



为动物类专业本科生讲授瘤胃微生物知识点的体会

鲁琼芬¹ 毛华明¹ 陈培富^{*2}

1 云南农业大学动物科学技术学院 云南省动物营养与饲料重点实验室 云南 昆明 650201

2 云南农业大学动物医学院 云南 昆明 650201

摘要: 瘤胃微生物与反刍动物的共生关系是动物类专业本科生必须掌握的重要知识。我们采取问题导向教学方法,使学生较好地掌握瘤胃微生物在反刍动物生长发育中的作用,积极培养学生在科学饲养反刍动物、正确防治瘤胃疾病以及未来开展反刍动物相关研究的素质和能力。

关键词: 瘤胃微生物, 问题导向教学, 发酵, 微生物蛋白, 瘤胃疾病

Experience of teaching knowledge about rumen microbes for undergraduates in animal sciences

LU Qiong-Fen¹ MAO Hua-Ming¹ CHEN Pei-Fu^{*2}

1 Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science of Yunnan Province, College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China

2 College of Veterinary Medicine, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China

Abstract: The symbiotic relationship between rumen microbes and ruminants is an important knowledge that must be mastered by undergraduate students in animal sciences. The authors employ a problem-oriented teaching method to enable students to better grasp the role of rumen microorganisms in the growth and development of ruminants, and to achieve active cultivation in the quality and ability of the students to rationally feed ruminants, correctly prevent ruminal diseases, and carry out research related to ruminants in the future.

Keywords: Rumen microbes, Problem-oriented teaching, Fermentation, Microbial proteins, Ruminal diseases

瘤胃微生物(rumen microbes)与反刍动物形成典型的共生关系(symbiosis),是反刍动物营养的核心基础。但另一方面,瘤胃微生物异常发酵易引起瘤胃臌气(bloat)或亚急性瘤胃酸中毒(subacute ruminal acidosis),分别是导致反刍动物猝死和肝脓

肿的常见前胃疾病,对健康危害很大。所以,瘤胃微生物的知识在畜牧(动物科学)、兽医(动物医学)等动物类专业本科教学中占据着重要的位置。随着宽口径、强基础的本科教学指导思想的提出,我们开设的动物微生物学课程理论课时数出

Foundation item: Development of Modern Agriculture-Dairy Industry Technique System in Yunnan Province

***Corresponding author:** Tel: 86-871-65228865; E-mail: cltwins2003@163.com

Received: 13-11-2019; **Accepted:** 31-12-2019; **Published online:** 08-01-2020

基金项目: 云南省现代农业奶牛产业技术体系建设

通信作者: Tel: 0871-65228865; E-mail: cltwins2003@163.com

收稿日期: 2019-11-13; 接受日期: 2019-12-31; 网络首发日期: 2020-01-08

现明显压缩,如何在目前计划分配的不超过30 min的时间内把瘤胃微生物这个重要的知识点讲得清楚、讲出兴趣,自然是一个不小的教学挑战。本文作者在开展本科教学和课题研究的过程中,对如何讲授好瘤胃微生物知识点以给学生留下深刻的微生物学课堂印象,并教会他们如何利用瘤胃微生物与反刍动物的特殊生态关系去做好反刍动物的饲养和瘤胃疾病的防治,经过多年反复摸索和锤炼,逐渐形成一套有特色的问题导向教学方法(problem-oriented teaching),现总结出来与同行分享、交流,希望有借鉴作用。

