

牛至精油缓解反刍动物瘤胃甲烷排放的研究进展

李晓鹏^{1,2}, 高鹏翔², 蒋林树², 屠焰¹✉

(1. 中国农业科学院饲料研究所, 农业农村部饲料生物技术重点实验室, 北京 100081;

2. 北京农学院动物科学技术学院, 奶牛营养学北京市重点实验室, 北京 102206)

摘要: 反刍动物温室气体的排放量占畜禽温室气体总排放量的 80%, 甲烷作为瘤胃微生物代谢的副产物, 不仅对环境造成严重危害还降低了反刍动物的饲料能量利用率。植物提取物凭借其调节瘤胃微生物群落的功效在甲烷减排领域成为研究热点之一。牛至精油是从牛至中提取的一种含多种生物活性物质的植物提取物, 以麝香草酚和香芹酚为主因子, 具有改善瘤胃内环境、改变瘤胃微生物组成、调控瘤胃发酵等生物学功能, 在反刍动物养殖领域的应用前景十分广阔。关于牛至精油降低甲烷的作用效果已在多种动物上进行研究, 结果表明牛至精油能通过调节瘤胃微生物及其代谢来降低瘤胃甲烷排放, 但对其作用机制的研究还不够深入。作者以反刍动物为对象, 对牛至精油通过调节瘤胃中细菌、古菌以及原虫的丰度和组成, 调控瘤胃代谢, 抑制二氧化碳还原途径和乙酸发酵途径, 达到改善甲烷排放的作用机制进行综述, 以期牛至精油在饲料中的应用提供参考。

关键词: 牛至精油; 反刍动物; 瘤胃; 甲烷排放

中图分类号: S816.7

文献标识码: A

Doi: 10.16431/j.cnki.1671-7236.2024.01.011

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Research Progress of Oregano Essential Oil in Alleviating Ruminant Methane Emission in Ruminants

LI Xiaopeng^{1,2}, GAO Pengxiang², JIANG Linshu², TU Yan¹✉

(1. Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Feed Biotechnology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100081, China;

2. Beijing Key Laboratory of Cow Nutrition, College of Animal Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

Abstract: The greenhouse gas emissions of ruminants account for 80% of the total greenhouse gas emissions of livestock and poultry. Methane, as a by-product of rumen microbial metabolism, not only causes serious harmness to the environment but also reduces the feed energy utilization of ruminants. Plant extracts have become one of the research hotspots in the field of methane emission reduction due to their ability to regulate rumen microbial communities. Oregano essential oil is a plant extract extracted from oregano that contains a variety of biologically active substances. With thymol and carvacrol as the main active factors, it can improve the rumen environment, change the composition of rumen microorganisms, and regulate rumen fermentation. Biological functions have broad application prospects in the field of ruminant breeding. The methane-lowering effect of oregano essential oil has been studied on a variety of animals. The results show that oregano essential oil can reduce ruminal methane emissions by regulating rumen microorganisms and their metabolism, but the research on its mechanism of action is not in-depth.

收稿日期: 2023-07-19

基金项目: 家畜产业技术体系北京市创新团队(BAIC05)

联系方式: 李晓鹏, E-mail: lxpdyhyq@126.com. 通信作者屠焰, E-mail: tuyan@caas.cn

enough. This article takes ruminants as the subject and reviews the mechanism of oregano essential oil to improve methane emissions by regulating the abundance and composition of bacteria, archaea and protozoa in the rumen, regulating rumen metabolism, inhibiting the carbon dioxide reduction pathway and the acetate fermentation pathway, and to provide reference for the application of oregano essential oil in feed.

Key words: oregano essential oil; ruminants; rumen; methane emissions

反刍动物作为主要的家畜品种之一,因为它们特殊的瘤胃发酵环境会产生甲烷(methane, CH₄)等温室气体,故成为畜牧业生产中温室气体排放的主要贡献者,约占牲畜总排放量的 80% 左右^[1]。瘤胃是反刍动物消化吸收饲料营养物质的重要器官,瘤胃内多种微生物(细菌、真菌、古菌和原虫)可将碳水化合物降解成二氧化碳(carbon dioxide, CO₂)、氢气(hydrogen, H₂)、挥发性脂肪酸(volatile fatty acids, VFA)等^[2],并合成甲烷排出体外,造成饲料能量的浪费。植物提取物因其具有调节瘤胃微生物群落、改善瘤胃发酵的作用,成为降低反刍动物甲烷排放的研究热点之一^[3]。牛至,属于唇形科牛至属植物,在国内外均有一定分布,具有极高的药用价值^[4]。牛至精油(oregano essential oil, OEO)是从牛至中提取得到,呈淡黄色澄清油状,在诸多试验中已被证明具有良好的抗菌、抗炎、抗氧化、增强免疫等特性^[5-8]。

