

高钼条件下日粮不同铜硫水平对绵羊铜代谢及粗料消化能力的影响

郭宝林 朱晓萍 张玉枝 那仁巴图 贾志海

(中国农业大学 动物科学技术学院,北京 100094)

摘要 选用4只安装有永久性瘤胃瘘管的4月龄杂交一代(无角陶赛特×小尾寒羊)羯羊,采用拉丁方设计,研究4种铜添加水平(0,6,12和18 mg·kg⁻¹)和4种硫添加水平(0,0.05%,0.10%和0.15%)在高钼(12.55 mg·kg⁻¹)条件下对绵羊铜代谢的影响。所用铜源为碱式氯化铜,硫为硫酸钠,钼为钼酸钠。结果表明:随着日粮中碱式氯化铜添加水平的提高,绵羊血浆中的铜水平显著升高($P < 0.05$),三氯乙酸(TCA)可溶解铜水平也显著提高($P < 0.01$),而TCA不溶性铜、血浆铜蓝蛋白(Cp)和铜锌超氧化物歧化酶(CuZn-SOD)活性则无显著变化;随着硫添加水平的提高,TCA溶解铜显著下降($P < 0.05$),TCA不溶铜显著提高($P < 0.01$),血浆铜、Cp和CuZn-SOD活性变化不明显;日粮中添加不同水平的铜和硫对铜的表观消化率、羊草干物质消失率及中性洗涤纤维(NDF)消失率没有显著影响。结果说明碱式氯化铜是绵羊比较理想的无机饲料铜源。

关键词 碱式氯化铜;硫;铜代谢;铜源;绵羊

中图分类号 S 816.72; S 826

文章编号 1007-4333(2004)03-0031-05

文献标识码 A

Effects of dietary supplements of copper and sulfur on copper metabolism and digestion of roughage in sheep fed high molybdenum diet

Guo Baolin, Zhu Xiaoping, Zhang Yuzhi, Naren Batu, Jia Zhihai

(1. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract Four wethers (Poll Dorset × Small Tail Han-yan) with permanent rumen fistula were used to determine effect of tri-basic copper chloride supplement on copper metabolism in sheep fed high molybdenum diet in Latin-square design. The experiments were conducted in sheep fed with high molybdenum diet contained molybdenum (Mo) 12.55 mg kg⁻¹ DM. Copper (Cu), as tri-basic copper chloride, was added at doses of 0, 6, 12, 18 mg kg⁻¹ DM, and S, as sodium sulfate (S), was provided at 0, 0.05%, 0.10%, 0.15% DM respectively. The results showed that plasma Cu and trichloroacetic acid (TCA) soluble Cu increased ($P < 0.05$) and there were no effects on TCA insoluble Cu and cuproenzyme activities as dietary Cu increased. TCA soluble Cu decreased ($P < 0.05$) and TCA insoluble Cu increased ($P < 0.01$). However, there was no effect on plasma Cu with increasing dietary S. In addition, there were no significant differences in apparent digestibility of Cu, disappearance of dry matter and neutral detergent fiber (NDF) of Chinese wildrye with dietary supplementation of Cu and S. These results suggest that tri-basic copper chloride may be satisfactory inorganic copper source for sheep.

Key words tri-basic copper chloride; sulfur; copper metabolism; copper source; sheep

铜是绵羊正常生长发育必需的微量元素。大量研究表明,铜是动物体内一些重要酶的组成成分或与酶的活性有关,具有参与血红蛋白合成、影响脂类及蛋白质代谢和维持正常心血管结构完整等功能。

在我国以及世界许多地方均发生过羊的铜缺乏,每年估计有上千万个可见临床症状的铜缺乏病例^[1],并且呈上升趋势,给养羊生产带来严重损失;因此,研究如何预防铜缺乏具有重要的经济意义,也是生

收稿日期:2004-03-31

基金项目:国家高技术发展规划资助项目(2002AA242041)