1 瘤胃微生物知识点的问题导向

1.1 瘤胃微生物是什么样的微生物

为阐明瘤胃微生物的种类和性质,首先需要提示学生回顾动物解剖学和动物生理学的相关知识。瘤胃是牛、羊、鹿、驼等反刍动物特有的第一前胃,可容纳大量食物,并能节律性收缩,通过在网胃的协同下搅拌食物,使其得到充分混匀并不断向瓣胃移动。更重要的是,瘤胃在体内提供了一个相对高温、严格厌氧的局部环境。由此可知,瘤胃微生物都是瘤胃环境特有的厌氧微生物(anaerobes),主要包括厌氧性细菌、真菌、原虫及产甲烷菌(methanogens)。这些微生物暴露在空气中很快便会死亡(半衰期约20 min),原因是什么呢?原来,厌氧微生物缺少对有氧条件下代谢产生的活性氧簇或自由基进行有效分解的过氧化物酶^[1]。可见,若要在体外培养瘤胃微生物必须做厌氧培养。既然瘤胃是厌氧环境,瘤胃微生物对瘤胃内食物的分解就是一个典型的发酵过程。发酵的结果之一,便是瘤胃内部温度较其他部位高,已知可达40 °C,若屠宰反刍动物在放血完毕时伸手触摸瘤胃内部,便能直接感受到这一温度。这时,可提醒学生注意:在微生物学领域,凡微生物分解有机物的过程,不论是有氧还是厌氧条件下,都可以称作发酵(fermentation),这不同于生物化学中所指的狭义发酵——细胞对葡萄糖的厌氧分解过程。

随后以奶牛为例,以列表的形式向学生总结性介绍目前已研究清楚的瘤胃微生物种类和数量。优势菌门包括拟杆菌、变形菌和厚壁菌,优势菌目是梭菌和拟杆菌,优势菌科有毛螺菌和瘤胃球菌,优势菌属包括瘤胃球菌、普氏菌和丁酸弧菌^[2]。具体看,每克奶牛瘤胃内容物含有细菌约 10^{11} 个,近200个种类;纤毛虫 10^4 – 10^6 个,涵盖24个属;真菌 10^3 – 10^5 个,包括5个属,这些数据有助于学生直观地了解瘤胃微生物的多样性(diversity)^[3]。进一步指出,瘤胃微生物构成一个复杂的正常菌群,其体内生物效应多种多样,不同种类之间既互有重叠又互有差异,还相互影响。尽管瘤胃内细菌具有数量优势,但真菌具有强大的氧化发酵作用,并且通过游动孢子的主动吸附和萌芽率先对粗饲料进行分解;纤毛虫作为瘤胃内的腐生性原虫,既能进行氧化发酵,又能吞噬细菌,利于维持菌群平衡。目前推测瘤胃微生物之间的关系主要为协同作用,但若要全面阐明瘤胃微生物对反刍动物生存、生长的影响,必须把瘤胃微生物区系视作一个整体,采用当前正在不断完善的宏基因组学、宏转录组学、宏蛋白组学及代谢组学技术来研究^[4]。谈及此处,可补充以下两句话:产甲烷菌属于古生菌,竟然可存在于反刍动物的瘤胃内,其生物学意义尚不清楚,同学们可以思考一下(作者观点是产甲烷菌卷入瘤胃共生环境的形成),但其代谢产生的甲烷经暖气排出体外,由此造成约8%食物能量的损失^[5];另有学者认为,人类大量饲养反刍动物而由其暖出的甲烷,可能是导致地球变暖的原因之一^[6],答案尚不得而知,但若果真如此,未来有必要设法抑制瘤胃内甲烷产生或维持动物生产与温室气体排放的平衡。

1.2 瘤胃微生物究竟对反刍动物有什么贡献

已知瘤胃负责消化80%可消化物质和50%粗纤维,这应归功于瘤胃微生物。瘤胃微生物的生理功能或生物效应有多种,主要包括分解(半)纤维素、发酵糖类和果胶及合成一系列新的有机分

子, 并借此为反刍动物提供至少 3 类非常重要的营养物质, 即挥发性脂肪酸(volatile fatty acids, VFA)、微生物蛋白(microbial proteins, 俗称菌体蛋白)和维生素 B12^[7]。淀粉和纤维素都是植物源性多聚葡萄糖, 但动物体内产生的消化酶只能水解由 α -糖苷键连接形成的淀粉, 而不能水解由 β -糖苷键连接形成的纤维素。因此, 单胃动物通常不能有效利用纤维素。但对于反刍动物, 瘤胃微生物能产生多种相关的水解酶, 如内断型葡聚糖水解酶、外断型葡聚糖水解酶和 β -葡萄糖苷酶 3 种纤维素酶, 将纤维素分解为单糖或双糖, 并做进一步发酵利用^[8]。瘤胃内厌氧发酵产生的乙酸、丙酸、丁酸等短链 VFA, 小部分会随暖气排出, 这也是人们靠近反刍动物通常会闻到酸味的原因; 更重要的是, 这些脂肪酸直接经瘤胃壁及瘤胃乳头被动吸收, 进入体内组织加以代谢。据估算, 每头牛吃饱草料后, 源于瘤胃微生物发酵的 VFA 经机体吸收和分解代谢产生的能量, 可满足其基础代谢所需能量(energy for basal metabolism)的 70%, 这对反刍动物的生存具有重要的意义。此时, 可借机提问学生每头牛每天要吃多少草料才能满足其生长需求(答案: 动物体重的 12%–15%), 以使其知晓饲养过程中应投喂饲草的数量。