目前,关于牛至精油降低甲烷排放的作用效果已在多种反刍动物上进行研究,结果显示牛至精油能通过调节瘤胃微生物及其代谢来降低瘤胃甲烷排放,但对其作用机制的研究还不够深入。另外,当其作为甲烷抑制剂应用于生产实践时,由于改变瘤胃发酵可能会影响动物生产性能,因此牛至精油的适宜添加剂量还需进一步研究。作者通过综述牛至精油及其主效因子对瘤胃微生物组成和丰度的影响,及其调节瘤胃微生物代谢、通过二氧化碳还原途径和乙酸发酵途径调控反刍动物瘤胃甲烷排放的作用机制,以期牛至精油在动物生产中的开发利用提供参考。

1 牛至精油功能组分及其特性

1.1 功能组分

牛至精油是一种以麝香草酚和香芹酚为主效因子的植物提取物^[9]。其中麝香草酚在牛至精油中含量为 15%~42%,香芹酚含量为 15%~34%,主要受牛至产地及提取部位影响^[10-11]。麝香草酚又名百里香酚,其性状为无色晶体或无色结晶粉末,有辛

香、草药气味,化学名称为 5-甲基-2-异丙基苯酚,分子式为 C₁₀H₁₄O,相对分子质量为 150.22,微溶于水,易溶于冰醋酸、石蜡油、乙醇等有机溶剂。香芹酚化学名称为 5-异丙基-2-甲基苯酚,与麝香草酚为同分异构体,外观为无色至淡黄色油状液体,化学性质与麝香草酚相似,二者结构式如图 1 所示。此外,牛至精油还包含多种含量较低的酚类和萜烯类化合物,如对聚伞花烃、松油烯等^[14]。

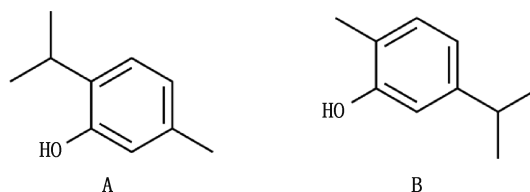


图 1 麝香草酚(A)与香芹酚(B)结构式^[12-13]

Fig. 1 Thymol (A) and carvacrol (B) structural formula^[12-13]

1.2 功能特性

研究表明,牛至精油具有抗氧化、抑菌特性^[15-16],这些特性与其分子结构密切相关。麝香草酚和香芹酚都是单萜类化合物,具有由两个异戊二烯分子和三个官能团键合形成的单酚环结构,其中羟基都连接在 C-1 位置,形成的酚羟基可作为氢供体与机体的氧自由基结合,阻断氧化链式反应,故具有显著的抗氧化特性^[17]。在麝香草酚中,甲基连接在 C-5 位,异丙基连接在 C-2 位,而在香芹酚中,甲基连接在 C-2 位,异丙基连接在 C-5 位。羟基和双键形成的离域电子系统是其存在抗菌活性的重要结构特征,正是这一结构使得这两种物质可作为质子交换剂,当其结合在细胞膜上时会降低细胞膜上的质子梯度,导致质子动力崩溃以及 ATP 池耗尽^[18]。麝香草酚和香芹酚的疏水性及对脂质的亲和力也使得其容易整合到细菌细胞膜上发挥抑菌作用^[19]。

2 牛至精油对反刍动物甲烷排放的影响

牛至精油作为一种较为成熟的饲料添加剂,在近年来的研究中展现出了缓解反刍动物甲烷排放的

潜力,作用效果与其添加量有关。但目前的研究多采用的是体外试验。刘立山等^[20]按照底物干物质质量的0、0.5%、1.0%、1.5%添加牛至精油,探究其对绵羊体外发酵特性及甲烷产量的影响,研究结果显示,发酵24和48 h时,1.5%组甲烷产量和总产气量相对于对照组均显著降低,发酵24 h的甲烷产量由(31.19 ± 13.60) mL/g 下降到(24.95 ± 0.71) mL/g,甲烷占总气体的比例也由23.55%下降到20.41%。周瑞等^[21]以0、100、400、700和1 000 mg/L的剂量探究牛至精油对绵羊瘤胃发酵的作用效果时同样发现,400和700 mg/L组3、6、18、24、36、48 h的总产气量和甲烷产量均显著降低,1 000 mg/L组发酵6、12、18、36 h的总产气量、甲烷产量也有降低,降低甲烷排放量幅度为9%~20%。从上述两篇文献提供的结果来看,牛至精油可降低瘤胃甲烷排放量,且随着剂量的增加并未出现负面作用。一些体内试验证实牛至精油会影响胃肠道黏膜屏障,如Jia等^[22]将50 mg/d牛至精油添加到饲料中饲喂90 d,显著提高了绵羊的日增重,降低了料重比,提高了肠道中淀粉酶活性以及黏蛋白基因表达,对肠道屏障有改善作用,最终其生产性能的提升从一定程度上降低了甲烷排放强度(单位畜产品的甲烷排放量)。综上,牛至精油是一种效果良好的减排添加剂。