作者简介:郭宝林,博士研究生;贾志海,教授,博士生导师,通讯作者,主要从事羊的营养和育种研究。

产实践中亟待解决的问题。

绵羊作为反刍动物其消化生理有别于单胃动物,饲料中的含硫物质均被瘤胃微生物转化为硫化物^[2],在这种条件下,游离的铜离子容易与钼、硫发生拮抗作用形成难溶的化合物,从而降低了动物对铜的利用率。当前畜牧生产中的铜添加剂主要为硫酸铜和氧化铜,研究表明它们均不是绵羊理想的铜添加剂。碱式氯化铜作为新近开发的铜源^[3],有其独特的理化性质,将其作为羊的饲料铜源,国内外尚未见相关报道。本试验在高钼条件下,绵羊饲以不同水平的铜和硫,通过对血铜、铜酶活性、铜表观消化率以及中性洗涤纤维(NDF)消失率等指标的测定,初步探讨碱式氯化铜作为绵羊铜添加剂的性能。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验选用4只安装有永久性瘤胃瘘管的4月龄杂交一代(无角陶赛特×小尾寒羊)羯羊,体重为(30.0±1.5)kg。

1.2 试验日粮与饲养管理

试验羊基础日粮参照中国美利奴绵羊饲养标准配制^[4],营养水平可满足50g日增重需要,试验日粮在基础日粮中分别添加硫酸钠(Na_2SO_4 ,试剂)和碱式氯化铜($\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$,饲料级),形成饲料干物质(DM)基础上铜的4种添加水平(0,6,12和18 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)和硫的4种添加水平(0,0.05%,0.10%和0.15%),钼的添加形式为钼酸钠($\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$,试剂),添加水平为10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

基础日粮组成及营养水平见表1。试验羊全部单栏舍饲,日饲喂3次,6:00每只饲喂羊草和苜蓿各250g;12:00饲喂混合精料250g,铜和硫添加物每日于精料中一次性集中投喂;18:00饲喂羊草500g,自由饮水。

1.3 试验设计

试验采用4×4拉丁方设计,日粮钼水平固定(12.55 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),铜和硫为试验因子,二者根据试验设计以不同水平组合添加在日粮中,每期15d,预试期12d,正试期3d。试验开始前用广谱驱虫药驱虫。

1)瘤胃尼龙袋试验。将风干羊草通过2.5mm筛孔的粉碎机粉碎,准确称量2g放入每个尼龙袋(35 μm 孔径)中,分别在不同时间点投入瘤胃腹囊处^[5](每个时间点设置2个重复),使尼龙袋分别在

表1 基础日粮配方和营养水平(风干物质基础)

Table 1 Composition of basal diet fed to sheep and nutrient levels (as-fed basis) %

原料组成	质量分数	代谢能与原料成分	营养水平
玉米	12.3	代谢能/(MJ·kg ⁻¹)	8.57
小麦麸	3.0	硫	0.15
豆粕	2.0	粗蛋白质	10.20
棉籽粕	2.0	钙	0.49
磷酸氢钙	0.1	总磷	0.20
食盐	0.4	铜/(mg·kg ⁻¹)	9.09
微量元素预混料*	0.2	钼/(mg·kg ⁻¹)	2.55
羊草	60.0		
苜蓿干草	20.0		
合计	100.0		

注: *每kg微量元素预混料含 $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 125g, KI 325mg, $\text{MnSO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$ 61.5g, $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 66g, $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 200mg, Na_2SeO_3 109mg。代谢能与硫为计算值,其他原料成分为实测值。