进一步地, 以参加硕士研究生入学面试曾提的一个问题为例, 讲一个颇为有趣的故事。题目: 牛、羊通常分别吃牧草和树叶, 按理说草料或叶子并无多少营养价值, 为何它们照样可以长得很壮? 这是所有学生在学习动物微生物学后必须掌握的微生物生态学知识。道理要从蛋白质说起。动物个体需要源源不断地利用氨基酸来合成蛋白质, 以满足机体生存和生长发育的需要, 因为蛋白质是组织细胞的重要组成成分, 也是细胞功能的具体体现分子, 即便个体随年龄增长出现生长停止, 组织细胞也需要进行新旧蛋白质的更替。然而, 饲草的蛋白质含量很低, 就算是优质的黑麦草, 其粗蛋白(包括真蛋白和非蛋白含氮物)含量仅占湿重的 1.5%。显然, 如此微量的蛋白

质远远不能满足反刍动物生长的需要。那么, 反刍动物生长所需的蛋白质原料, 或者准确地说是氨基酸, 主要是从哪里来的? 答案就是瘤胃微生物。瘤胃微生物增殖快、数量大, 在把饲草中低品质的粗蛋白转变为氨的基础上, 合成数量非常可观的菌体蛋白^[5]。这些菌体蛋白相当于人类利用废弃物培养无害细菌、酵母菌、霉菌或藻类而生产的单细胞蛋白(single-cell protein, SCP)。随着食物的排空, 与食物一起进入皱胃(真胃)和小肠的瘤胃微生物死亡崩解, 菌体蛋白被胃蛋白酶和胰蛋白酶降解成多肽及氨基酸, 经小肠上皮细胞微绒毛吸收, 供反刍动物用于合成其自身的蛋白质。这便是反刍动物吃草就能长肉和产奶的原因, 也是反刍动物能独立生存于自然界的根本原因。借用鲁迅的经典名言, 正可谓“牛吃下去的是草, 挤出来的是奶”。从这个角度讲, 瘤胃及其微生物就是反刍动物的营养转化器。换言之, 瘤胃微生物不仅对食物进行预消化, 还兼作不可或缺的营养来源。

说到瘤胃微生物对反刍动物生存的独特贡献, 值得一提的是, 在云南高黎贡山一带以群居方式生存着一种野生的牛, 叫做大额牛或独龙牛(*Bos frontalis*), 它们以竹子为主食, 能在原始阔叶林环境中繁衍生息就是依靠发酵能力强大的瘤胃微生物。当然, 必须指出, 在人工饲养条件下, 应该遵循反刍动物生长发育的自然规律和生活及采食习性。在此需要强调的是, 反刍动物适应消化和利用饲草是其长期进化的结果, 因此没必要、也不允许在其饲料中添加任何动物来源的蛋白质。1986 年于英国最先发现的疯牛病(mad cow disease), 即牛海绵状脑病(bovine spongiform encephalopathy, BSE), 后来被证实为人新型克雅病(new variant Creutzfeldt-Jakob disease)的来源^[9], 这种由于蛋白质错误折叠形成的朊病毒(prion)导致的人兽共患病, 至今无药物可用于治疗, 也无疫苗可用于预防, 就是给牛吃肉, 即在草料中添加羊肉骨粉(bone meal)带来的沉痛教训。还需提及的

