



微生物介导反刍动物瘤胃氨生成及其对瘤胃功能的影响

徐诣轩, 李志鹏, 申军士*, 朱伟云

国家动物消化道营养国际联合研究中心, 江苏省消化道营养与动物健康重点实验室, 南京农业大学消化道微生物研究室, 江苏 南京 210095

摘要: 反刍动物瘤胃中栖息着丰富多样的微生物, 其在瘤胃内氨生成过程中发挥了重要的作用。微生物介导的氨基酸脱氨基作用和非蛋白氮水解作用是瘤胃内氨生成的主要途径。微生物介导了瘤胃内氨的生成, 同时瘤胃内产生的氨也会反馈影响微生物菌群结构及瘤胃上皮功能, 进而影响瘤胃发酵及宿主健康。本文主要综述了瘤胃微生物在介导氨生成中的作用和氨对瘤胃消化及瘤胃上皮功能的影响, 以期对后续研究有所启发。

关键词: 微生物, 氨生成, 瘤胃消化, 瘤胃上皮

蛋白质和非蛋白氮饲料在反刍动物生产过程中发挥重要作用, 是反刍动物必需的营养物质。在反刍动物正常代谢过程中, 蛋白质会被瘤胃内微生物产生的蛋白酶和肽酶水解成小肽和氨基酸, 产生的氨基酸再经微生物的脱氨基作用产生氨。而非蛋白氮也会被瘤胃内微生物产生的脲酶快速水解生成氨^[1]。瘤胃内产生的氨一部分被微生物利用合成菌体蛋白, 另一部分经瘤胃上皮和门静脉进入肝脏, 合成尿素, 部分合成的尿素可经血液循环和唾液进入瘤胃供微生物再利用^[2]。瘤胃内适宜的氨浓度有利于瘤胃对营养物质的消化利用^[3], 但当瘤胃内氨态氮浓度过高时, 会破坏瘤胃内环境的稳态, 进而影响瘤胃正常功能, 甚至会出现氨

中毒致使动物死亡^[1]。因此, 深入理解瘤胃微生物在瘤胃氨生成过程中的作用及微生物和瘤胃上皮对氨的响应机制至关重要。本文对瘤胃微生物介导氨的生成和氨对瘤胃消化及瘤胃上皮功能的影响进行综述, 以期对蛋白质饲料利用、非蛋白氮资源开发及后续研究提供基础并有所启发。

1 瘤胃微生物介导氨的生成

反刍动物瘤胃内栖息着大量的微生物, 在反刍动物瘤胃氨生成过程中发挥着重要作用。其中微生物介导的氨基酸脱氨基和非蛋白氮水解是瘤胃氨生成的 2 个主要途径。

基金项目: 国家自然科学基金(31402101); 中央高校基本科研业务费(KYZ201856)

*通信作者。Tel: +86-25-84395523; E-mail: shenjunshi@njau.edu.cn

收稿日期: 2018-06-27; 修回日期: 2018-09-20; 网络出版日期: 2018-11-29

1.1 氨基酸的脱氨基作用

瘤胃内氨基酸在细菌的介导下主要通过斯提柯兰氏反应(Stickland reaction)进行脱氨基作用产生氨。斯提柯兰氏反应是由一种氨基酸作为氢的供体,进行氧化脱氨,另一种氨基酸作氢的受体,进行还原脱氨,两者偶联进行的氧化还原脱氨反应,此反应过程涉及多种酶的参与^[4]。瘤胃内进行脱氨基作用的细菌主要分为数量多而脱氨活性低和数量少而脱氨活性高的两类,其中数量少而脱氨活性高的高效产氨菌在瘤胃产氨过程中发挥重要作用^[5]。1988年,Russell等^[6]从奶牛瘤胃中率先分离出3株呈革兰氏阳性的高效产氨菌,经鉴定分别为厌氧消化链球菌(*Peptostreptococcus anaerobius*)、斯氏梭菌(*Clostridium sticklandii*)和嗜胺梭菌(*Clostridium aminophilum*)^[7]。随后研究人员又发现了很多具有不同生理、生化和遗传特性的菌株。例如,Attwood等^[8]通过分离培养的方式,鉴定出3株呈革兰氏阴性的高效产氨菌,一株属于消化链球菌属(*Peptostreptococcus*),另两株属于拟杆菌科(Bacteroidaceae)。McSweeney等^[9]和Richardson等^[10]分离鉴定出多株可利用多肽和氨基酸为发酵底物的高效产氨菌,其主要属于梭状芽孢杆菌属(*Clostridium*)。Bento等^[11]鉴定出多株可以利用糖类为发酵底物的高效产氨菌,也主要属于梭状芽孢杆菌属(*Clostridium*)。最近,本实验室Shen等^[12]发现以胰酪蛋白胨为底物的富集培养液中氨浓度显著升高,经过高通量测序发现消化链球菌属(*Peptostreptococcus*)的相对丰度最高,达到41%。而且通过皮尔斯相关性分析发现消化链球菌属的相对丰度与氨浓度呈现显著的正相关,因此消化链球菌属中特异性高效产氨菌的存在可能是瘤胃内氨浓度升高的主要原因之一。这