瘤胃中停留24,36,48和72h,最后在同一时间取出所有尼龙袋,自来水冲洗直至水清,然后放入低温冰柜待测。

2)血样采集。在羊采食混合精料后2h颈静脉采血,分别置于5和10mL带盖离心管中,其中,10mL管加肝素钠抗凝,现场分离血浆和血清后置于-20℃冰箱中保存待测。

3)粪样采集。集粪袋全天收粪,共收3d,称重后均匀混合,取10%置于冰柜中冷冻保存待测。

1.4 样品分析方法

1)NDF的测定参照文献[6]的方法进行。

2)铜含量的测定。粪样及饲料原料中的铜依照国家标准GB/T 13885-92进行,测定仪器Z5000型原子吸收分光光度计(日本HITACHI公司生产),部分血浆用去离子水适当稀释(1:4)后直接上机进行含铜量的测定,另外,取血浆2mL,加2mL 10%(质量分数)的三氯乙酸(TCA)溶液^[7],漩涡混匀器混匀,4000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10min后,分离上清液进行含铜量的测定。TCA不溶性铜为血浆铜和TCA可溶性铜含量之差。

3)血浆铜蓝蛋白(Cp)和血清铜锌超氧化物歧化酶(CuZn-SOD)活性测定。CuZn-SOD采用化学比色法测定血清中CuZn-SOD和Cp的活性,试剂盒由南京建成生物工程研究所生产。仪器采用752型紫外可见光栅分光光度计(北京光学仪器厂)。

1.5 数据统计与分析

数据利用SAS软件包(The SAS System for

Windows V8) STAT 模块中的 GLM 和 ANOVA 过程进行方差分析,其中,血浆及 TCA 处理后血浆铜、CuZn-SOD 和 Cp 活性分别利用其试验前初始值进行协方差分析,以消除试验前各项指标初始状态对试验结果的影响,多重比较采用 Duncan 法。干物质消失率和 NDF 消失率作为有一个重复测量的两因素设计资料采用 MIXED 过程进行方差分析。

2 结果与讨论

2.1 不同铜水平对血浆铜含量及含铜酶活性的影响

在高钼条件下 ($12.55 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),随着日粮中铜添加水平的提高,绵羊血浆中铜含量不断升高(表 2)。当添加水平达到 $18 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,血浆铜含量显著升高 ($P < 0.05$);当日粮中铜添加水平不断增加

时,TCA 可溶解铜含量也显著提高 ($P < 0.01$),而 TCA 不溶性铜含量则无显著变化 ($P > 0.05$);铜锌超氧化物歧化酶 (CuZn-SOD) 和血浆铜蓝蛋白 (Cp) 的活性变化不明显。

肝脏是动物铜代谢的主要调节器官,当饲料铜水平升高时,吸收的多余铜主要在肝脏贮存。在肝脏的调节作用下,血浆铜含量一般维持在比较恒定的水平。本试验中当铜添加量达到 $18 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,饲料铜水平超过了绵羊的最高耐受水平 ($25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),血浆铜含量也显著升高,但仍保持在健康绵羊的正常范围内,是由于体内自稳机制调节的结果。绵羊作为反刍动物其消化生理有别于单胃动物,饲料中的含硫物质均被瘤胃微生物转化为硫化物,在这种条件下,游离的铜离子容易与钼、硫发生拮抗作

表 2 不同铜添加水平对血浆铜含量及含铜酶活性的影响

Table 2 Effects of copper supplemental levels on concentration of plasm Cu and activity of cuproenzyme in sheep fed high dietary molybdenum

测定指标	铜添加水平/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)			
	0	6	12	18
血浆铜/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	0.85 \pm 0.04 b	0.92 \pm 0.02 b	0.99 \pm 0.06 ab	1.10 \pm 0.05 a
血浆 TCA 溶解铜/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	0.67 \pm 0.12 cB	0.77 \pm 0.04 bAB	0.80 \pm 0.09 abAB	0.88 \pm 0.08 aA
血浆 TCA 不溶铜/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	0.18 \pm 0.16	0.15 \pm 0.06	0.19 \pm 0.04	0.21 \pm 0.11
Cp/ ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	38.53 \pm 3.93	37.00 \pm 2.06	45.14 \pm 8.13	40.79 \pm 12.44
CuZn-SOD/ ($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)	134.90 \pm 21.57	138.72 \pm 14.33	134.63 \pm 10.46	132.37 \pm 13.40