是,瘤胃微生物为反刍动物合成维生素B族和维生素K,其中维生素B12是一种含钴元素的维生素,因其参与动物体内甲硫氨酸(蛋氨酸)和胸苷酸的合成,对动物细胞生长和增殖同样是必不可少的营养成分。总结起来甚至可以说饲养反刍动物就是饲养瘤胃微生物。在饲养实践中,对犊牛和羔羊必须格外照顾、精心培育,甚至可饲喂代乳品、米粥等非常利于消化的食物,其目的就是让犊牛瘤胃发育良好,为瘤胃微生物的顺利定殖和将来对粗饲料的高效发酵做好必要的生理铺垫。另外可补充:以黄牛为例,不同年龄阶段或生理状态对营养需求存在明显差异,育肥期、怀孕期或泌乳期需要饲喂较多优质草料,甚至需要添加一定比例的精料。

1.3 瘤胃微生物异常发酵对反刍动物健康的危害有哪些

事物往往都具有两面性。瘤胃微生物是保证反刍动物生长发育的基本要素,但在某些特定情况下也可能对机体产生有害作用。据估计,每头牛每天随嗝气排出的甲烷多达几百升。但对于长期舍饲的牛,开始转为放牧时,若采食大量的易发酵幼嫩草料,如苜蓿、三叶草、紫云英等鞣酸含量低、蛋白质含量高的豆科牧草(legume forage),其中的蛋白质、皂苷、半纤维素等可快速消化有机质,突然加快某些产黏液瘤胃细菌(slime-producing rumen bacteria)的生长与发酵,由此产生的气体与瘤胃内容物中的不可溶黏液混合形成稳定性泡沫,因无法通过嗝气及时排出体外,会迅速引起原发性瘤胃臌气^[10]。视诊可见患牛左侧副腰窝急剧膨大,触诊瘤胃紧张而有弹性。由于腹内压升高,压迫胸腔,动物出现呼吸困难和血液循环障碍,若未被及时发现和救治,动物很快倒地死亡。该病在牛、羊养殖中相当常见,具有发病急(1 h-3 d)、死亡率高的特点,是必须重视的瘤胃疾病。针对瘤胃微生物异常发酵,对原发性瘤胃臌气的治疗原则是排气减压,制止发酵,恢复机能。对呼吸严重困难、心动过速和

反刍停止的患牛,应及时用套管针(或16号针)做瘤胃穿刺,拔掉针芯缓慢放气,但考虑到瘤胃内不良发酵仍在继续,因此在维持放气的情况下,应再灌服松节油、菜籽油、石蜡油或二甲基硅油之类的非离子型表面活性剂作为消沫药以及鱼石脂之类的制酵剂,也可经套管针注入少量的来苏儿或福尔马林等消毒防腐药;还可采用洗胃疗法,即插入胃导管,输入温盐水,放低导管,抽尽瘤胃内容物,禁饲一段时间,视需要再输入健康牛的瘤胃液,用于纠正瘤胃菌群失调。对威胁到生命的病例,可能需要马上开展瘤胃切开术,以充分排出瘤胃内容物。若不考虑异物堵塞食管、嗝气反射减弱等因素引起的继发性瘤胃臌气,防治原发性瘤胃臌气的关键便是避免或制止瘤胃异常发酵。在该病高发期,对划定使用界限的牧场或饲草堆,可提前(如利用挤奶时间段)向牧草喷洒油脂或泊洛沙林(poloxalene)等抗泡沫药剂,或者在放牧前饲喂干草至1/3饱感。

与瘤胃微生物异常发酵有关的前胃疾病还有亚急性瘤胃酸中毒。该病主要见于对能量需求旺盛的反刍动物,如育肥期或产奶期的牛群。反刍动物本来就吃纤维素含量高的草料为主,如果饲喂过多的易发酵糖类或含包谷的浓缩料,产乳酸瘤胃细菌(lactate-producing rumen bacteria)将得到快速生长,当乳酸积累至瘤胃液pH低于5.5时,便会发生亚急性瘤胃酸中毒,甚至因瘤胃上皮受到瘤胃酸性环境破坏而致使胃内细菌沿门静脉循环扩散进入血液,引起肝脓肿,进而可能引起腹膜炎、肺出血等疾病,病情严重的个体发生亚急性死亡^[10]。在兽医临床上,剖检病死牛若发现同时存在肝脓肿和前胃黏膜损伤,就应考虑亚急性瘤胃酸中毒,并及时给牛群减少饲喂淀粉类饲料,治疗则宜用甲硝唑等抗厌氧菌药物。