牛至精油是一种含多种活性成分的物质,探究其中发挥缓解甲烷排放作用的主要物质其在生产上的应用具有更高价值。体外发酵试验结果显示,将麝香草酚以240 mg/L的剂量添加到饲料中可降低荷斯坦奶牛甲烷排放量25%^[23];湖羊饲料中添加200 mg/L香芹酚可使其甲烷最大减少量达到31.5%^[24]。牛至精油中的其他物质是否对反刍动物瘤胃甲烷生成具有更强的抑制作用,以及它们之间是否存在协同或颞颥作用尚不清楚,还需要进行更深入的研究。

3 牛至精油缓解瘤胃甲烷排放的作用机制

3.1 瘤胃甲烷生成途径

瘤胃中甲烷的合成与产甲烷菌直接相关。根据消耗瘤胃代谢产物的不同,将瘤胃中甲烷生成分为三条关键途径。其中第一条途径是二氧化碳还原途径,氢气和二氧化碳作为代谢底物,二氧化碳被[H⁺]在瘤胃产甲烷菌产生的一系列酶和辅酶的催化作用下还原生成甲烷,这一途径是甲烷生成的最主要途径^[25];第二条途径是乙酸发酵途径,乙酸、丙酸等VFA在产甲烷菌作用下生成甲烷^[26];第三条途径是甲基还原途径,甲醇、乙醇等甲基化合物提供甲基基团,在产甲烷菌的作用下结合氢气产生甲烷^[27]。以上瘤胃甲烷的生成途径示意图见图2。

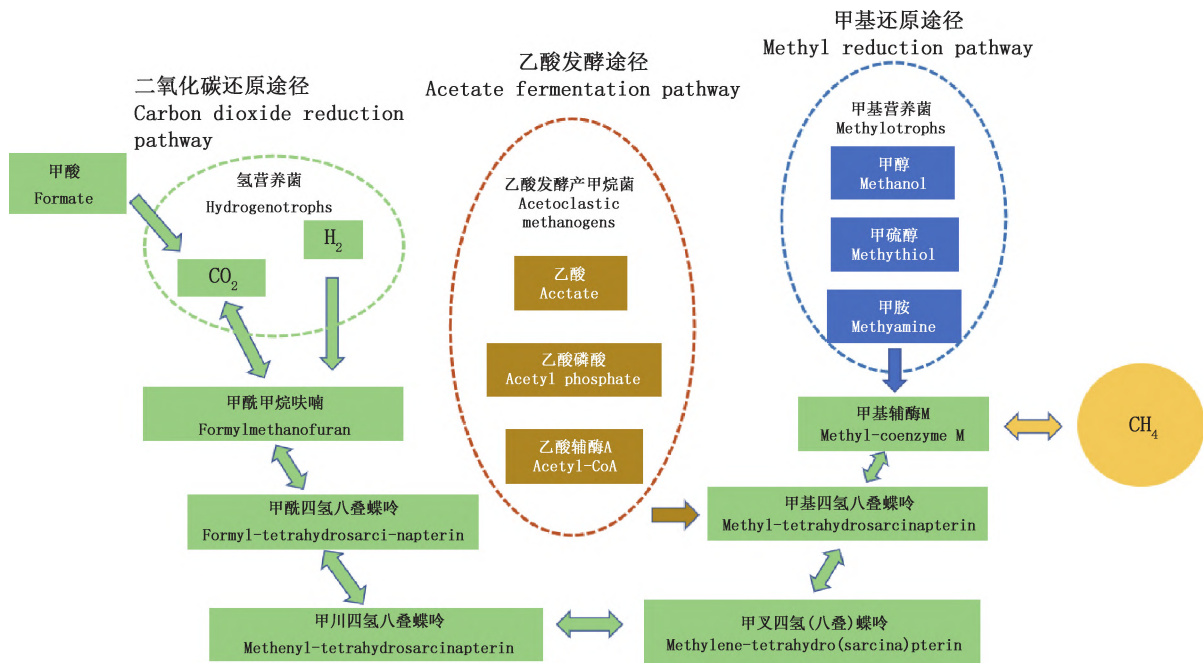


图2 瘤胃甲烷生成的主要途径^[28-29]

Fig. 2 The main pathways of rumen methanogenesis^[28-29]