注:同行数据不同小写字母间差异显著 ($P < 0.05$),不同大写字母间差异极显著 ($P < 0.01$)。下同。

用形成难溶的化合物,从而降低了动物对铜的利用率。但碱式氯化铜在瘤胃中的溶解度很低^[3],这样就避开了硫、钼的拮抗作用,铜的吸收率提高,虽有肝脏的调节作用,结果仍使 TCA 可溶解铜随铜添加水平的升高而显著升高 ($P < 0.01$)。在不同的铜水平间,由于在瘤胃形成硫钼酸盐的条件一致,所以由瘤胃形成并吸收入血的硫钼酸盐量在铜水平间无明显变异,故 TCA 不溶性铜也无显著变化 ($P > 0.05$)。CuZn-SOD 和 Cp 活性可能由于体内存在自稳机制,从而使其活性在不同铜水平间保持相对稳定,所以在当前条件下,含铜酶活性并不能准确地反映机体的铜营养变化情况。但李淑清等^[8]在肉牛试验中发现高钼条件下,25 和 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 铜添加水平其 2 种酶的活性显著 ($P < 0.05$) 高于 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 添加水平,这可能是不同畜种的遗传差异造成的。

2.2 不同硫水平对血浆铜含量及含铜酶活性的影响

在高钼条件下,当铜处理一致时,饲喂不同水平的硫,并未引起血浆铜含量的显著变化(表 3)。有

研究报道,在高钼条件下向绵羊日粮中添加硫酸铜导致瘤胃中铜和钼溶解度的降低,说明硫酸铜在瘤胃中释放出的铜离子与瘤胃中的钼、硫发生互作,形成了难以吸收的复合物^[9]。碱式氯化铜由于在瘤胃中的溶解度很低,就可避开上述拮抗作用,使铜的吸收不受硫钼干扰,也使血浆铜含量变化不明显。尽管不同水平的硫不会影响碱式氯化铜中铜的吸收,但可以显著改变其 TCA 可溶解铜含量 ($P < 0.05$),随着硫水平的升高,TCA 溶解铜含量下降,但 TCA 不溶铜却显著提高 ($P < 0.01$),说明高硫水平降低了血浆中可利用铜的水平。这可能是由于高钼条件下,随日粮硫水平的提高,在瘤胃中形成的硫钼酸盐不断升高,其由胃肠道吸收入血后,与血液中的铜形成 TCA 不溶性复合物的缘故。同时,Cp 和 CuZn-SOD 活性伴随硫水平的升高似乎有降低的趋势,有研究认为 Cp 活性的降低是 Cp 合成障碍的结果^[10],或者由于 TCA 不溶复合物中的钼抑制了 Cp 活性^[11]。

表3 不同硫添加水平对血浆铜含量及含铜酶活性的影响

Table 3 Effects of sulfur supplemental levels on concentration of plasma Cu and activity of cuproenzyme in sheep fed high dietary molybdenum

测定指标	硫添加水平/ %			
	0	0.05	0.10	0.15
血浆铜/(mg L ⁻¹)	0.91 ±0.13	1.00 ±0.07	0.98 ±0.07	0.96 ±0.14
血浆 TCA 溶解铜/(mg L ⁻¹)	0.83 ±0.11 a	0.83 ±0.05 a	0.79 ±0.09 a	0.67 ±0.12 b
血浆 TCA 不溶铜/(mg L ⁻¹)	0.08 ±0.03 cB	0.17 ±0.05 bcAB	0.19 ±0.04 bAB	0.29 ±0.10 aA
Cp/(U L ⁻¹)	40.22 ±1.98	46.35 ±10.00	40.14 ±9.20	34.74 ±3.59
CuZn-SOD/(U mL ⁻¹)	140.03 ±23.01	137.97 ±9.07	128.89 ±12.00	133.73 ±11.58