2 小结

在动物类专业本科教学中,动物微生物学是大学二年级开设的专业基础课,讲好瘤胃微生物

的知识内容, 对学生理解反刍动物相关的生理和病理过程, 以及学习后续更为复杂的专业课至关重要。对此, 我们在课前会提醒学生预习教材相关章节或网络相关信息; 制作包括研究新进展的PPT课件, 在宏观与细节层面认真组织课堂内容, 力争做到有专业高度、有知识拓展; 授课围绕为何“牛吃下去的是草, 挤出来的是奶”等科学问题展开互动式教学, 并在下课前做简要总结和给出课外兴趣拓展问题(如瘤胃微生物是否包括固氮菌及噬菌体、瘤胃产甲烷菌的生物学意义、反刍动物与单胃动物对菌体蛋白的依赖差异等); 课后则通过雨课堂等网络教学工具, 及时给学生推送规定时间内必须完成的课外作业(包括分别针对瘤胃微生物种类、效应、理解性描述及常见瘤胃疾病防治的5个选择题和基于共生意义的1个综合性问答题), 要求学生以小组讨论学习及小组间互评的形式来完成作业, 以巩固教学效果。沿这个教学思路, 本文通信作者参加2017年教学比赛, 获得学院一等奖和省级教学比赛初赛二等奖。重要的是, 在学校开展专业认证的过程中, 本课程目标达成度由2016年的0.66上升到2018年的0.71, 表明问题导向教学方法利于激发学生的求知欲, 引导学生产生专业兴趣, 调动其自主学习的积极性, 锻炼其逻辑思维能力, 使其较好地把握课程知识内容的要点, 并提前思考相关知识在生产中的应用。我们期待通过进一步完善教学内容、方法及手段, 继续推动实现教学效果的最大化。

REFERENCES

- [1] Rocha ER, Smith CJ. Role of the alkyl hydroperoxide reductase (*ahpCF*) gene in oxidative stress defense of the obligate Anaerobe *Bacteroides fragilis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181(18): 5701-5710
- [2] Ma J, Fan X, Chen H, et al. Research progress of rumen microorganism in dairy cows[J]. *China Dairy Cattle*, 2019(6): 6-11 (in Chinese)
马健, 范雪, 陈晖, 等. 奶牛瘤胃微生物的研究进展[J]. *中国奶牛*, 2019(6): 6-11
- [3] Li D, Wang JQ, Bu DP, et al. Advances in methodologies of ruminant microbial ecology and functionality[J]. *Microbiology China*, 2008, 35(12): 1961-1965 (in Chinese)
李旦, 王加启, 卜登攀, 等. 瘤胃微生物多样性及功能性研究方法概述[J]. *微生物学通报*, 2008, 35(12): 1961-1965
- [4] Niu HX, Chang J, Hu ZF, et al. Research progress on rumen microbiomes and their metabolic functions in ruminants based on omics technology[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2019, 50(6): 1113-1122 (in Chinese)
牛化欣, 常杰, 胡宗福, 等. 基于组学技术研究反刍动物瘤胃微生物及其代谢功能的进展[J]. *畜牧兽医学报*, 2019, 50(6): 1113-1122
- [5] Chesworth J. *Ruminant Nutrition*[M]. London and Basingstoke, UK: The Macmillan Press, 1992: 50-57
- [6] Zhou NY. Community of methane-producing microbes in the rumen[J]. *Microbiology China*, 2015, 42(3): 608 (in Chinese)
周宁一. 瘤胃产甲烷微生物菌群的研究[J]. *微生物学通报*, 2015, 42(3): 608
- [7] Chen PF. *Animal Microbiology & Immunology*[M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press, 2015: 11-12 (in Chinese)
陈培富. *动物微生物学与免疫学*[M]. 昆明: 云南科技出版社, 2015: 11-12
- [8] Wang Y, McAllister TA. Rumen microbes, enzymes and feed digestion-a review[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2002, 15(11): 1659-1676
- [9] Lu CP. *Veterinary Microbiology*[M]. 5th ed. Beijing: China Agriculture Press, 2013: 480-485 (in Chinese)
陆承平. *兽医微生物学*[M]. 5版. 北京: 中国农业出版社, 2013: 480-485
- [10] Aiello SE. *The Merck Veterinary Manual*[M]. 11th ed. Kenilworth: Merck Publishing Group, 2016: 225-230