些研究结果表明瘤胃中可能仍存在大量具有不同分类及生理、生化功能的高效产氨菌未被发现,并且不同产氨菌之间具体的脱氨基产氨差异机制仍不清楚。近年来,单细胞分离与培养技术在解析细胞的功能方面取得了显著的发展^[13],将其与高效产氨菌分离鉴定进行结合,将能极大地提高我们对高效产氨菌的认识。此外,宏转录组、代谢组学等技术的发展,为进一步明确瘤胃内微生物的脱氨基产氨的具体机制提供新的技术支持,从而为更好地调节瘤胃内氨的产生和利用带来新的突破。

此外,原虫是瘤胃中另一类进行脱氨基产氨的微生物,其主要通过吞食细菌以获得氮源,进而合成自身的氨基酸^[14]。原虫在吞食细菌的过程中会分解细菌的菌体蛋白并产生氨,但产生的氨不能被自身再利用,是瘤胃内氨的净生产者。Belanche等^[15]通过体外研究发现,瘤胃液中内毛虫(*Entodinium*)的产氨效率较高,在脱氨基产氨过程中发挥了重要作用。随后的体内试验进一步表明含有原虫的绵羊瘤胃内氨的浓度显著高于去原虫绵羊瘤胃内氨的浓度^[16],这证明了瘤胃内原虫具有较强的产氨能力。此外,Newbold等^[14]发现原虫可通过水平基因转移获得细菌的氨利用基因,但对氨的利用率较低。由此可见,原虫在反刍动物瘤胃氮代谢中也起着不可或缺的作用,深入了解瘤胃内原虫的脱氨基作用和细菌的氨利用基因的水平转移的具体机制,将有利于提高瘤胃内氨的利用效率。

1.2 非蛋白氮的水解作用

非蛋白氮如尿素可被瘤胃内微生物分泌的脲酶水解,产生氨和二氧化碳。脲酶主要由2或3个亚基(由脲酶结构基因 *ureA*、*ureB* 和 *ureC* 编码)

和几个辅助蛋白(由脲酶辅助基因 *ureD*、*ureE*、*ureF*、*ureH* 等编码)构成^[2]。脲酶的 K_m 值(0.15–131.00 mmol/L)和 pH 适宜范围(4.5–10.5)都较宽,而且其不仅可以催化尿素及其衍生物还可以催化磷酸酰胺或酯类化合物^[17]。在反刍动物瘤胃内尿素分解菌是一类产生脲酶介导氨生成的微生物,其通过产生脲酶将尿素分解为氨。1989年 Kakimoto 等^[18]鉴定了 700 株从动物消化道和粪便中分离出可以产酸性脲酶的细菌,发现大部分属于链球菌属 (*Streptococcus*) 和乳杆菌属 (*Lactobacillus*)。随后研究人员通过传统的分离培养的方法又鉴定出很多尿素分解菌,大部分属于瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*)、肠球菌属 (*Enterococcus*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*) 等。但是由于大部分的瘤胃细菌绝对厌氧而无法分离培养,目前已经分离出的细菌大约只占尿素分解菌总量的 6.5%^[2]。进入 21 世纪以来,随着基于靶基因的分 子指纹图谱技术和高通量测序技术的发展,人们对瘤胃尿素分解菌的认识有了极大的提高。Jin 等^[19]通过体外研究发现,瘤胃尿素分解菌主要为假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、嗜血杆菌属 (*Haemophilus*)、奈瑟氏菌属 (*Neisseria*)、链球菌属 (*Streptococcus*) 等。随后, Jin 等^[20]在体内试验中发现瘤胃上皮和瘤胃内容物中含脲酶 C 基因的尿素分解菌的多样性存在着显著性差异,这证明了瘤胃上皮和瘤胃内容物中尿素分解菌的组成不同,进一步丰富了尿素分解菌的理论体系。为了调节瘤胃内尿素分解菌对尿素的降解速率, Zhao 等^[21]用幽门螺杆菌作为疫苗接种奶牛,发现可以显著降低瘤胃内尿素分解和氨生成的速率,提高瘤胃内氮的利用率。另一方面,脲酶活性还受瘤胃内氨浓度的调控,当瘤胃内氨浓度升高时,会抑制