2.3 不同铜水平对铜表观消化率及粗料消化能力的影响

试验结果(表4)表明,日粮中添加不同水平的碱式氯化铜对铜的表观消化率没有影响,但这并不说明不同水平碱式氯化铜的真消化率是相同的,因为动物内源铜主要通过胆汁排泄,很难将其与饲料中的未消化铜区分开来,所以铜的表观消化率受内源铜的影响很大。羊草 DM 及中性洗涤纤维

(NDF)消失率在同一时间点不同铜水平间也没有表现出显著差异,这也从侧面佐证碱式氯化铜在绵羊瘤胃内具有较低的溶解度,结果对瘤胃微生物种群基本没有任何影响。张崇玉等^[12]在肉牛试验中也发现高钼条件下在同一时间点不同的铜添加水平间纤维素消失率差异不显著($P > 0.05$),与本试验结果一致。

表4 不同铜添加水平对铜表观消化率及粗料消化能力的影响

Table 4 Effects of copper supplemental levels on apparent digestibility of copper (Cu) and digestion of Chinese aneurolepidium in sheep fed high dietary molybdenum

项目	时间/h	硫添加水平/ %			
		0	0.05	0.10	0.15
铜表观消化率/ %		14.79 ±9.82	12.49 ±12.00	11.15 ±3.38	15.03 ±7.57
DM 消失率/ %	24	38.36 ±1.90	36.35 ±2.58	34.76 ±3.12	39.01 ±3.40
	36	39.64 ±6.10	40.50 ±0.67	38.57 ±4.47	42.92 ±5.60
	48	48.19 ±7.80	43.00 ±5.45	46.44 ±6.30	48.16 ±1.68
	72	54.02 ±3.76	51.35 ±3.54	51.85 ±4.97	57.29 ±1.45
NDF 消失率/ %	24	19.98 ±3.76 ab	18.60 ±3.65 ab	16.55 ±4.97 b	25.84 ±4.23 a
	36	23.77 ±7.86	24.40 ±2.78	22.06 ±7.40	27.44 ±7.83
	48	35.37 ±9.94	27.89 ±7.83	31.98 ±8.50	35.70 ±3.30
	72	43.15 ±4.47	39.87 ±6.39	40.35 ±7.95	47.81 ±2.68

2.4 不同硫水平对铜表观消化率及粗料消化能力的影响

高钼条件下,不同硫水平对铜表观消化率未产生显著影响($P > 0.05$)(表5)。由于瘤胃微生物转化产生的 S^{2-} 主要在瘤胃吸收,而碱式氯化铜在瘤胃内环境中的溶解度很低,所以 S^{2-} 和铜结合产生不溶性硫化铜的几率大大降低,高硫对铜的消化吸

收产生的影响很小。羊草 DM 及 NDF 消失率在不同硫水平间也差异不显著($P > 0.05$),说明在当前条件下,硫既不能直接影响也不能通过改变铜代谢对羊草 DM 及 NDF 消失率产生影响。但王娜^[13]认为硫的添加可以提高内蒙古白绒山羊对青干草中 DM 的瘤胃降解率,这可能是遗传差异造成的结果。

表5 不同硫添加水平对铜表观消化率及粗料消化能力的影响

Table 5 Effects of sulfur supplemental levels on apparent digestibility of copper (Cu) and digestion of Chinese aneurolepidium in sheep fed high dietary molybdenum

