

反刍动物体内氨与尿素代谢研究进展

汪水平^{1,2}, 王文娟², 谭支良¹

(1 中国科学院 亚热带农业生态研究所, 湖南 长沙 410125; 2 西南大学 荣昌校区, 重庆 402460)

[摘 要] 综述了反刍动物体内氨与尿素代谢的研究进展, 阐述了氨在胃肠道的来源和去路, 讨论了尿素循环的过程及其影响因素, 介绍了研究氨的产生、吸收与尿素循环的方法, 探讨了调控尿素循环的途径。综合分析认为, 尿素循环利用是反刍动物机体内源氮重吸收中最重要的组成部分, 通过减少氨吸收和氨基酸分解代谢来减少日粮氮转化成尿素, 或者提高肝脏中合成的尿素及再循环至胃肠道的尿素转化成微生物蛋白质的效率, 可提高日粮氮素的利用效率。因此, 开展尿素循环规律的研究, 以建立实用日粮条件下含氮化合物的整体代谢模型, 对调控反刍动物体内氮素营养至关重要。

[关键词] 氨; 尿素循环; 反刍动物

[中图分类号] S823.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2009)02-0064-09

Research advance on ammonia and urea metabolism for ruminants

WANG Shui-ping^{1,2}, WANG Wen-juan², TAN Zhi-liang¹

(1 Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Science, Changsha, Hunan 410125, China;

2 Rongchang Campus of Southwest University, Chongqing 402460, China)

Abstract: The paper reviewed the research advance on ammonia and urea metabolism in the organism of ruminants, described the routes of origin and loss in the gastrointestinal tract, discussed the processes and influencing factors of urea recycling, introduced the research technique on ammonia production, ammonia absorption and urea recycling and analyzed the approaches that manipulate urea recycling. The recycling and utilization of urea is the most important part for the reabsorption of endogenous nitrogen for ruminants. The production of urea from the dietary nitrogen was decreased by decreasing the absorption of ammonia and the catabolic metabolism of amino acids or increasing the efficiency of microbial protein synthesis from urea which was synthesized in the liver and recycled to the gastrointestinal tract can improve the utilization efficiency of dietary nitrogen. So the key of manipulating nitrogen nutrition for ruminants is that further researches on the urea recycling regularity are needed in order to establish the integrated mechanic model, which is isessential in regulating witrogen nutirition for ruminants.

Key words: Ammonia; urea recycling; ruminant

对于反刍动物, 除氨基酸(Amino acid, AA)、肽和微生物蛋白质(Microbia crude protein, MCP)之外, 氨与尿素在氮素整体营养、消化与代谢过程中亦有十分重要的作用。氨是蛋白质在瘤胃降解的主要

终产物, 而瘤胃微生物能利用氨合成 MCP, 故非蛋白氮(Nonprotein nitrogen, NPN)可作为反刍动物氮源补充料^[1]。反刍动物能以氨盐或尿素作为其日粮中惟一氮源来满足机体对氮素的维持需要, 表明

* [收稿日期] 2008-03-24

[基金项目] 科技部科技支撑计划项目(2006BAD04A15); 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-YW-N-49); 湖南省杰出青年基金项目(05JJ10004); 西南大学科研基金项目(08BSr09, 08BSr11)

[作者简介] 汪水平(1979—), 男, 湖北浠水人, 副教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事反刍动物生态营养与环境研究。

[通信作者] 谭支良(1967—), 男, 湖南湘乡人, 研究员, 博士生导师, 主要从事反刍动物生态营养与环境研究。

瘤胃微生物具有利用 NPN 合成所有必需 AA 的能力^[1]。另外,瘤胃微生物可水解尿素,生成可利用氨,故代谢过程中产生的部分尿素从血液中再循环至瘤胃,可缓解瘤胃内氮素的缺乏,这使得反刍动物每天要对机体内的尿素进行大量转移或动员。因此,调控氨和再循环尿素的利用已成为提高日粮氮素利用效率的重要途径,而反刍动物体内氨的产生、吸收与尿素循环,也就成为近年来反刍动物营养研究领域的热点。

1 反刍动物体内氨与尿素代谢概述

较单胃动物而言,反刍动物对日粮蛋白质的利用效率较低,其主要原因是瘤胃微生物将部分日粮

蛋白质转化为氨。日粮蛋白质常可分为瘤胃可降解蛋白质(Rumen degradable protein,RDP)与瘤胃不可降解蛋白质(Rumen undegradable protein,RUP)。RDP 可转化为 MCP,进入小肠后与 RUP 一起为反刍动物生长或泌乳提供所必需的 AA。RDP 主要包括 3 个部分,即肽、AA 和氨,而肽和 AA 可脱氨基转化为氨,故瘤胃中氨浓度常超过微生物生长的需要量。因此,瘤胃内过量的氮素常以氨的形式被吸收,进入血液,再经肝脏代谢成尿素。在肝脏中合成的尿素,部分被扩散进入瘤胃和肠道,部分经唾液分泌进入瘤胃,被瘤胃或肠道微生物再利用;另一部分则经肾脏随尿排出。图 1 展示了反刍动物体内氨的产生、吸收与尿素循环过程。