瘤胃中合成甲烷所需的氢气和 VFA 等来源于瘤胃微生物的发酵过程。在瘤胃中微生物以复杂而协调的方式进行代谢级联反应,不同的瘤胃微生物之间存在着连续的交叉食物网,这些级联反应可以为宿主动物提供基本代谢物^[29]。反刍动物摄入的饲料几乎都是植物性物质,含有的纤维素、半纤维素、果胶和淀粉等多糖主要通过细菌进行降解^[30]。降解得到的糖单体部分可直接发酵成 VFA,其余部分由拟杆菌属(*Selenomonas*)、韦荣球菌属(*Veillonella*)、粪球菌属(*Coprococcus*)和巨球菌属(*Megasphaera*)等关键微生物转化为中间分子(如琥珀酸盐、乳酸盐和富马酸盐)通过其他途径发酵^[31]。大分子水解和微生物发酵产生的大量氢气会抑制微生物的代谢,阻断级联反应。氢气的利用主要由产甲烷菌和产醋酸菌完成,这些微生物利用氢气在动物体内产生大量甲烷等气体^[32],甲烷作为瘤胃微生物发酵的副产物释放到大气中造成了反刍动物摄入能量的大量浪费^[33]。

3.2 牛至精油调控瘤胃微生物

由于牛至精油具有广谱抗菌性,将牛至精油添加到反刍动物饲料中会对动物胃肠道菌群结构产生一定影响,但牛至精油对产甲烷菌以及甲烷合成途径的影响有待进一步探索。反刍动物瘤胃微生物区系主要由细菌、真菌、古菌和原虫组成,细菌中主要优势菌为厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidetes),分别约占细菌总量的 40%,且在饲料纤维素、半纤维素、淀粉、蛋白质和脂类物质的降解及其次级代谢产物的生成中发挥重要作用^[34]。在属水平,普雷沃氏菌属(*Prevotella*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)、疣微菌属(*Verrucomicrobium*)为优势菌属。现有文献表明,牛至精油可能会影响瘤胃中部分细菌的丰度,从而有可能影响瘤胃 VFA 的产量和组成。将牛至精油添加到平凉红牛饲料中,增加了狄氏副拟杆菌(*Parabacteroides distasonis*)和多形拟杆菌(*Bacteroides thetaiotaomicron*)丰度,且随着牛至精油的添加,淀粉分解菌的丰度降低,改变了瘤胃的淀粉消化能力,同时,与对照组相比瘤胃内丙酸浓度显著增加,乙酸浓度显著降低,乙丙比降低,改变了瘤胃内 VFA 组成^[35]。在体外发酵试验中,随着牛至精油的添加普雷沃氏菌属和拟杆菌属相对丰度有所增加^[36]。在羊的饲料中添加 110 mg/d 以麝香草酚为主要成分的植物精油,使瘤胃中淀粉分解菌的丰度有所降低^[37]。

瘤胃中的产甲烷菌约有 37%附着在瘤胃原虫

或原虫胞质的氢化酶体上,且有可能是瘤胃中最活跃的产甲烷菌群落,因此对原虫丰度的调控也会导致甲烷产量大大减少^[30]。添加牛至精油会抑制瘤胃中古菌和原虫的丰度,Patra 等^[38]发现牛至精油对瘤胃中古菌的抑制作用较强,1 g/L 的牛至精油在泌乳牛体外发酵试验中可使古菌丰度大幅降低。在绵羊饲料中添加 4 和 7 g/d 的牛至精油,瘤胃中原虫丰度随牛至精油浓度的增加而降低^[39]。

牛至精油主要通过破坏细胞壁和细胞膜、抑制生物膜的合成、调控群体感应通路等来抑制微生物。在荧光假单胞菌试验中,用牛至精油处理一段时间后发现,培养液电导率上升,细菌失去了原有的细胞形态,细胞膜的荧光强度升高,表明牛至精油破坏了荧光假单胞菌细胞膜,导致细胞内容物渗出,降低了荧光假单胞菌调节细胞膜流动性的能力^[40]。通过牛至精油对白色念珠菌作用的试验发现,牛至精油抑制了白色念珠菌的黏附和生物膜的形成,显著减少了成熟生物膜的形成(抑制率 50%),并且对不同浓度白色念珠菌和金黄色葡萄球菌的混合菌液中的双生物膜也有效^[41]。王雅莹^[42]分析发现,香芹酚能通过降低活化能及结合活性氨基酸,与群体感应信号分子竞争性作用于革兰阴性菌群群体感应调控蛋白,影响群体感应通路的调控,另外,香芹酚还可显著下调编码群体感应受体蛋白的基因,以及与运动和致病有关的基因,如菌体鞭毛合成、蛋白酶、氨基酸脱羧酶和趋向性蛋白等。

牛至精油对瘤胃甲烷生成的影响并不局限于某一种菌,而是对整个瘤胃菌群的丰度具有广泛的作用,通过多种途径,对瘤胃发酵、甲烷合成底物的形成及产甲烷菌生成甲烷全过程发挥调节作用,正是这种全面作用才使得牛至精油在减少瘤胃甲烷生成上发挥较好的作用。