项 目	时间/h	硫添加水平/ %			
		0	0.05	0.10	0.15
铜表观消化率/ %		15.18 ±9.22	15.91 ±7.45	6.60 ±7.28	15.77 ±6.92
DM 消失率/ %	24	38.12 ±3.08	36.71 ±2.97	36.21 ±3.67	37.43 ±3.46
	36	41.05 ±4.00	42.07 ±8.89	39.85 ±7.19	38.65 ±5.05
	48	49.31 ±7.12	46.28 ±7.34	45.07 ±4.85	45.14 ±3.89
	72	56.04 ±1.91	53.96 ±5.46	51.66 ±4.59	52.84 ±3.79
NDF 消失率/ %	24	24.48 ±5.48	18.63 ±4.10	18.77 ±5.14	19.07 ±5.32
	36	26.19 ±5.79	25.64 ±3.28	23.37 ±10.04	22.48 ±6.93
	48	36.89 ±8.68	32.04 ±9.76	30.90 ±7.12	31.10 ±6.59
	72	45.69 ±2.48	43.24 ±7.45	40.24 ±7.86	42.02 ±6.30

注:同行数据间差异均不显著($P>0.05$)。

3 结 论

碱式氯化铜作为新近开发的铜源,在猪鸡等单胃动物的应用实践证明,其生物学利用率高于硫酸铜^[14],然而在养羊生产中研究报道的很少,故对碱式氯化铜作为绵羊饲料铜源的性能知之甚少,本试验的研究表明,在高钼条件下,碱式氯化铜由于其独特的理化性质即在瘤胃中的溶解度很低而在后肠道的溶解度很高,一方面避开了瘤胃中硫、钼的拮抗作用,另一方面又不影响其在后肠道的消化吸收,与常用饲料铜源如硫酸铜、氧化铜等相比,碱式氯化铜应用效果良好,是绵羊比较理想的无机饲料铜源。

参 考 文 献

- [1] 戴卓见. 反刍动物铜营养缺乏与代谢[J]. 饲料营养杂志, 1995(7):84~99
- [2] 彭玉麟. 不同无机硫对内蒙古白绒山羊消化代谢及产绒性能的影响[D]. 北京:中国农业大学, 2000
- [3] 杨维仁,李淑青,张崇玉,等. 肉牛铜源的选择与生物学利用率的研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2000,31(增刊):13~18
- [4] 贾志海. 现代养羊生产[M]. 北京:中国农业大学出版社,1999. 222~225
- [5] 郜玉刚,金顺丹,马丽娟,等. 尼龙袋法评定鹿常用饲料的营养价值[J]. 中国畜牧杂志,1996,32(6):15~18.
- [6] 杨胜. 饲料分析及饲料质量检测技术[M]. 北京:北京

农业大学出版社,1993. 59~60

- [7] Moshtaghinia S A, Devlin T J, Phillips G D. Influence of dietary copper, molybdenum and sulfur on copper metabolism of sheep[J]. Can J Anim Sci, 1989, 69:187~194
- [8] 李淑青,杨维仁,张崇玉,等. 饲料中不同钼铜水平对肉牛血清铜蓝蛋白和过氧化物歧化酶活性影响的研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2000, 31(增刊):19~23
- [9] Ivan M, Veira D M. Effects of copper sulfate supplement on growth, tissue concentration and ruminal solubilities of molybdenum and copper in sheep fed low and high molybdenum diets[J]. J Dairy Sci, 1985, 68:891~896
- [10] Lamand M, Lab C, Tressoland J C, et al. Biochemical parameters useful for the diagnosis of mild molybdenosis in sheep[J]. Ann Rech Vet, 1980, 11:141~145
- [11] Mason J, Lamand M, Kelleher C A. The fate of Mo-labelled sodium tetrathiomolybdate after duodenal administration in sheep: The effect on ceruloplasmin (EC 1.16.3.1) diamine oxidase activity and plasma copper[J]. Br J Nutr, 1980, 43:515~523
- [12] 张崇玉,李淑青,杨维仁,等. 不同钼铜水平对肉牛纤维索降解率影响的研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2000, 31(增刊):7~12
- [13] 王娜. 内蒙古白绒山羊日粮适宜氮硫比的综合评定[D]. 北京:中国农业大学,1999
- [14] 邹仕庚,邱深本,吴林,等. 饲料新铜源碱式氯化铜[J]. 广东饲料, 2003, 12(6):38~39