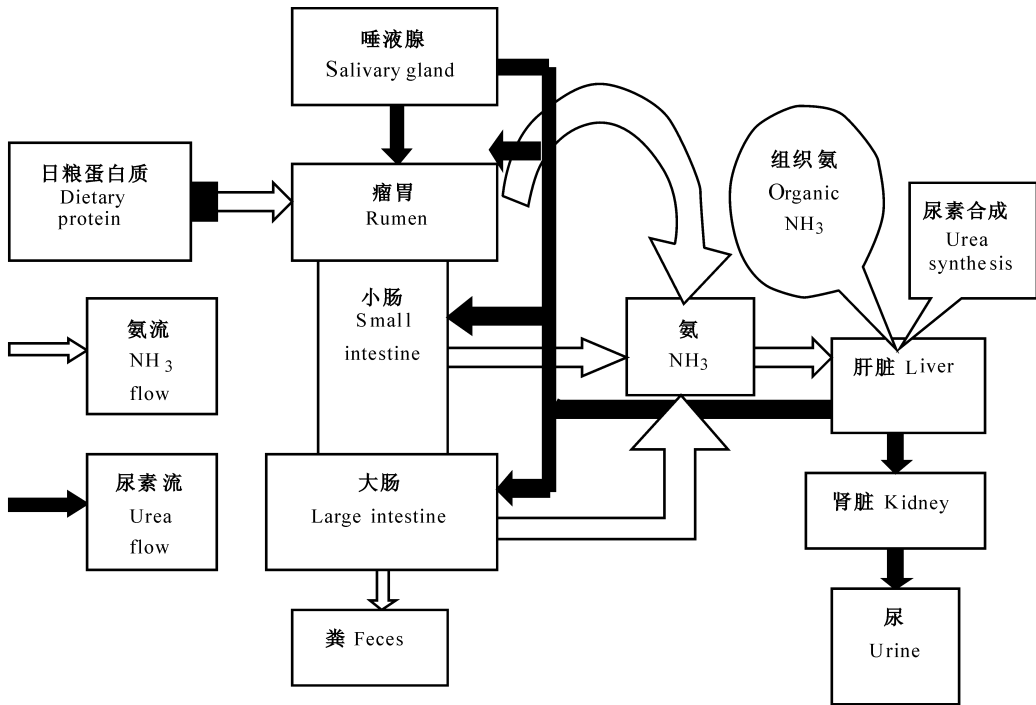


图 1 反刍动物体内氨的产生、吸收与尿素循环过程模式图

Fig. 1 Schematic diagram of Ammonia production,absorption and urea recycling for ruminants

2 反刍动物体内氨的来源与去路

当日粮蛋白质供应充足时,反刍动物瘤胃内的氨主要来源于日粮蛋白质的可降解部分,日粮蛋白质的过瘤胃部分和不可消化部分对瘤胃产氨的影响极小^[2]。日粮中的 NPN(主要包括肽、游离 AA、氨及氯化物、核酸和胺)在瘤胃内能被完全降解成氨,且降解速度很快($>3/h$)^[1]。瘤胃内的肽、AA 和氨等在为微生物合成蛋白质提供氮源的同时,也在肽酶和脱氨酶的作用下产氨。内源性的非尿素氮(如脱落的黏膜细

胞、唾液蛋白)和进入瘤胃的内源尿素极易产氨,其量可达 4.4 g/d,故内源因子产氨成为瘤胃产氨的重要途径之一^[3]。另外,原虫是氨的净生产者,而空气中的 N₂ 随饲料进入瘤胃后可被特殊的瘤胃微生物固定并生成氨,但这两种途径生成的氨量很少,故在研究中常被忽略^[1]。瘤胃内氨的去路主要为合成 MCP、被瘤胃壁吸收及随瘤胃食糜外流。Russell 和 Rychlik^[4] 研究认为,90% 的瘤胃细菌可利用氨作为其生长的主要氮源。瘤胃内氨的吸收与其浓度密切相关。氨以去离子化状态沿浓度梯度被动扩散至血

液中,而氨离子不能被瘤胃壁吸收^[2]。其原因可能是游离氨不带电且脂溶性好,易通过生物膜,而氨离子带电且难溶于脂,不易扩散入细胞膜^[5]。瘤胃内氨外流入十二指肠的量取决于瘤胃液中氨的浓度及瘤胃液的外流速率。已知奶牛和绵羊十二指肠的氨流量可分别达到总进食氮的 2%和 9%^[6]。

反刍动物大肠(结肠和盲肠)内同样存在微生物的消化代谢,其发酵终产物与瘤胃相似,也包括挥发性脂肪酸(Volatile fatty acids, VFA)、氨和 MCP 等^[7]。大肠内氨主要来源于瘤胃氨的流入、AA 的脱氨和内源尿素的水解等,其中以内源尿素水解产氨为主。大肠内氨的去路主要是合成 MCP、被大肠壁吸收进入血液和经粪排出。Younes 等^[8]研究发现,给老鼠饲喂可发酵碳水化合物(Carbohydrate, CHO)含量高的日粮时,盲肠对氨的吸收显著增加,其原因可能是进入盲肠的内源尿素增加且被盲肠微生物分解,也可能是盲肠中 VFA 浓度的增加影响了盲肠壁吸收氨的速率。盲肠微生物生长所需的氮源主要来源于日粮中未被消化的氮、瘤胃微生物氮、未被消化的内源氮、血浆尿素氮及盲肠微生物不断自溶产生的氮等。盲肠内氨的流量约为 4.8 g/d,其中大部分(约 3.0 g/d)并未合成尿素,也未全部经粪排出,说明部分被吸收的氨在大肠内用于合成代谢^[9]。Fondren 等^[10]认为,肽、AA 和氨是瘤胃细菌维持和生长所需的氮源,其中氨氮为瘤胃细菌优先利用,有 18%~100%的微生物氮来源于氨。细菌氮中氨氮比例与其占可利用氮的比例呈正相关。王文娟等^[1]报道,当氨为惟一氮源时,氨给瘤胃微生物提供 100%的氮,而当肽和 AA 浓度高时,氨给瘤胃微生物仅提供 26%的氮。

3 反刍动物体内的尿素循环

3.1 尿素循环的过程

反刍动物胃肠道内氨的产生、吸收与尿素循环密切相关。经瘤胃上皮和肠道黏膜吸收的氨汇入门静脉,再进入肝脏,同时体组织产生的氨也进入肝脏。肝脏在反刍动物的氮代谢过程中作用非常关键。氨在肝脏中脱毒后转化成尿素,尿素又可再循环进入胃肠道被利用。因此,尿素循环的过程主要包括:氨在门静脉回流内脏组织(Portal-drained viscera, PDV)中的吸收、尿素的合成、尿素的转移及尿素在胃肠道的水解等 4 部分。