脲酶的活性^[22]。这表明瘤胃内高效产氨菌和尿素分解菌之间可能存在着相互制衡的关系。随着研究技术的不断发展,高效产氨菌和尿素分解菌的相互作用关系将会被进一步揭示,这将为提高瘤胃氮的利用效率提供新的理论支持。

2 氨对瘤胃功能的影响

微生物介导了瘤胃内氨的生成,同时瘤胃内产生的氨也会反馈影响微生物菌群结构及瘤胃上皮功能,进而影响瘤胃发酵及宿主健康,但高氨浓度影响瘤胃消化代谢功能的具体机制尚不明确。

2.1 氨对瘤胃消化功能的影响

2.1.1 氨对瘤胃发酵的影响: 氨浓度是瘤胃内环境稳定的一个重要指标,适宜的氨浓度有利于瘤胃内微生物的生长,提高微生物的消化效率^[3]。Wanapat 等^[23]研究发现给以稻草为粗饲料来源的沼泽水牛补充含尿素 40 g/kg 的精料后,瘤胃内氨浓度在适宜范围以内,沼泽水牛的采食量、养分消化率和菌体蛋白的合成显著增加。但当沼泽水牛稻草日粮中只补充木薯干草时,瘤胃内氨浓度较低,不利于菌体蛋白的合成,而在此基础上补充一定量的尿素后,提高了瘤胃内氨浓度,促进了菌体蛋白的合成^[24]。对于反刍动物来说,日粮中的营养物质会被瘤胃内微生物降解,产生大量的氨,氨可被用于合成甲烷、丙酸、ATP 等能源物质。部分研究者发现在日粮中添加尿素后,瘤胃内氨浓度升高,甲烷产量降低,丙酸浓度增加^[24-25],这表明尿素介导的瘤胃内氨态氮浓度升高可能会改变瘤胃内氨的代谢途径,进而影响瘤胃发酵和能量利用。然而,当高降解蛋白或非蛋白氮饲料添加饲喂过多时,

会引起瘤胃内氨浓度过高,进而导致瘤胃内氮不平衡,影响营养物质的消化吸收。Patra^[26]指出,当瘤胃内氨浓度超过 1000 mg/L 或 pH 大于 8 时,会引起瘤胃氨中毒,甚至危害动物机体健康。

2.1.2 氨对瘤胃内微生物的影响:反刍动物瘤胃内复杂而庞大的微生物系统直接参与了瘤胃内碳水化合物和蛋白质等物质的代谢,同时微生物的代谢产物也会反馈影响瘤胃微生物的菌群结构^[27]。

Jin 等^[19]研究发现,在体外发酵体系中添加尿素会引起瘤胃液中氨浓度显著升高,瘤胃液中细菌的丰度和尿素分解菌的比例显著增加。但在奶牛正常蛋白日粮中添加 180 g/d 尿素,虽然引起了瘤胃内氨浓度升高,但并没有引起瘤胃上皮和瘤胃内容物含脲酶 C 基因的尿素分解菌多样性的改变^[20],而且文章中也没有介绍瘤胃内氨浓度升高对其他微生物多样性的影响。Wang 等^[28]通过体外发酵研究发现,添加尿素后,发酵液中氨浓度迅速升高,白色瘤胃球菌(*Ruminococcus albus*)、黄色瘤胃球菌(*R. flavefaciens*)、产琥珀酸丝状杆菌(*Fibrobacter succinogenes*)和溶纤维丁酸弧菌(*Butyrivibrio fibrosolvans*)等纤维分解菌的丰度显著降低。Zhou 等^[29]研究发现,当肉牛饲料中添加干物质含量 2% 的尿素时,瘤胃内厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidetes)的丰度没有显著性变化,但瘤胃内丁酸弧菌属(*Butyrivibrio*)和粪球菌属(*Coprococcus*)的丰度显著性下降,而短杆甲烷菌属(*Methanobrevibacter*)的丰度显著上升。Yan 等^[30]发现随着缓释尿素添加量的增加,不仅会影响瘤胃内细菌的菌群结构,也会影响真菌的菌群组成,显著降低了毕赤酵母菌属(*Pichia*)、地丝菌属(*Geotrichum*)和小画线壳属(*Monographella*)的相对丰度,但文中未提及缓释尿素添加量增加