3.3 牛至精油调控瘤胃代谢

氢气和二氧化碳是成年瘤胃生态系统中甲烷产生和瘤胃群落动态的关键分子,主要在瘤胃微生物发酵植物纤维生成 VFA 的过程中积累,大部分会被氢营养菌通过二氧化碳还原途径利用生成甲烷,牛至精油可以调节瘤胃中饲料纤维的降解,从而通过二氧化碳还原途径抑制瘤胃甲烷生成。在山羊瘤胃体外发酵试验中添加不同浓度的麝香草酚发现,200 mg/L 麝香草酚显著降低了饲料中纤维的消化率,与木聚糖发酵有关的产黑色素普氏菌(*P. melaninogenica*)以及参与半纤维素和果胶的降解以及蛋白质和多肽的代谢的栖瘤胃普氏菌

(*P. ruminicola*) 丰度均有所降低, 纤维降解率的降低会导致瘤胃氢分压降低继而减弱二氧化碳还原途径, 减少甲烷生成^[43], 而在此试验中也观察到处理组相对对照组甲烷产量降低 18.16%, 表明麝香草酚可通过调控瘤胃营养物质的消化从而降低甲烷产量^[44]。瘤胃中 VFA 主要来源于饲料中碳水化合物的发酵, 是供应反刍动物能量代谢的主要形式, 可为反刍动物提供所需能量的 60%~80%。在羊的体外瘤胃发酵试验中, 探究牛至精油对瘤胃体外发酵参数、总产气量、甲烷产量和细菌群落的影响, 发现发酵液中总 VFA、乙酸盐、丙酸盐、丁酸盐、戊酸盐和异戊酸盐浓度均随牛至精油浓度增加呈线性降低, 用于乙酸发酵途径的 VFA 浓度不足, 甲烷产量也随之降低^[36]。体外瘤胃发酵试验中通过添加 50 mg/L 的香芹酚, 可分别降低羊瘤胃液 VFA 和甲烷产量 2.4% 和 7.1%, 而添加剂量增加到 200 mg/L 时可使 VFA 浓度降低 35.9%、甲烷产量降低 55.9%^[45]。瘤胃中 VFA 浓度的改变通常是由于多条瘤胃代谢途径的变化引起的, 因此虽然乙酸发酵途径产生的甲烷相对于二氧化碳还原途径较少, 但 VFA 浓度的变化可能会引起甲烷产量的较大变动。综上所述, 牛至精油可通过调节瘤胃代谢影响瘤胃甲烷生成的二氧化碳还原途径以及乙酸发酵途径, 从而调节瘤胃中甲烷的生成。

4 影响牛至精油调控瘤胃甲烷排放的因素

虽然一些研究表明, 牛至精油具有改善瘤胃发酵、降低甲烷产量和提高生产性能的功效, 但目前的研究结果尚不足以支撑其在实际生产中发挥最大作用。牛至精油对瘤胃微生物的作用条件以及最适添加量有待继续探究。对于不同研究之间存在矛盾或无法复现的结果则需要进一步发掘影响牛至精油作用效果的因素。

4.1 主效因子含量及添加量

不同地区生长的牛至受环境气候影响, 其主效因子的含量大不相同, 甚至同一植物的不同部位之间都存在很大差异, 因此会对瘤胃微生态产生不同的影响^[46]。牛至精油中麝香草酚和香芹酚的比例对其作用效果存在很大影响。探究麝香草酚和香芹酚单独或联合使用(100:0、80:20、60:40、20:80、0:100 五种组合)对牛体外发酵各项参数影响的试验显示, 在干物质消化率不变的条件下, 随着麝香草酚含量的增加, 总产气量不断下降, 甲烷产量也更低^[47]。牛至精油的添加量也会对瘤胃发酵产生

重要影响, 由于牛至精油的广谱抗菌性, 过高的添加量会抑制瘤胃发酵, 当麝香草酚剂量达到 400 mg/L 时, 总 VFA、丙酸产量以及干物质和有机物的消化率均显著降低^[44]。过低的添加剂量可能无法对动物产生明显效果, 在荷斯坦泌乳奶牛饲料中分别添加 50 mg/kg DM 牛至精油和香芹酚, 饲喂 28 d 后, 营养物质表观消化率、瘤胃发酵、产奶性能等均未发生变化^[48]。因此在探究牛至精油作用效果时, 首先应明确其主效因子的含量及添加量, 才能明确其效果由何引起, 对生产实践提供更有价值的参考。