3.1.1 氨在 PDV 中的吸收 近年来,许多新技术用于研究消化道不同部位对氨在 PDV 中吸收的贡

献,其关键是测定氨在门静脉的吸收率,以评估氨进入血液的流量^[11]。Siddons 等^[12]提出了消化道不同部位氨氮转移的动态模型,并发现绵羊在采食青贮料时,小肠吸收的氨为总吸收量的 25%,而采食青干草时为 37%。应用门静脉插管技术,可测定胃肠道不同部位氨吸收量占总吸收量的比例。Seal 和 Reynolds^[13]研究了门静脉氨流量与日粮氮进食量的关系,发现门静脉氨流量占日粮氮进食量的 65%,超过了门静脉 α -氨基氮的净吸收量。Parker 等^[2]认为,门静脉氨流量的 25%~41%来源于小肠黏膜对氨的吸收。Gross 等^[14]给绵羊真胃灌注蛋白质,其门静脉氨流量为 20 $\mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{kg}$ 体重^{0.75}),而饲喂苜蓿日粮时为 30 $\mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{kg}$ 体重^{0.75})。另外,在应用血管插管技术测定胃肠道不同部位氨流量的同时,结合肝脏中尿素的合成速率,可估测组织中氨的产量^[15]。

3.1.2 尿素的合成 氨在肝脏外的组织中具有剧毒。体内氨的循环浓度超过 0.7 mmol/L,就可引起大脑代谢紊乱,甚至导致痉挛、死亡^[11]。在肝脏中,以精氨酸等为载体,氨和 CO_2 借助 ATP,通过 4 个反应可转化为尿素,而合成的尿素中有 50%的氮由氨提供,其余的氮源由天冬氨酸提供^[15]。哺乳动物肝脏的重要功能之一是,解除胃肠道和上皮细胞经发酵和代谢产生氨的毒性^[16]。在正常生理和营养条件下,门静脉吸收的氨在肝脏中能有效地转化为尿素和谷氨酰胺等而解毒。日粮不同,门静脉氨浓度的变化幅度很大。门静脉中 70%~95%的氨能被肝脏转化,而肝脏转移的氨较门静脉吸收的氨高 4%,如此使动脉中血氨浓度保持不变^[2]。

3.1.3 尿素的转移 反刍动物对日粮诱发的氨中毒非常敏感,尤其是当日粮中 NPN 在瘤胃快速降解成氨并被吸收入门静脉时^[17]。Haussinger 等^[18]指出,老鼠肝脏实质细胞具有碳氮代谢的功能特异性,以确保在外周肝细胞中未被转化成尿素的氨在静脉附近的肝细胞中转化成谷氨酰胺,而谷氨酰胺中的氨基随后在肝脏中代谢转化成尿素,这一连续的反应同时也可防止细胞外 pH 值下降。反刍动物谷氨酰胺净吸收量与谷氨酸的产量符合肝细胞间循环假说^[19]。Maltby 等^[20]认为,反刍动物日粮中添加尿素时,肝脏中氨的吸收增加,谷氨酰胺的吸收不变或略有增加,而谷氨酸在肝脏中的净产量减少。然而在正常饲养条件下,氨转化成谷氨酰胺或谷氨酸不是主要的氨脱毒途径。Lobley 等^[21]利用血管插管技术研究发现,绵羊门静脉氨浓度上升至 0.5

mmol/L 时,门静脉 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ 中有 93.5% 的氮转化为 ^{15}N -尿素,6% 的氮转化为谷氨酰胺。肝脏转移氨的阈值上限为 $1.2\sim 1.5\ \mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{g})^{[2]}$ 。氨氮在肝脏中转化成尿素氮的潜在变化范围为 27%~110%,产生这种差异的机制目前还不清楚。Nolan 和 Leng^[9]报道,绵羊肝脏中尿素合成速率为 18.4 g/d,其中 2 g/d 来自瘤胃上皮吸收的氨,16.4 g/d 来自 AA 脱氨和肠道黏膜吸收的氨,而血液中的尿素主要通过唾液分泌途径进入瘤胃。

3.1.4 尿素在胃肠道的水解 反刍动物以氨的形式吸收日粮中大量的氮,这些氨氮在肝脏中几乎全部合成尿素。内源合成尿素通过体组织分泌而排泄,或在胃肠道内循环^[22]。相当数量的再循环尿素氮可被胃肠道中的细菌利用以满足其代谢需要,再以 AA、核酸和氨的形式被重吸收,并被机体再次利用^[19,23-24]。Fondren 等^[10]认为,尿素氮以 4 种方式参与机体代谢、形成 AA 并沉积在机体组织中:①肝脏中非必需 AA 的氨基化,如谷氨酸、甘氨酸、丝氨酸;②非必需 AA 借助碳架的转氨基作用,如丙氨酸和天冬氨酸;③必需 AA 借助碳架的转氨基作用;④通过细菌合成必需 AA 与非必需 AA。内源尿素可通过瘤胃壁扩散或唾液分泌进入瘤胃,而肝脏中合成的尿素可扩散进入小肠和大肠。进入瘤胃的尿素氮可通过测定唾液的分泌速率和血浆尿素浓度来定量。Nolan 和 Leng^[9]报道,饲喂苜蓿的绵羊每天约有 5.1 g 尿素氮在胃肠道中被降解,但其中仅有 1.2 g 转化为瘤胃氨,其余的在肠道中被降解。Nolan 等^[25]进一步研究发现,绵羊每天约有 5.3 g 血液尿素氮进入胃肠道,其中 20% 在瘤胃被降解,25% 在盲肠被降解。Makkar^[26]报道,肝脏中合成的尿素有 81% 进入胃肠道,被降解成氨和 CO_2 。内源尿素在瘤胃中降解的量仅占胃肠道总量的 7%~13%,且瘤胃中尿素的转移速率与肝脏中的合成速率无关。给绵羊饲喂低蛋白日粮时,肠道是尿素降解的主要部位,而肠道中尿素的转移速率与肝脏中的合成速率呈线性相关。Koenig 等^[27]和 Newbold 等^[28]给绵羊分别饲喂牧草与精料、颗粒青干草时,其瘤胃氨流量的 20% 来自尿素氮。Kennedy 和 Milligan^[29]报道,通过瘤胃上皮细胞转运的尿素占总转运量的 90%。尿素从血液向胃肠道的转移实质上是其降解成可被微生物利用、重吸收或可被机体再利用氨氮的过程。