后对瘤胃内氨浓度的影响。综上所述,日粮中添加尿素会使瘤胃内氨浓度迅速升高,改变瘤胃内微生物的组成和结构。这可能会降低瘤胃内粗纤维的降解,改变瘤胃内丁酸和甲烷的代谢,进而影响瘤胃内的能量代谢途径和内环境稳态。迄今为止,针对瘤胃内氨浓度与微生物间的互作关系已经做了初步研究,但高氨浓度对瘤胃内微生物菌群结构及功能的具体影响尚不清楚。

2.2 氨对瘤胃上皮功能的影响

2.2.1 氨对瘤胃上皮屏障的影响:瘤胃上皮屏障主要由机械屏障、化学屏障、生物屏障和免疫屏障组成,对维持瘤胃正常功能发挥了重要作用。其中机械屏障是瘤胃上皮屏障的基础,其不仅可以防止病原微生物侵入机体还参与维持瘤胃上皮的选择渗透性。有大量在单胃动物上的研究表明,小鼠结肠内的高氨浓度会使其结肠上皮刷状缘的高度显著降低^[31],破坏结肠上皮细胞的完整性^[32],诱导上皮细胞凋亡,导致通透性增加,影响结肠上皮屏障功能^[33]。最近,本研究室 Mu 等^[34]给大鼠饲喂高蛋白日粮,通过转录组学分析发现其结肠上皮中参与先天免疫保护的基因如编码白介素 2 受体(IL-2R)、视黄酸受体(RAR)等下调,而结肠上皮中与炎症肠病相关的基因如 *Sbno2* 和 *Fcgr2b* 上调,但作者并没有指出饲喂高蛋白日粮是否会引起小鼠结肠中氨浓度的改变。Hughes 等^[35]以人的 Caco-2 细胞为试验对象也发现,氨会使其旁通透性增加,破坏结肠上皮的屏障功能。此外,高氨浓度不仅可以影响结肠上皮细胞,还可以破坏小鼠胃上皮细胞内线粒体的功能,诱导胃上皮细胞凋亡,降低胃上皮的屏障保护能力^[36]。但高氨浓度是否会影响反刍动物瘤胃上皮细胞的通透性,损害瘤胃上皮屏障进而影响瘤胃健康,仍有

待进一步的研究论证。

2.2.2 氨对瘤胃上皮尿素转运的影响：尿素转运载体在反刍动物尿素循环转运过程中发挥着重要的生理作用。Abdoun 等^[37]研究指出, 在体外培养瘤胃上皮细胞过程中, 当培养液 pH 为 6.4 时, 氨会抑制瘤胃上皮细胞中尿素转运载体的表达。Lu 等^[38]也发现, 当培养液 pH 为 6.8 并添加氯化铵后会使瘤胃上皮细胞中的尿素转运载体(UT-B)蛋白丰度和其 mRNA 的表达量都显著降低。这可能由于在酸性条件下, NH_4^+ 分解为 H^+ 和 NH_3 , 进而抑制了尿素转运载体的活性^[39]。在体内试验中, Muscher 等^[40]证明山羊的瘤胃上皮尿素转运载体的活性随着日粮中氮水平的降低而显著升高, 使更多的尿素进入瘤胃, 以满足机体的需要。以上结果表明, 瘤胃上皮细胞中尿素转运载体的活性可能与瘤胃内氨浓度呈现负相关, 当瘤胃内氨浓度较低时, 促进尿素转运载体的活性, 增加血液中尿素向瘤胃内的转运效率, 以供微生物利用; 当瘤胃内氨浓度较高时, 抑制尿素转运载体的活性, 降低血液中尿素向瘤胃内的转运效率。此外, 在瘤胃上皮中还存在水通道蛋白家族(AQP), 其中的 AQP3、AQP7、AQP9、AQP10 也有转运尿素的能力^[41], 但瘤胃内氨浓度是否会影响瘤胃上皮中水通道蛋白的活性, 还有待进一步研究。一直以来, 尿素转运载体都是机体氮循环的研究重点, 深入探究氨对尿素转运载体的生理特性的影响, 将有利于提高机体氮利用效率。

