

冷季补饲对藏羊小肠形态发育及营养物质转运载体基因表达量的影响

景小平¹, 彭全辉¹, 胡瑞¹, 李倩¹, 周婷¹, 裴朝曦¹,
赵索南², 杨涛², 马朝银², 王之盛^{1*}

(1. 四川农业大学动物营养研究所, 雅安 625014; 2. 海北高原现代生态畜牧业科技试验示范园, 海北 810299)

摘要: 本试验旨在研究冷季补饲精料或尿素-糖蜜型舔砖对藏羊小肠组织形态发育及营养物质转运载体基因表达量的影响。选择 1.5 岁、体重(29.4 ± 1.79 kg)相近的健康藏系绵羊母羊 18 头, 随机分为对照组(CON 组)、尿素-糖蜜型舔砖补饲组(BS 组)和精料补饲组(CS 组)。CON 组自由采食燕麦干草, BS 组在 CON 组基础上自由舔食尿素-糖蜜型舔砖, CS 组在 CON 组基础上补饲精料 $200 \text{ g} \cdot \text{只}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。进行 60 d 的饲养试验后, 对全部试验藏羊进行屠宰, 采集小肠各段组织, 通过制作组织切片及荧光定量 PCR, 测定小肠组织形态发育和营养物质转运载体基因表达量。结果表明: (1) 补饲精料或舔砖均显著提高了藏羊消化能和粗蛋白质摄入量($P < 0.05$), 且 CS 组显著高于 BS 组($P < 0.05$); (2) 补饲精料或舔砖均显著提高了藏羊十二指肠、空肠及回肠绒毛宽度($P < 0.05$), 且 CS 组均显著大于 BS 组($P < 0.05$), 补饲精料还显著提高了十二指肠和回肠绒毛高度($P < 0.05$), 显著降低了空肠和回肠隐窝深度($P < 0.05$); (3) 胰岛素样生长因子结合蛋白 5 (Insulin-like growth factor binding protein, *IGFBP5*) mRNA 表达量在十二指肠和空肠黏膜中 CS 和 BS 组均显著高于 CON 组($P < 0.05$), 且 CS 组显著高于 BS 组($P < 0.05$), 在回肠黏膜中 CS 组显著高于 BS 和 CON 组($P < 0.05$); (4) 十二指肠黏膜中 L 型氨基酸转运载体 1 (L-type amino acid transporter 1, *LAT1*)、阳离子氨基酸转运载体 1 (Cationic amino acid transporters 1, *CAT1*)、小肽转运载体 1 (Peptides transporter 1, *pepT1*)、钠依赖型葡萄糖转运载体 1 (Na^+ -dependent glucose co-transporter 1, *SGLT1*) 及促葡萄糖转运载体 2 (Facilitative glucose transporter 2, *GLUT2*) mRNA 表达量 CS 组显著高于 BS 和 CON 组($P < 0.05$), 空肠黏膜中 *CAT1*、*pepT1* mRNA 表达量和回肠黏膜中 *CAT1*、*LAT1*、*SGLT1* 及 *GLUT2* mRNA 表达量, BS 组显著高于 CS 和 CON 组($P < 0.05$)。以上结果表明, 冷季补饲精料或尿素-糖蜜型舔砖均增加了藏羊对能量和蛋白质等营养物质的摄入量, 促进了小肠组织形态发育, 补饲精料提高了十二指肠黏膜中氨基酸、小肽及葡萄糖转运载体基因 mRNA 的表达量, 而补饲尿素-糖蜜型舔砖提高了其在空肠和回肠黏膜中的表达量。

关键词: 藏羊; 冷季补饲; 小肠形态发育; 营养物质转运载体

中图分类号: S826.83; S815.3

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2017)02-0260-12

Effects of Supplementation in Cold Season on Morphological Development of Small Intestine and the Expression of Nutrient Transporter Gene

JING Xiao-ping¹, PENG Quan-hui¹, HU Rui¹, LI Qian¹, ZHOU Ting¹, PEI Zhao-xi¹,
ZHAO Suo-nan², YANG Tao², MA Chao-yin², WANG Zhi-sheng^{1*}

(1. Animal Nutrition Institute, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China; 2. Haibei Demonstration Zone of Plateau Modern Ecological Husbandry Science and Technology, Haibei 810299, China)