3.2 影响尿素循环的因素

3.2.1 瘤胃中的氨浓度和 VFA 尿素转运至瘤胃

的量与瘤胃中氨浓度呈负相关,即氨浓度是尿素转移至瘤胃的重要调节因子。同位素示踪技术的研究结果表明,在牛和绵羊的真胃与瘤胃灌注外源尿素,若提高瘤胃氨的连续灌注浓度,则转移至瘤胃的尿素量显著减少^[29-30]。Remond 等^[31]认为,瘤胃中氨的吸收不仅受瘤胃液中氨浓度的影响,也受 VFA 吸收速率的影响。瘤胃尿素循环存在差异主要是由瘤胃中氨浓度与 CO_2 压力所致,通过瘤胃壁的氨净流量及游离氨与总氨浓度呈线性相关^[12,31]。VFA (乙酸、丙酸、丁酸及其混合物)可促进瘤胃上皮对氨的吸收,丁酸也可提高氨转移至绵羊瘤胃壁静脉的速率^[31]。

3.2.2 瘤胃中有机物的消化 同位素示踪技术的研究结果表明,在反刍动物日粮中补充能量饲料(如谷物、淀粉等),可显著提高胃肠道中内源尿素的降解^[30]。Kennedy^[30]报道,日粮中添加蔗糖可显著增加转运至瘤胃的尿素量,当肉牛饲喂干草和蔗糖时,尿素氮转运至瘤胃的量为 21.8 g/d,而不加蔗糖时为 10.9 g/d。Huntington^[23]指出,瘤胃中日粮能量浓度或发酵力对内源尿素转运速率和部位的影响非常明显。

3.2.3 血浆中的尿素浓度 尿素由血液向胃肠道的转移受血浆中尿素浓度的影响。绵羊血浆尿素浓度阈值上限为 6.0 mmol/L,牛为 4.0 mmol/L,超过这一上限,尿素转运不再与血浆尿素浓度呈线性相关,也不增加瘤胃中氨浓度,说明瘤胃氨浓度对尿素进入瘤胃的过程有抑制调节(反馈调节)作用^[2]。Makkar^[26]和 Kennedy^[30]报道,血浆尿素浓度与回肠和结肠中氨浓度密切相关,且回肠和结肠中尿素的转移与血浆中尿素浓度及其产生速率密切相关。

3.2.4 饲养水平 饲养水平是影响尿素向胃肠道转移的重要因素。Kennedy 和 Milligan^[29]研究表明,血浆尿素浓度几乎不受日粮因素的影响,当尿素氮进食量从 18.5 g/d 降到 11.4 g/d 时,瘤胃上皮对尿素的降解从 13.9 g/d 下降到 6.1 g/d。Chapa 等^[32]报道,血浆尿素氮用于合成细菌蛋白的量与犍牛采食的蛋白水平呈负相关。Sarraseca 等^[24]报道,绵羊尿素氮的产量和进入胃肠道的尿素氮随采食量的增加而增加,但进入鸟氨酸循环的比例不随采食量的变化而变化。Lapierre 等^[33]研究发现,PDV 中氨的释放量随采食量的增加而增加,而尿素的转移量不受采食量的影响。

3.2.5 其他因素 瘤胃液中氨浓度与纤毛虫的数量呈正相关,去原虫反刍动物瘤胃液中氨浓度较低,

且氨的吸收液较低^[1]。不同动物品种对氨的产生、吸收与尿素循环也有影响。Thomas 等^[34]研究发现,当尿素产生速率相等时,与羯羊相比,羔羊血浆尿素氮维持较高水平,而胃肠道尿素降解速率显著较快。 HCO_3^- 有利于瘤胃上皮对氨的吸收。Remond 等^[31]研究发现,充入 CO_2 可使通过瘤胃壁的氨净转移量增加 16%。另外,动物的生理状态、胃肠道渗透压和激素等因素也会影响氨的产生、吸收与尿素循环,如瘤胃渗透压的增加会降低氨的吸收^[29]。

4 反刍动物体内氨的产生、吸收与尿素循环的研究方法

目前,通常用 2 种方法来研究反刍动物与非反

刍动物含氮化合物的循环与周转,即同位素示踪技术与动静脉插管技术^[15]。前者的基本原理是,利用在化学性质上完全一样的标记化合物与相应的非标记化合物,两者一经混合用化学法就不能分离,只是放射比度有所降低,降低程度与相应的非标记化合物的数量(或浓度)成正比,这样根据放射性比度的变化就可测量非标记同种化合物的含量。后者的基本原理是,假定除肺外所有动脉血的养分浓度是相等的,故可给实验动物安装门静脉、肠系膜静脉、动脉插管,并经肠系膜静脉灌注不为动物代谢的物质作为标记物,再测定门静脉和颈动脉血液中该标记物的浓度,以计算血流速度以及营养物质的变化程度。表 1 列出了有关氨的吸收与尿素循环的研究结果。