3 小结和展望

瘤胃是反刍动物特有的消化吸收器官, 栖息着大量的微生物。瘤胃内的微生物参与了日粮中蛋白质的消化代谢, 介导了氨的生成, 同时产生

的氨也会反馈调节瘤胃的功能。但瘤胃内仍存在大量理化性质和遗传特性不同的高效产氨菌尚未被分离鉴定, 且微生物对氨的具体代谢和响应机制仍不清楚。此外, 瘤胃内的高氨浓度可能会影响瘤胃内的能量代谢, 破坏瘤胃上皮屏障, 进而影响瘤胃的正常功能。近年来, 基因组、转录组和代谢组等组学技术的快速发展为进一步明确微生物、氨浓度和瘤胃功能间的互作关系提供了新的技术支持, 这将会为进一步提高反刍动物氮的利用效率, 缓解瘤胃内高氨浓度对反刍动物的影响提供更深入的理论依据。

参考文献

- [1] Patra AK, Aschenbach JR. Ureases in the gastrointestinal tracts of ruminant and monogastric animals and their implication in urea-N/ammonia metabolism: a review. *Journal of Advanced Research*, 2018, 13: 39–50, doi: 10.1016/j.jare.2018.02.005.
- [2] Jin D, Zhao SG, Zheng N, Beckers Y, Wang JQ. Urea metabolism and regulation by rumen bacterial urease in ruminants - a review. *Annals of Animal Science*, 2017, 18(2): 303–318, doi: 10.1515/aoas-2017-0028.
- [3] Ceconi I, Ruiz-Moreno MJ, Dilorenzo N, DiCostanzo A, Crawford GI. Effect of urea inclusion in diets containing corn dried distillers grains on feedlot cattle performance, carcass characteristics, ruminal fermentation, total tract digestibility, and purine derivatives-to-creatinine index. *Journal of Animal Science*, 2015, 93(1): 357–369.
- [4] de Vldar HP. Amino acid fermentation at the origin of the genetic code. *Biology Direct*, 2012, 7(1): 6, doi: 10.1186/1745-6150-7-6.
- [5] Shen JS, Mao SY, Zhu WY. Ruminal hyper ammonia producing bacteria in ruminants: community structure, function and its manipulation. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(8): 2323–2327. (in Chinese)
申军士, 毛胜勇, 朱伟云. 反刍动物瘤胃高效产氨菌菌群结构、功能及其调控. *动物营养学报*, 2015, 27(8): 2323–2327.