4.2 瘤胃微生物适应性

反刍动物在出生后 20 min 左右其瘤胃中就已存在产甲烷菌, 但在幼龄和成年反刍动物之间存在很大差异^[49]。在目水平上, 成年反刍动物瘤胃内容物样本中产甲烷菌只能检测到 2 个目, 而在幼畜瘤胃内容物中可以检测到 4 个目, 其中甲烷八叠球菌目 (Methanosarcinales) 和甲烷微生物目 (Methanomicrobiales) 只在幼畜中被检测到^[50]。在三条产甲烷途径中, 成熟瘤胃的微生物群落主要通过以氢气为主要底物的二氧化碳还原途径合成甲烷, 而瘤胃早期发育阶段的产甲烷菌更多地依赖于乙酸、甲醇等为主要底物的其他两条途径^[51]。因此牛至精油对不同阶段的反刍动物可能产生不同的作用效果。此外, 目前的试验多集中在体外试验上, 由于体外试验会使牛至精油分布更加均匀且内容物不具有流动性, 也会导致在体外^[20]和体内^[48]的效果产生巨大差异, 而瘤胃内微生物对牛至精油的耐受性以及抗性可能涉及多种机制, 还需更加深入地研究其在动物生产中的实际效果。

5 小结

瘤胃甲烷生成受多种微生物以及代谢产物影响。牛至精油通过调节细菌丰度, 可对饲料营养成分的降解产生一定影响, 其对原虫和古菌丰度的影响使得产甲烷菌受到调控, 此外, 牛至精油可直接影响瘤胃内二氧化碳和 VFA 的浓度, 通过二氧化碳还原途径和乙酸发酵途径对瘤胃甲烷生成产生较好的抑制作用。在提倡天然植物成分替代抗生素以及甲烷减排的政策背景下, 牛至精油在未来畜牧生产中具有极大潜力。但有关其主要功能组分的作用机制研究还不够深入, 未来需要进一步挖掘。牛至精油在瘤胃内的代谢规律和畜牧生产中的适宜添加量均需进一步探明。中国人均肉制品和奶制品消费量均低于全球平均水平^[52], 通过提高动物生产性能以

降低单位畜产品的甲烷排放量或许可成为牛至精油的开发方向之一。

参考文献 (References):

- [1] LIU Y, XIAO Y, MA T, et al. *Candida tropicalis* as a novel dietary additive to reduce methane emissions and nitrogen excretion in sheep[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2023, 30(34):82661-82671.
- [2] LI Q S, WANG R, MA Z Y, et al. Dietary selection of metabolically distinct microorganisms drives hydrogen metabolism in ruminants[J]. *The ISME Journal*, 2022, 16(11):2535-2546.
- [3] BAČENINAIT D, DŽERMEIKAITĖ K, ANTANAITIS R. Global warming and dairy cattle: How to control and reduce methane emission[J]. *Animals*, 2022, 12(19):2687-2709.
- [4] MORSHEDLOO M R, SALAMI S A, NAZERI V, et al. Essential oil profile of oregano (*Origanum vulgare* L.) populations grown under similar soil and climate conditions[J]. *Industrial Crops and Products*, 2018, 119:183-190.
- [5] CUI H, ZHANG C, LI C, et al. Antibacterial mechanism of oregano essential oil[J]. *Industrial Crops and Products*, 2019, 139:111498.
- [6] LOIZZO M R, MENICHINI F, CONFORTI F, et al. Chemical analysis, antioxidant, antiinflammatory and anticholinesterase activities of *Origanum ehrenbergii* Boiss and *Origanum syriacum* L. essential oils[J]. *Food Chemistry*, 2009, 117(1):174-180.
- [7] REYES-BECERRIL M, GIJÓN D, ANGULO M, et al. Composition, antioxidant capacity, intestinal, and immunobiological effects of oregano (*Lippia palmeri* Watts) in goats: Preliminary *in vitro* and *in vivo* studies[J]. *Tropical Animal Health and Production*, 2021, 53(1):101-113.
- [8] EL KHARRAF S, EL-GUENDOZ S, FARAH A, et al. Hydrodistillation and simultaneous hydrodistillation-steam distillation of *Rosmarinus officinalis* and *Origanum compactum*: Antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial effect of the essential oils[J]. *Industrial Crops and Products*, 2021, 168(15):113591.
- [9] WANG D, LI C, PAN C, et al. Antimicrobial activity and mechanism of action of oregano essential oil against *Morganella psychrotolerans* and potential application in tuna[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2022, 165:113758.
- [10] 朱晓富, 卢圣鄂, 卓 维, 等. 不同产地牛至化学成分比较研究[J]. *中国野生植物资源*, 2022, 41(7):26-31.
- ZHU X F, LU S E, ZHUO W, et al. A comparative study of the chemical composition of oregano from different origins[J]. *Wild Plant Resources of China*, 2022, 41(7):26-31. (in Chinese)
- [11] HAN F, MA G Q, YANG M, et al. Study on chemical composition and antioxidant activity of essential oils obtained from different parts of Oregano[J]. *Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine & Biotechnology)*, 2017, 18(1):79-84.
- [12] SHARIF K H, KIVRAK H, OZOK-ARICI O, et al. Catalytic electro-oxidation of hydrazine by thymol based-modified glassy carbon electrode[J]. *Fuel*, 2022, 330:125597.
- [13] GALVÃO J G, SANTOS R L, SILVA A R S T, et al. Carvacrol loaded nanostructured lipid carriers as a promising parenteral formulation for leishmaniasis treatment[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2020, 150:105335.
- [14] SPYRIDOPOULOU K, FITSIOU E, BOULOUKOSTA E, et al. Extraction, chemical composition, and anticancer potential of *Origanum onites* L. essential oil[J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2019, 24(14):2612-2627.
- [15] KUBILIENE A, MUNIUS E, SONGAILAITE G, et al. A comparative evaluation of antioxidant activity of extract and essential oil of *Origanum onites* L. *in vivo* [J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2023, 28(14):5302-5318.
- [16] ZHAN X, TAN Y, LV Y, et al. The antimicrobial and antibiofilm activity of oregano essential oil against *Enterococcus faecalis* and its application in chicken breast[J]. *Foods (Basel, Switzerland)*, 2022, 11(15):2296-2315.
- [17] DE OLIVEIRA A S, DE SOUZA L F S, NUNES R J, et al. Antioxidant and antibacterial activity of sulfonamides derived from carvacrol: A structure-activity relationship study[J]. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2020, 20(3):173-181.
- [18] KHAN I, BAHUGUNA A, KUMAR P, et al. Antimicrobial potential of carvacrol against uropathogenic *Escherichia coli* via membrane disruption, depolarization, and reactive oxygen species generation[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8:2421-2430.
- [19] KACHUR K, SUNTRES Z. The antibacterial

- properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2020, 60(18):3042-3053.
- [20] 刘立山,周瑞,王彩莲,等.牛至精油对绵羊瘤胃体外发酵特性及CH₄产量的影响[J]. *中国草食动物科学*, 2022, 42(3):38-41.
LIU L S, ZHOU R, WANG C L, et al. Effects of oregano essential oil on rumen fermentation and CH₄ production of sheep *in vitro* [J]. *China Herbivore Science*, 2022, 42(3):38-41. (in Chinese)
- [21] 周瑞,刘立山,吴建平,等.牛至精油对绵羊瘤胃体外养分降解率、发酵特性及CH₄产量的影响[J]. *草业学报*, 2019, 28(11):168-176.
ZHOU R, LIU L S, WU J P, et al. Effects of oregano essential oil on nutrient degradation rate, fermentation characteristics and CH₄ production in sheep rumen *in vitro* [J]. *Journal of Pratacultural Science*, 2019, 28(11):168-176. (in Chinese)
- [22] JIA L, WU J, LEI Y, et al. Oregano essential oils mediated intestinal microbiota and metabolites and improved growth performance and intestinal barrier function in sheep[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13:908015.
- [23] JOCH M, MRÁZEK J, SKŘIVANOVÁ E, et al. Effects of pure plant secondary metabolites on methane production, rumen fermentation and rumen bacteria populations *in vitro* [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2018, 102(4):869-881.
- [24] LIN B, WANG J H, LU Y, et al. *In vitro* rumen fermentation and methane production are influenced by active components of essential oils combined with fumarate[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2013, 97(1):1-9.
- [25] HAQUE M N. Dietary manipulation: A sustainable way to mitigate methane emissions from ruminants[J]. *Journal of Animal Science and Technology*, 2018, 60:15-25.
- [26] UNGERFELD E M. Shifts in metabolic hydrogen sinks in the methanogenesis-inhibited ruminal fermentation: A meta-analysis [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6:538-555.
- [27] SUN K, LIU H, FAN H, et al. Research progress on the application of feed additives in ruminal methane emission reduction: A review[J]. *PeerJ*, 2021, 9:e11151.
- [28] HONAN M, FENG X, TRICARICO J M, et al. Feed additives as a strategic approach to reduce enteric methane production in cattle: Modes of action, effectiveness and safety[J]. *Animal Production Science*, 2021, 62(10):1071-1087.
- [29] MORAÏS S, MIZRAHI I. The road not taken: The rumen microbiome, functional groups, and community states[J]. *Trends in Microbiology*, 2019, 27(6):538-549.
- [30] MATTHEWS C, CRISPIE F, LEWIS E, et al. The rumen microbiome: A crucial consideration when optimising milk and meat production and nitrogen utilisation efficiency[J]. *Gut Microbes*, 2019, 10(2):115-132.
- [31] SESHADRI R, LEAHY S C, ATTWOOD G T, et al. Cultivation and sequencing of rumen microbiome members from the Hungate1000 Collection[J]. *Nature Biotechnology*, 2018, 36(4):359-367.
- [32] MÜLLER V. Energy conservation in acetogenic bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(11):6345-6353.
- [33] ALVAREZ-HESS P S, MOATE P J, WILLIAMS S R O, et al. Effect of combining wheat grain with nitrate, fat or 3-nitrooxypropanol on *in vitro* methane production[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2019, 256:114237.
- [34] LI Q S, WANG R, MA Z Y, et al. Dietary selection of metabolically distinct microorganisms drives hydrogen metabolism in ruminants[J]. *The ISME Journal*, 2022, 16(11):2535-2546.
- [35] ZHANG R, WU J, LEI Y, et al. Oregano essential oils promote rumen digestive ability by modulating epithelial development and microbiota composition in beef cattle[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2021, 8:722557.
- [36] ZHOU R, WU J, LANG X, et al. Effects of oregano essential oil on *in vitro* ruminal fermentation, methane production, and ruminal microbial community[J]. *Journal of Dairy Science*, 2020, 103(3):2303-2314.
- [37] CASTILLEJOS L, CALSAMIGLIA S, FERRET A, et al. Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2005, 119(1):29-41.
- [38] PATRA A K, YU Z. Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of, rumen microbial populations[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(12):4271-4280.