表 1 氮进食量,门静脉、肝脏的氨氮吸收量以及肝脏尿素氮产量

Table 1 Nitrogen intake (NI), portal and hepatic $\text{NH}_3\text{-N}$ uptake (P- NH_3 , H- NH_3) and hepatic urea-N output (H-Urea)						
动物品种 Species	日粮组成 Diet composition	氮进食量/ ($\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$) NI	氨氮吸收量/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) $\text{NH}_3\text{-N}$ uptake		肝脏尿素氮产量/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) H-Urea	文献来源 References
			P- NH_3	H- NH_3		
肉牛 Cattle	草: 压片玉米 70: 30 Grass: Flaked maize	123	58	55	202	[35]
	苜蓿干草 Alfalfa hay	162	291	290	366	[23]
	精料含量高 High concentrate	95	128	129	159	[36]
	草: 压片玉米 50: 50 Grass: Flaked maize	102	77	101	172	
	草 Grass	172	184	191	403	
	青贮玉米 Maize silage	106	91	88	115	[20]
	青贮草: 草 70: 30 Grass silage: Grass	94	149	150	136	
	青贮大麦: 草 70: 30 Barley silage: Grass	79	71	77	119	
	苜蓿 Lucerne	153	253	259	363	
	苜蓿: 磨碎玉米 25: 75 Lucerne: Ground maize					[19]
	低采食量 Low intake	98	143	148	235	
	高采食量 High intake	174	250	260	491	
	苜蓿: 磨碎玉米 75: 25 Lucerne: Ground maize					
	低采食量 Low intake	133	186	194	354	
	高采食量 High intake	209	340	353	593	
	柳枝稷干草: 精料 73: 27 Switchgrass hay: Concentrate	99	123	125	106	
	柳枝稷干草: 精料 27: 73 Switchgrass hay: Concentrate	100	124	127	135	[37]
	柳枝稷干草: 精料 37: 63 Switchgrass hay: Concentrate	141	131	135	198	[38]
	苜蓿 Alfalfa	197	245	248	346	
	高谷物含量、不同 RDP 日粮 High grain diets with different rumen degradable protein					
	9.5%粗蛋白 CP	122.1	79	—	—	
	11.5%粗蛋白+0.72%尿素 11.5%CP+0.72% Urea	178.7	145	—	—	
	13.5%粗蛋白+1.44%尿素 13.5%CP+1.44%Urea	204.3	163	—	—	[39]
	11.5%粗蛋白+250 g/d 灌注酪蛋白 11.5% Infused casein CP+250 g/d Infused casein	167.7	135	—	—	
	13.5%粗蛋白+1.44%尿素 + 250 g/d 灌注酪蛋白 13.5% CP+1.44% Urea+250 g/d Infused casein	202.5	211	—	—	

续表 1 Continued table 1						
动物品种 Species	日粮组成 Diet composition	氮进食量/ (g · d ⁻¹) NI	氮氮吸收量/(mmol · L ⁻¹ · h ⁻¹) NH ₃ -N uptake		肝脏尿素氮产量/ (mmol · L ⁻¹ · h ⁻¹) H-Urea	文献来源 References
			P-NH ₃	H-NH ₃		
肉牛 Cattle	苜蓿、玉米、豆粕 Alfalfa, corn, soybean meal					
	低采食量 Low intake	58.5	90	95	150	[33]
	中等采食量 Medium intake	95.4	109	122	217	
	高采食量 High intake	142.9	134	146	255	
奶牛 Cow	青贮玉米:精料 60:40 Corn silage:Concentrate					
	产后 4 周 4 weeks postpartum	363	517	517	674	
	产后 8 周 8 weeks postpartum	421	578	591	892	[19]
	1 倍代谢能需要(非泌乳期) 1 * ME requirement (non-lactating)	139	121	—	—	
	2.8 倍代谢能需要(泌乳前期) 2.8 * ME requirement (first lactating)	358	431	—	—	[23]
	3 倍代谢能需要(泌乳期) 3 * ME requirement (lactating)	370	526	531	773	
	苜蓿干草:玉米 50:50 Alfalfa hay: Corn grain	512	392	376	552	[38]
绵羊 Sheep	基础日粮为玉米、大豆皮、糖蜜, 氮源不同 Based diet is corn,soyhull, molasses with different N source					
	尿素 Urea	15.7	24.8	25.2	21.6	
	大豆饼 Soybean meal	16.4	27.7	28.1	25.9	[40]
	禽副产品 Poultry byproduct meal	16.1	19.4	20.0	16.5	
	玉米麸和血粉 Corn gluten and blood meal	15.8	20.6	21.4	20.0	
	玉米苜蓿大豆饼 Corn, alfalfa, soybean meal					
	自由采食 Adlibitum	24.6	25	28	101	
	维持 Maintenance	10.4	21	23	63	[41]
	雀麦草 Bromegrass	7.5	11.2	12.2	23.1	
	雀麦草+豆粕(24 h 喂 1 次) Bromegrass + soybean meal fed once every 24 h	21.2	38.0	38.7	54.9	[39]
	雀麦草+豆粕(72 h 喂 1 次) Bromegrass + soybean meal fed once every 72 h	44.9	26.8	28.2	39	
	草粉 Grass pellets	21.4	25.8	30.1	41.9	[21]

4.1 同位素示踪技术

同位素示踪技术首先假设动物处于稳定状态,即代谢库保持不变,库内物质的流入和流出速度相等,用[¹⁴C]-尿素、[¹⁵N]-尿素、[¹⁵N]-硫酸氨等同位素标记物来定量研究反刍动物氮素消化代谢。示踪物质的灌注方法分一次性灌注和连续灌注 2 种。理论上,若能精确确定富集度-时间曲线的初始部分,则从这 2 种灌注方法可得到同样的信息。实际上,连续灌注法不易精确测定代谢库大小、总流速和再循环率等,这主要是在连续灌注的初始部分,样品的富集度太低,测定误差大于同样测定条件下的一次性灌注法,致使拟合的曲线方程精确度不高^[3]。在连续灌注法中,根据示踪剂的灌注速率和平台期的富集度可得出不可逆损失率。因此,经过足够长

时间的灌注,只需测定平台期一个样品中的氮富集度,可简化试验步骤。但在实践中,难以估计到达平台期的时间,除非该模型是已知的,并且连续灌注法的研究成本也较高,故目前大都采用一次性灌注¹⁵N 标记同位素的方法。

采用一次性同时灌注[¹⁴C]-尿素和[¹⁵N]-尿素的方法,根据血浆尿素碳和尿素氮不可逆转消失率间的差异,可测定尿素在肝脏中的合成量、胃肠道降解成氨的量及随后体内重新合成的量,这是因为由尿素水解生成的¹⁴C 经快速周转而进入较大的 CO₂ 代谢库中,几乎不能再参与重新合成尿素^[3,27]。而采用连续灌注法时,可通过平台期[¹⁵N]-氨丰度和[¹⁵N]-硫酸氨灌注速率,计算瘤胃液中氨的不可逆转消失率,也可根据平台期[¹⁵N]-尿素丰度或[¹⁵N]-