- [6] Russell JB, Strobel HJ, Chen GJ. Enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. *Applied and Environmental Microbiology*, 1988, 54(4): 872–877.
- [7] Paster BJ, Russell JB, Yang CMJ, Chow JM, Woese CR, Tanner R. Phylogeny of the ammonia-producing ruminal bacteria *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium sticklandii*, and *Clostridium aminophilum* sp. nov.. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1993, 43(1): 107–110.
- [8] Attwood GT, Klieve AV, Ouwerkerk D, Patel BKC. Ammonia-hyperproducing bacteria from New Zealand ruminants. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(5): 1796–1804.
- [9] McSweeney CS, Palmer B, Bunch R, Krause DO. Isolation and characterization of proteolytic ruminal bacteria from sheep and goats fed the tannin-containing shrub legume *Calliandra calothyrsus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(7): 3075–3083.
- [10] Richardson AJ, McKain N, Wallace RJ. Ammonia production by human faecal bacteria, and the enumeration, isolation and characterization of bacteria capable of growth on peptides and amino acids. *BMC Microbiology*, 2013, 13(1): 6.
- [11] Bento CBP, de Azevedo AC, Detmann E, Mantovani HC. Biochemical and genetic diversity of carbohydrate-fermenting and obligate amino acid-fermenting hyper-ammonia-producing bacteria from Nellore steers fed tropical forages and supplemented with casein. *BMC Microbiology*, 2015, 15(1): 28.
- [12] Shen JS, Yu ZT, Zhu WY. Insights into the populations of proteolytic and amino acid-fermenting bacteria from microbiota analysis using *in vitro* enrichment cultures. *Current Microbiology*, 2018, 75(11): 1543–1550, doi: 10.1007/s00284-018-1558-1.
- [13] Prakadan SM, Shalek AK, Weitz DA. Scaling by shrinking: empowering single-cell ‘omics’ with microfluidic devices. *Nature Reviews Genetics*, 2017, 18(6): 345–361.
- [14] Newbold CJ, de la Fuente G, Belanche A, Ramos-Morales E, McEwan NR. The role of ciliate protozoa in the rumen. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1313.
- [15] Belanche A, de la Fuente G, Moorby JM, Newbold CJ. Bacterial protein degradation by different rumen protozoal groups. *Journal of Animal Science*, 2012, 90(12): 4495–4504.
- [16] Belanche A, de la Fuente G, Newbold CJ. Effect of progressive inoculation of fauna-free sheep with holotrich protozoa and total-fauna on rumen fermentation, microbial diversity and methane emissions. *FEMS Microbiology Ecology*, 2015, 91(3): fiu026.
- [17] Qin YJ, Cabral JMS. Review properties and applications of urease. *Biocatalysis and Biotransformation*, 2002, 20(1): 1–14, <https://doi.org/10.1080/10242420210154>.
- [18] Kakimoto S, Okazaki K, Sakane T, Imai K, Sumino Y, Akiyama SI, Nakao Y. Isolation and taxonomic characterization of urease-producing bacteria. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1989, 53(4): 1111–1117.
- [19] Jin D, Zhao SG, Wang PP, Zheng N, Bu DP, Beckers Y, Wang JQ. Insights into abundant rumen ureolytic bacterial community using rumen simulation system. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1006, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01006>.
- [20] Jin D, Zhao SG, Zheng N, Bu DP, Beckers Y, Denman SE, McSweeney CS, Wang JQ. Differences in ureolytic bacterial composition between the rumen digesta and rumen wall based on *ureC* gene classification. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 385.
- [21] Zhao SG, Wang JQ, Zheng N, Bu DP, Sun P, Yu ZT. Reducing microbial ureolytic activity in the rumen by immunization against urease therein. *BMC Veterinary Research*, 2015, 11(1): 94, <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0409-6>.
- [22] Wallace RJ, Cheng KJ, Dinsdale D, Ørskov ER. An independent microbial flora of the epithelium and its role in the ecomicrobiology of the rumen. *Nature*, 1979, 279(5712): 424–426.
- [23] Wanapat M, Phesatcha K, Kang S. Rumen adaptation of swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*) by high level of urea supplementation when fed on rice straw-based diet. *Tropical Animal Health and Production*, 2016, 48(6): 1135–1140.
- [24] Ampapon T, Wanapat M, Kang S. Rumen metabolism of swamp buffaloes fed rice straw supplemented with cassava