Abstract: The objective of this study was to investigate the effect of supplement urea-molasses lick block or concentrate on morphological development of small intestine and the expression of nutri-

收稿日期: 2016-06-16

基金项目: 青藏高原社区畜牧业行业科技项目(201203008)

作者简介: 景小平(1990-), 男, 甘肃靖远人, 硕士生, 主要从事反刍动物营养研究, E-mail: jingxp0228@163.com

* 通信作者: 王之盛, 教授, 博士生导师, 主要从事反刍动物营养研究, E-mail: zswangsicau@126.com

ent transporter gene. Eighteen healthy, 1.5-year-old Tibetan sheep ewes ((29.4 ± 1.79) kg) were selected and randomly assigned into control group (CON group), urea-molasses lick block supplementation group (BS group) or concentrate supplementation group (CS group). The CON group were provided with oat hay *ad libitum*, the BS group were provided with oat hay *ad libitum* and supplemented with lick block *ad libitum*, the CS group were provided with oat hay *ad libitum* and supplemented with concentrate (200 g/sheep/day), during 60 days feeding experiment period. All ewes were slaughtered after the feeding trial. Sampled each segment of the small intestine, and then, the morphological development and nutrient transporter gene expression of small intestine were measured through making sections of small intestine tissue and fluorescence quantitative PCR. The results showed as follows: (1) Supplementation with concentrate or lick block significantly increased the intake of digestible energy and crude protein of Tibetan sheep ($P < 0.05$), and the CS group was significantly higher than the BS group ($P < 0.05$); (2) Supplementation with concentrate or lick block significantly enhanced the villus width of duodenum, jejunum and ileum of Tibetan sheep ($P < 0.05$), and the CS group was significantly higher than the BS group ($P < 0.05$), and the villus height of duodenum and ileum were significantly enhanced and the crypt depth of jejunum and ileum were significantly reduced in the CS group compared with the CON group ($P < 0.05$); (3) The relative expression of insulin-like growth factor binding protein 5 (IGFBP5) mRNA in both of the duodenum and jejunum mucosa were significantly enhanced in both of the CS and BS groups compared with the CON group ($P < 0.05$), and the CS group was significantly higher than the BS group ($P < 0.05$), and in the ileum mucosa the CS group was significantly higher than both of the BS and CON groups ($P < 0.05$); (4) The CS group had the higher relative expression levels of cationic amino acid transporters 1 (CAT1), L-type amino acid transporter 1 (LAT1), peptides transporter 1 (pepT1), Na^+ -dependent glucose co-transporter 1 (SGLT1) and facilitative glucose transporter 2 (GLUT2) mRNA in duodenum mucosa compared with the BS and CON groups ($P < 0.05$). The CAT1, pepT1 mRNA relative expression in jejunum mucosa and the CAT1, LAT1, SGLT1 and GLUT2 mRNA relative expression in the ileum mucosa in the BS group were significantly higher than both of the CS and CON groups ($P < 0.05$). We concluded that supplementation with urea-molasses lick block or concentrate increased the intake of energy and protein of Tibetan sheep in cold season, and promoted the morphological development of small intestine, and the expression of transporter gene mRNA of amino acids, peptides and glucose were enhanced in duodenum mucosa by supplementation with concentrate and they were enhanced in both of the jejunum and ileum mucosa by supplementation with urea-molasses lick block.

Key words: Tibetan sheep; supplementation in cold season; morphological development of small intestine; the transporter of nutrient

动物机体的生长发育不但与营养物质的摄入量有关,而且与其对营养物质的消化吸收能力密切相关。小肠是动物对营养物质消化吸收的重要器官,对于反刍动物而言,饲料中未被瘤胃发酵消化的蛋白质和非结构性碳水化合物及微生物蛋白质,进入小肠后由小肠进行进一步消化吸收。进入小肠的蛋白质和非结构性碳水化合物等在小肠消化酶的作用

下,被降解为氨基酸、小肽及单糖等,并由小肠上皮细胞中相应的氨基酸、小肽^[1-3]及单糖^[4-7]转运载体转运进入血液循环供机体代谢使用。研究表明,小肠对营养物质的消化吸收能力,受小肠组织形态发育状况及营养物质转运载体数量和活性等因素的影响,而小肠组织形态的发育受营养物质摄入水平的调控^[8-10],且小肠腔中的营养物质浓度可调节其相