细菌丰度与 $[^{15}\text{N}]$ -氨丰度的比例,计算不同来源的血浆尿素氮比例或微生物氮比例^[2,15,27]。

在 Fondren 等^[10]及 McClelland 和 Jackson^[42]的研究基础上,Sarraseca 等^[24]又对这种测定技术加以改进。其主要灌注 $[^{15}\text{N}^{15}\text{N}]$ -双标记尿素,再结合对同位素 $[^{15}\text{N}^{15}\text{N}]$ 、 $[^{15}\text{N}^{14}\text{N}]$ 和 $[^{14}\text{N}^{14}\text{N}]$ 的分析来进行计算。这一技术建立在如下假设的基础上,即尿素以 $[^{15}\text{N}^{15}\text{N}]$ 标记的分子形式进入胃肠道,在细菌酶作用下分解产生两分子 $[^{15}\text{N}]$ -氨,若 $[^{15}\text{N}]$ -氨分子被肝脏重吸收和排出,又会与来自天冬氨酸的 ^{14}N 在鸟氨酸循环中生成含 $[^{15}\text{N}^{14}\text{N}]$ 标记的两个尿素分子,而在鸟氨酸循环中直接或间接生成的含 $[^{15}\text{N}^{15}\text{N}]$ 标记的尿素分子则忽略不计^[43]。这一技术的详细实验程序、取样方法、数学模型在 Sarraseca 等^[24]、Ruiz 等^[44]、Marini 和 Van Amburgh^[45]的研究中已详细阐述,在此不再赘述。

4.2 动静脉插管技术

许多有关尿素循环方面的研究建立在测定内脏组织动静脉净流量差异的基础上,这种研究需要精确的外科手术。借助细致的外科手术,肝脏和胃肠道的代谢可被分开来研究,尤其胃肠道可进一步分为不同部位。目前,这项技术不断发展和完善,并日益成熟^[1-3,7,23,31]。利用该技术,许多代谢产物可被准确测定,不仅包括尿素和氨,还包括 AA、VFA 和葡萄糖等。

5 反刍动物体内尿素循环的调控途径

粪中排出的氮大部分是内源氮,而尿氮来源于与维持相关的不可逆损失的氮及嘌呤衍生物氮,其中不可逆损失的氮与骨骼肌中 AA 的沉积量有关,主要由日粮能氮不平衡所致,嘌呤衍生物氮是由小肠吸收的微生物中的核酸降解而来^[46]。实际上,内源氮量远高于回肠氮流量和粪氮排出量,只是大部分内源氮被重吸收,而尿素循环利用是内源氮重吸收中最重要的组成部分,故粪氮排出量仅是内源氮总量的一部分。

对哺乳动物而言,尿素氮在胃肠道中的转运具有重要的生理意义。有两条途径可调控每天进入尿素代谢库中的氮:一是通过减少氨吸收和 AA 分解代谢来减少日粮氮转化成尿素,二是提高肝脏中合成的尿素及再循环至胃肠道的尿素转化成 MCP 的效率。Chapa 等^[32]研究发现,来源于血液中的尿素合成 MCP 量与反刍动物氮进食量呈负相关。因此,通过调节日粮氮源来减少肝脏中尿素的合成是

可能的。例如,提高日粮中 RUP 的比例或降低日粮中 RDP 的比例,可提高进入小肠的氮素量,从而减少尿素的合成量。Animut 等^[39]报道,给肉牛饲喂谷物含量高和适宜 RDP 的日粮,可促进瘤胃发酵,增加进入十二指肠的 AA 流量和门静脉 AA 净流量,而不影响 PDV 对能量的利用。但是,当日粮 RDP 满足反刍动物需要时,过量的 RDP 没有任何益处。Damiran 等^[40]报道,给羔羊饲喂低能量日粮时,日粮 RUP 的进食量由 40% 提高到 60%,可改善氮的沉积与转化效率。另外,日粮中添加易发酵的能源,能提高细菌对氮的利用效率^[1,7]。Huntington^[23]认为,日粮中添加易发酵 CHO,可促进内源尿素通过瘤胃壁,降低尿素由唾液转入瘤胃中的比例,同时减少内源尿素向肠道的转移量,从而增加瘤胃 MCP 的产量。Obitsu 等^[47]研究发现,真胃灌注葡萄糖会减少尿素产量和尿氮排泄量,随着丙氨酸中氮转化成尿素量的减少,尿素合成量也减少;同时小肠对葡萄糖的吸收增加,有利于 AA 向外周组织转移,从而减少尿氮的排泄量。因此,合适的能氮平衡有利于再循环尿素氮的利用。

原虫主要由鞭毛虫和纤毛虫组成,其不仅能促进日粮中蛋白的降解和瘤胃氨的迅速产生,而且能摄食并消化细菌导致氮的无效循环^[1]。王文娟等^[1]认为,去原虫能增加肠道 AA 的供应,降低尿素合成,减少尿氮排泄,从而改善氮的利用。Koenig 等^[27]证实,去原虫可增加瘤胃 MCP 合成量和肠道细菌氮流量,提高瘤胃氮的代谢效率。但目前关于去原虫对反刍动物瘤胃消化代谢的影响还存在争议。

再循环尿素的利用率亦可通过改变日粮结构和采食量来调控。Huntington 等^[37]研究发现,阉牛在日粮氮和代谢能相近而精料水平不同时,当精料比例低于 20% 时,肝脏合成的尿素有 90% 参与循环;当精料比例为 63% 时,参与循环的尿素下降到 64%;当精料比例为 90% 时,参与循环的尿素则占 51%。

6 问题与展望

反刍动物以氨的形式吸收日粮中大量的氮,这些氨氮在肝脏中几乎全部合成尿素。内源合成的尿素在反刍动物胃肠道内循环,大部分被胃肠道中的细菌利用以满足其代谢需要,再以 AA、核酸和氨的形式被重吸收,并被机体再次利用。提高日粮氮素利用效率的途径主要有两条:一是减少氨吸收和