- hay and urea. *Tropical Animal Health and Production*, 2016, 48(4): 779–784.
- [25] Polyorach S, Wanapat M. Improving the quality of rice straw by urea and calcium hydroxide on rumen ecology, microbial protein synthesis in beef cattle. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2015, 99(3): 449–456.
- [26] Patra AK. Urea/Ammonia metabolism in the rumen and toxicity in ruminants//Puniya AK, Singh R, Kamra DN. Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution. New Delhi: Springer, 2015: 329–341.
- [27] Klevenhusen F, Petri RM, Kleefisch MT, Khiaosa-ard R, Metzler-Zebeli BU, Zebeli Q. Changes in fibre-adherent and fluid-associated microbial communities and fermentation profiles in the rumen of cattle fed diets differing in hay quality and concentrate amount. *FEMS Microbiology Ecology*, 2017, 93(9): fix100, doi: 10.1093/femsec/fix100.
- [28] Wang PP, Zhao SG, Nan XM, Jin D, Wang JQ. Influence of hydrolysis rate of urea on ruminal bacterial diversity level and cellulolytic bacteria abundance *in vitro*. *PeerJ*, 2018, 6: e5475, doi: 10.7717/peerj.5475.
- [29] Zhou ZM, Meng QX, Li SL, Jiang L, Wu H. Effect of urea-supplemented diets on the ruminal bacterial and archaeal community composition of finishing bulls. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(15): 6205–6216.
- [30] Yan XT, Yan BY, Ren QM, Dou JJ, Wang WW, Zhang JJ, Zhou JW, Long RJ, Ding LM, Han J, Li ZP, Qiu Q. Effect of slow-release urea on the composition of ruminal bacteria and fungi communities in yak. *Animal Feed Science and Technology*, 2018, 244: 18–27.
- [31] Andriamihaja M, Davila AM, Eklou-Lawson M, Petit N, Delpal S, Allek F, Blais A, Delteil C, Tomé D, Blachier F. Colon luminal content and epithelial cell morphology are markedly modified in rats fed with a high-protein diet. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2010, 299(5): G1030–G1037.
- [32] Blachier F, Mariotti F, Huneau JF, Tomé D. Effects of amino acid-derived luminal metabolites on the colonic epithelium and physiopathological consequences. *Amino Acids*, 2007, 33(4): 547–562.
- [33] Lin HC, Visek WJ. Colon mucosal cell damage by ammonia in rats. *The Journal of Nutrition*, 1991, 121(6): 887–893.
- [34] Mu CL, Yang YX, Luo Z, Guan LL, Zhu WY. The colonic microbiome and epithelial transcriptome are altered in rats fed a high-protein diet compared with a normal-protein diet. *The Journal of Nutrition*, 2016, 146(3): 474–483.
- [35] Hughes R, Kurth MJ, McGilligan V, McGlynn H, Rowland I. Effect of colonic bacterial metabolites on Caco-2 cell paracellular permeability *in vitro*. *Nutrition and Cancer*, 2008, 60(2): 259–266.
- [36] Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Fusamoto H, Kamada T, Sato N. Mechanism of gastric mucosal damage induced by ammonia. *Gastroenterology*, 1992, 102(6): 1881–1888.
- [37] Abdoun K, Stumpff F, Rabbani I, Martens H. Modulation of urea transport across sheep rumen epithelium *in vitro* by SCFA and CO₂. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2010, 298(2): G190–G202.
- [38] Lu ZY, Gui HB, Yao L, Yan L, Martens H, Aschenbach JR, Shen ZM. Short-chain fatty acids and acidic pH upregulate UT-B, GPR41, and GPR4 in rumen epithelial cells of goats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2015, 308(4): R283–R293.
- [39] Abdoun K, Wolf K, Arndt G, Martens H. Effect of ammonia on Na⁺ transport across isolated rumen epithelium of sheep is diet dependent. *British Journal of Nutrition*, 2003, 90(4): 751–758.
- [40] Muscher AS, Schröder B, Breves G, Huber K. Dietary nitrogen reduction enhances urea transport across goat rumen epithelium. *Journal of Animal Science*, 2010, 88(10): 3390–3398.
- [41] Stewart GS, Smith CP. Urea nitrogen salvage mechanisms and their relevance to ruminants, non-ruminants and man. *Nutrition Research Reviews*, 2005, 18(1): 49–62.

Microbe-mediated ruminal ammonia production in ruminants and its impacts on rumen function

Yixuan Xu, Zhipeng Li, Junshi Shen^{*}, Weiyun Zhu

Laboratory of Gastrointestinal Microbiology, Jiangsu Key Laboratory of Gastrointestinal Nutrition and Animal Health, National Center for International Research on Animal Gut Nutrition, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu Province, China

Abstract: The rumen is inhabited by a multitude of microorganisms that play an important role in the production of ammonia. Microbe-mediated amino acid deamination and non-protein nitrogen hydrolysis are the main pathways for ruminal ammonia production. Ammonia produced by rumen microorganisms acts in a feedback loop to affect the structure of microbial flora and the function of ruminal epithelium, thus affecting the ruminal fermentation and host health. This review summarizes the production of ammonia and the influence of ammonia on digestion and epithelial function in rumen, aiming to provide a reference to the follow-up related research.

Keywords: microbiota, production of ammonia, ruminal digestion, ruminal epithelium

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China for the Youth (31402101) and by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (KYZ201856)

^{*}Corresponding author. Tel: +86-25-84395523; E-mail: shenjunshi@njau.edu.cn

Received: 27 June 2018; Revised: 20 September 2018; Published online: 29 November 2018