (Veillonellaceae) 新月形单胞菌属 (*Selenomonas*)。该菌细胞似新月形或半月形, 长 $3.0 \sim 6.0 \mu\text{m}$, 宽 $0.9 \sim 1.1 \mu\text{m}$, 在新月形的凹侧面中央有一束多达 16 根的鞭毛, 所以可以滚动, 但当葡萄糖过剩和磷酸盐有限时, 鞭毛会失去, 菌体呈螺旋状, 菌体单在或成对排列, 革兰氏阴性, 一般是严格厌氧, 但也有菌株能耐少量的氧气, 其中有菌株具有还原型辅酶 I (NADH) 过氧化物酶, 可以将氧气还原成水或双氧水。

反刍兽新月形单胞菌不能发酵纤维素、木聚糖和果胶, 但是可有效利用这些多糖的降解产物如纤维二糖, 还可以利用麦芽糖以及各种单糖。该菌的很多菌株能发酵淀粉, 有的菌株还发酵乳酸。所有菌株都能产生乙酸和丙酸, 但丁酸、琥珀酸、乳酸和甲酸的产生因菌株而异。该菌生长需要因菌株而异, 但一般都需戊酸、 CO_2 和 B 族维生素。该菌的乳酸利用菌株利用乳酸时常需要氨基酸, 尤其是天门冬氨酸, 以及对氨基苯甲酸。该菌主要特征是多数菌株可从含半胱氨酸的培养基产生硫化氢, 生长后培养液的最终 pH 值很低 (4.3), 仅次于牛链球菌和一些乳酸杆菌 (4.0)。

反刍兽新月形单胞菌存在不同亚种, 如反刍兽新月形单胞菌乳酸分解亚种 (*S. ruminantium* subsp. *lactilytica*) 可以发酵乳酸和甘油; 反刍兽新月形单胞菌栖瘤胃亚种 (*S. ruminantium* subsp. *ruminicola*) 不发酵乳酸和甘油; 反刍兽新月形单胞菌布氏亚种 (*S. ruminantium* subsp. *bryantii*), 包括大细胞菌株, 其细胞长 $5 \sim 10 \mu\text{m}$, 宽 $2 \sim 3 \mu\text{m}$, 不能发酵阿拉伯糖、木糖、乳糖或半乳糖醇, 也不能从半胱氨酸产生硫化氢。其中, 大多数菌株归属于前两个亚种。

反刍兽新月形单胞菌纯培养只产生很少量的氢气, 但是与产甲烷菌共培养