AA 分解代谢来减少日粮氮转化成尿素,二是提高肝脏中合成的尿素及再循环至胃肠道的尿素转化成MCP的效率。迄今为止,已积累了大量有关反刍动物氮的产生、吸收和尿素循环的资料,但在实际日粮条件下进行的相关研究相对较少,故在实际生产中这些资料仍很难被利用。因此,在实际日粮配制时必须运用一些营养调控技术,同时建立基础数据库,并补充试验数据。尿素循环相当复杂,因此必须综合考虑所有的日粮影响因子,研究其动力学过程,并建立相应的动态机制模型。

[参考文献]

- [1] 王文娟,汪水平,谭支良.反刍动物瘤胃氮代谢研究进展[J].华中农业大学学报,2007,26(5):747-754.
Wang W J, Wang S P, Tan Z L. Research advance on nitrogen metabolism in the rumen of ruminants [J]. J Huazhong Agric Univ, 2007, 26(5): 747-754. (in Chinese)
- [2] Parker D S, Lomax M A, Seal C J, et al. Metabolic implications of ammonia production in the ruminant [J]. Proc Nutr Soc, 1995, 54: 549-563.
- [3] Nolan J V. Quantitative models of nitrogen metabolism in sheep [M]// McDonald I W, Warner A C I. Digestion and metabolism in the ruminant. Armidale, Australia: Univ New England Publ Unit, 1975: 416-431.
- [4] Russell J B, Rychlik J L. Factors that alter rumen microbial ecology [J]. Science, 2001, 292: 1119-1122.
- [5] Visek W J. Some aspects of ammonia toxicity in animal cells [J]. J Dairy Sci, 1969, 51: 286-295.
- [6] Tasoglu C, Guliyev A Y, Wallace R J. Use of stable isotopes to measure de novo synthesis and turnover of amino acid-C and -N in mixed microorganisms from the sheep rumen in vitro [J]. Br J Nutr, 2004, 91: 235-261.
- [7] 汪水平,王文娟,左福元.反刍动物对淀粉的利用[C]//王健.第三届畜牧科技论坛论文集.北京:中国农业出版社,2007: 353-360.
Wang S P, Wang W J, Zuo F Y. Starch utilization by ruminants [C]// Wang J. The Symposium on the Third Forum of Science and Technology in Animal Husbandry. Beijing: The Agri Pub Comp China, 2007: 353-360. (in Chinese)
- [8] Younes H, Alphonse J C, Hadj-Abdelkader M, et al. Fermentable carbohydrate and digestive nitrogen excretion [J]. J Ren Nutr, 2001, 11: 139-148.
- [9] Nolan J V, Leng R A. Dynamic aspects of ammonia and urea metabolism in sheep [J]. Br J Nutr, 1972, 27: 177-194.
- [10] Fondren L D, McLain J, Jackson D M, et al. Studies of reactions of a series of ions with nitrogen containing heterocyclic molecules using a selected ion flow tube [J]. Inter J Mass Spect, 2007, 265: 60-67.
- [11] NRC. Nutrient requirements of dairy cattle (7th ed) [M]. Washington, D C: National Academy Press, 2001: 44-49.
- [12] Siddons R C, Nolan J V, Beever D E, et al. Nitrogen digestion and metabolism in sheep consuming diets containing contrasting forms and levels of N [J]. Br J Nutr, 1985, 54: 175-187.
- [13] Seal C J, Reynolds C K. Nutritional implications of gastrointestinal and liver in ruminants [J]. Nutr Res Rev, 1993, 6: 185-208.
- [14] Gross K L, Harmon D L, Avery T B. Portal drained visceral flux of nutrients in lambs fed alfalfa or maintained by total intragastric infusion [J]. J Anim Sci, 1990, 68: 214-221.
- [15] 冯仰廉.反刍动物营养学[M].北京:科学出版社,2004: 233-234, 522-531, 516-547.
Feng Y L. The nutrition of ruminants [M]. Beijing: Science Press, 2004: 233-234, 522-531, 516-547. (in Chinese)
- [16] Lobley G E, Milano G D. Regulation of hepatic nitrogen metabolism in ruminants [J]. Proc Nutr Soc, 1997, 56: 547-563.
- [17] Visek W J. Ammonia: Its effects on biological systems, metabolic hormones and reproduction [J]. J Dairy Sci, 1984, 67: 481-498.
- [18] Haussinger D, Lamers W H, Moorman A F M. Hepatocyte heterogeneity in the metabolism of amino acids and ammonia [J]. Enzyme, 1992, 46: 72-93.
- [19] Reynolds C K. Metabolism of nitrogenous compounds by ruminant liver [J]. J Nutr, 1992, 122: 850-854.
- [20] Maltby S A, Reynolds C K, Lomax M A, et al. The effect of increased absorption of ammonia and arginine on splanchnic metabolism of beef steers [J]. Anim Prod, 1993, 56: 462-463.
- [21] Lobley G E, Connell A, Lomax M A, et al. Hepatic detoxification of ammonia in the ovine liver: possible consequences for amino acid catabolism [J]. Br J Nutr, 1995, 73: 667-685.
- [22] Alio A, Theurer C B, Lozano O, et al. Splanchnic nitrogen metabolism by growing beef steers fed diets containing sorghum grain flaked at different densities [J]. J Anim Sci, 2000, 78: 1355-1363.
- [23] Huntington G B. Hepatic urea synthesis and site and rate of urea removal from blood of beef steers fed alfalfa hay or a high concentrate diet [J]. Can J Anim Sci, 1989, 69: 215-223.
- [24] Sarraseca A, Milne E, Metcalf M J, et al. Urea recycling in sheep: Effects of intake [J]. Br J Nutr, 1998, 79: 79-88.
- [25] Nolan J V, Norton B W, Leng R A. Further studies of dynamics of nitrogen metabolism in sheep [J]. Br J Nutr, 1976, 35: 127-147.
- [26] Makkar H P S. A review of the use of isotopic and nuclear techniques in animal production [J]. Anim Feed Sci Tech, 2008, 140: 418-443.
- [27] Koenig K M, Newbold C J, McIntosh F M, et al. Effects of protozoa on bacterial nitrogen recycling in the rumen [J]. J Anim Sci, 2000, 78: 2431-2445.
- [28] Newbold C J, Teferedegne B, Kim H S, et al. Effects of protozoa on nitrogen metabolism in the rumen of sheep [J]. Repr Nutr Dev, 2000, 40: 189-228.
- [29] Kennedy P M, Milligan L P. Transfer of urea from the blood to the rumen of sheep [J]. Br J Nutr, 1978, 40: 149-154.