- [39] ZHOU R, WU J, ZHANG L, et al. Effects of oregano essential oil on the ruminal pH and microbial population of sheep[J]. *PLoS One*, 2019, 14 (5): e217054.
- [40] 杨胜平, 章 缜, 程 颖, 等. 牛至精油对荧光假单胞菌的抑制作用及其对冷藏三文鱼品质的影响[J]. *食品科学*, 2020, 41(1): 215-222.
YANG S P, ZHANG Z, CHENG Y, et al. Inhibitory effect of oregano essential oil against spoilage microorganism *Pseudomonas fluorescens* and its influence on quality changes during chilled storage of salmon[J]. *Food Science*, 2020, 41 (1): 215-222. (in Chinese)
- [41] HACIOGLU M, OYARDI O, KIRINTI A. Oregano essential oil inhibits *Candida* spp. biofilms[J]. *Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences*, 2021, 76(11): 443-450.
- [42] 王雅莹. 基于群体感应研究香芹酚对鱼源荧光假单胞菌单/混生物被膜的抑制作用[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2020.
WANG Y Y. Study on the inhibitory effect of carvacrol on single/mixed biofilm of *Pseudomonas fluorescens* derived from fish based on quorum sensing[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2020. (in Chinese)
- [43] MIZRAHI I, WALLACE R J, MORAÏS S. The rumen microbiome: Balancing food security and environmental impacts[J]. *Nature Reviews. Microbiology*, 2021, 19(9): 553-566.
- [44] YU J, CAI L, ZHANG J, et al. Effects of thymol supplementation on goat rumen fermentation and rumen microbiota *in vitro*[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(8): 1160-1179.
- [45] 林 波. 挥发油及其活性成分组合与富马酸钠共同添加对体外瘤胃发酵和湖羊养分消化的影响[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
LIN B. Effect of volatile oil and its active components combined with sodium fumarate on *in vitro* rumen fermentation and nutrient digestion of Hu sheep[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011. (in Chinese)
- [46] 唐 玲, 徐奇友. 牛至对动物生产性能的影响及作用机制的研究[J]. *饲料研究*, 2010, 9: 14-17.
TANG L, XU Q Y. Effect of oregano on animal performance and its mechanism[J]. *Feed Research*, 2010, 9: 14-17. (in Chinese)
- [47] CASTAÑEDA-CORREA A, CORRAL-LUNA A, HUME M E, et al. Effects of thymol and carvacrol, alone or in combination, on fermentation and microbial diversity during *in vitro* culture of bovine rumen microbes[J]. *Journal of Environmental Science and Health. Part. B, Pesticides, Food Contaminants, and Sgricultural Wastes*, 2019, 54(3): 170-175.
- [48] BENCHAAAR C. Feeding oregano oil and its main component carvacrol does not affect ruminal fermentation, nutrient utilization, methane emissions, milk production, or milk fatty acid composition of dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2020, 103(2): 1516-1527.
- [49] HASSAN F, ARSHAD M A, EBEID H M, et al. Phytogetic additives can modulate rumen microbiome to mediate fermentation kinetics and methanogenesis through exploiting diet-microbe interaction[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2020, 7: 575801.
- [50] 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.
- [51] GUZMAN C E, BEREZA-MALCOLM L T, DE GROEF B, et al. Presence of selected methanogens, fibrolytic bacteria, and proteobacteria in the gastrointestinal tract of neonatal dairy calves from birth to 72 hours[J]. *PLoS One*, 2015, 10 (7): e133048.
- [52] 刁其玉, 贾 鹏. 反刍动物甲烷减排措施研究进展[J]. *广东畜牧兽医科技*, 2023, 48(4): 1-6.
DIAO Q Y, JIA P. Progress in methane abatement measures for ruminants[J]. *Guangdong Animal Husbandry and Veterinary Science and Technology*, 2023, 48(4): 1-6. (in Chinese)

(责任编辑 卢庆萍)