[30] Kennedy P M. The effects of dietary sucrose and the concentrations of plasma urea and rumen ammonia on the degradation of urea in the gastrointestinal tract of cattle [J]. Br J Nutr, 1980, 43: 125-140.

[31] Remond D, Le M P, Poncet C. Degradation in the rumen and nutritional value of lupin (*Lupinus albus* L.) seed proteins effect of extrusion [J]. Anim Feed Sci Tech, 2003, 105: 55-70.

[32] Chapa A M, Fernandez J M, White T W, et al. Influence of dietary carnitine in growing sheep fed diets containing non-protein nitrogen [J]. Smal Rum Res, 2001, 40: 13-28.

[33] Lapierre H, Bernier J F, Dubreuil P, et al. The effect of feed intake level on splanchnic metabolism in growing beef steers [J]. J Anim Sci, 2000, 78: 1084-1099.

[34] Thomas D T, Rintoul A J, Masters D G. Sheep select combinations of high and low sodium chloride, energy and crude protein feed that improve their diet [J]. App Anim Behav Sci, 2007, 105: 140-153.

[35] Wilton J C, Gill M, Lomax M A. Uptake of ammonia across the liver of forage-fed cattle [J]. Proc Nutr Soc, 1988, 47: 153A.

[36] Fitch N A, Gill M, Lomax M A, et al. Nitrogen and glucose metabolism by the liver of forage- and forage-concentrate fed cattle [J]. Proc Nutr Soc, 1989, 48: 76A.

[37] Huntington G B, Harmon D L, Kristensen N B, et al. Effects of a slow-release urea source on absorption of ammonia and endogenous production of urea by cattle [J]. Anim Feed Sci Tech, 2006, 130: 225-241.

[38] Whitt J, Huntington G, Zetina E, et al. Plasma flow and net nutrient flux across gut and liver of cattle fed twice daily [J]. J Anim Sci, 1996, 74: 2450-2461.

[39] Animut G, Goetsch A L, Aiken D E, et al. Performance by goats and sheep consuming a concentrate-based diet subsequent to grazing grass/forb pastures at three stocking rates [J]. Smal Rum Res, 2006, 66: 92-101.

[40] Damiran D, DelCurto T, Bohnert D W, et al. Comparison of techniques and grinding size to estimate digestibility of forage based ruminant diets [J]. Anim Feed Sci Tech, 2008, 141: 15-35.

[41] Burrin D G, Barbara S. Key nutrients and growth factors for the neonatal gastrointestinal tract [J]. Clin Perinat, 2002, 29: 65-96.

[42] McClellang I S, Jackson A A. Urea kinetics in healthy young women; Minimal effect of stage of menstrual cycle contraceptive pill and protein intake [J]. Br J Nutr, 1996, 76: 199-209.

[43] Lobley G E, Bremner D M, Zuur G. Effects of diet quality on urea fates in sheep as assessed by refined, non-invasive [¹⁵N ¹⁵N]-urea kinetics [J]. Br J Nutr, 2000, 84: 459-468.

[44] Ruiz R, Tedeschi L O, Marini J C, et al. The effect of a ruminal nitrogen (N) deficiency in dairy cows; evaluation of the Cornell Net Carbohydrate and protein system ruminal N deficiency adjustment [J]. J Dairy Sci, 2002, 85: 2986-2999.

[45] Marini J C, Van Amburgh M E. Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers [J]. J Anim Sci, 2003, 81: 545-552.

[46] 汪水平. 日粮淀粉来源对山羊消化代谢、肉品质、机体抗氧化能力及小肠消化酶活性的影响 [D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2007: 69-76.

Wang S P. Effects of dietary starch source on digestion and metabolism, meat quality, antioxidant capacity and the activity of digestive enzyme of the small intestine in the goats [D]. Beijing: Graduate University of Chinese Academy of Sciences, 2007: 69-76. (in Chinese)

[47] Obitsu T, Bremner D, Milne E, et al. Effect of abomasal glucose on alanine metabolism and urea production in sheep [J]. Br J Nutr, 2000, 84: 157-163.

(上接第 63 页)

[14] Diaz M T, Alvare Z I, Fuente J D L, et al. Fatty acid composition of meat from typical lamb production systems of Spain, United Kingdom, Germany and Uruguay [J]. Meat Science, 2005, 71: 256-263.

[15] Knight T W, Knowles S, Death A F, et al. Factors affecting the variation in fatty acid concentrations in lean beef from grass-fed cattle in New Zealand and the implications for human health [J]. New Zealand Journal of Agriculture Research, 2003, 46: 83-95.

[16] 卢宗藩, 吴维芬, 王宗元, 等. 家畜及实验动物生理生化参数 [M]. 北京: 农业出版社, 1983.

Lu Z P, Wu W F, Wang Z Y, et al. Parameter of physiology and biochemistry of domestic and test animals [M]. Beijing: Agriculture Publishing Company, 1983. (in Chinese)

[17] 吴易雄. 家禽血液生化指标与生产性能的关系研究综述 [J]. 贵州畜牧兽医, 2002, 26(3): 121.

Wu Y X. Relationship between blood biochemical parameters and producted nature of fowl [J]. Guizhou Animal Science and Veterinary Medicine, 2002, 26(3): 121. (in Chinese)

[18] 韩剑众, 董文明, 葛长荣, 等. 中草药添加剂饲喂猪肉中 CPK, GPI 活性和肉质关系的研究 [J]. 云南农业大学学报, 2002, 17(1): 91-93.

Han J Z, Dong W M, Ge C R, et al. Effect of chinese herb feed additives on the activities of CPK and GPI and meat qualities of growing and finishing pigs [J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 2002, 17(1): 91-93. (in Chinese)