应转运载体的表达量^[11]。

藏羊(*Ovis aries*)是我国青藏高原上特有的绵羊品种,是产区牧民的主要生产和生活资料,是青藏高原数量最多的家畜^[12]。但是由于青藏高原特殊的自然环境和气候条件,牧草的生长期短而枯草期长(10月至翌年4月),草场超载,草畜矛盾日益加剧^[13-14],藏羊终年放牧的传统饲养管理方式,以及冷季牧草的营养价值降低^[15-16]等,造成藏羊对营养物质的摄入长期不足,生长、发育受阻,生产效率低下^[17-20]。有研究报道指出,能量或蛋白质限饲,显著阻碍了小肠组织形态发育,且能量与蛋白质共同缺乏时,其对小肠组织形态发育的阻碍更加严重^[21]。大量研究报道,冷季对藏羊补饲不但能显著降低冷季藏羊体重损失,且可显著提高其暖季放牧增重^[19,22-26],但目前对于从冷季补饲对藏羊小肠组织形态发育及营养物质转运载体基因表达量影响等层面的研究鲜有报道,因此本试验旨在通过研究补饲尿素-糖蜜型舔砖或精料两种营养补充方式,对藏羊小肠组织形态发育及小肠黏膜中营养物质转运载体基因表达量的影响,为藏羊的科学饲养及提高藏羊生产效率提供试验依据。

1 材料与方 法

1.1 试验动物与试验设计

选择1.5岁、体重((29.4±1.79) kg)和体况等相近的健康藏系绵羊母羊18只,采用单因素试验设计,随机分为3个处理组,分别为对照组(CON组)、尿素-糖蜜型舔砖补饲组(BS组)和精料补饲组(CS组),每个处理6个重复,每个重复1只羊。CON组自由采食燕麦干草,BS组在CON组基础上自由舔食尿素-糖蜜型舔砖,CS组在CON组基础上补饲精料200 g·只⁻¹·d⁻¹,精料补饲量参考佟瑛等^[26]的研究结果而确定。试验分为动物饲养试验和屠宰试验。饲养试验分预饲期7 d和正试期60 d,饲养试验结束后对全部试验藏羊进行屠宰试验。

1.2 试验饲粮

精料补充料和尿素-糖蜜型舔砖均参照中国肉羊饲养标准(2004)配制。精料补充料主要由玉米、小麦麸、菜籽粕、豆粕、菜籽油、食盐和预混料等组成,尿素-糖蜜型舔砖主要由尿素、糖蜜、玉米、菜籽粕、小麦麸、食盐、碳酸钙、磷酸氢钙、膨润土、预混料等组成。饲粮营养水平见表1(配方由于专利申请需要未列出)。

表1 燕麦干草、尿素-糖蜜型营养舔砖和精料营养水平(风干基础)

Table 1 Nutrient levels of oat hay, urea-molasses lick block and concentrate (air-dry basis)

项目 Item	燕麦干草 Oat hay	舔砖 Lick block	精料 Concentrate
干物质/(g·kg ⁻¹)DM	920.00	941.00	925.20
消化能/(MJ·kg ⁻¹)DE ¹⁾	9.56	6.81	13.00
粗蛋白质/(g·kg ⁻¹)CP	92.00	306.30	157.90
酸性洗涤纤维/(g·kg ⁻¹)ADF	358.80	19.10	69.19
中性洗涤纤维/(g·kg ⁻¹)NDF	579.60	43.85	154.38
钙/(g·kg ⁻¹)Ca	3.68	29.96	5.37
磷/(g·kg ⁻¹)P	2.48	18.17	3.73
铁/(mg·kg ⁻¹)Fe	72.12	2 038.82	85.00
铜/(mg·kg ⁻¹)Cu	8.64	262.31	18.00
锰/(mg·kg ⁻¹)Mn	26.69	478.14	38.00
锌/(mg·kg ⁻¹)Zn	19.12	489.33	50.00
碘/(mg·kg ⁻¹)I	0.23	9.96	1.50
钴/(mg·kg ⁻¹)Co	0.05	2.17	0.30
硒/(mg·kg ⁻¹)Se	0.07	1.03	0.28

¹⁾ 消化能为计算值,其余为实测值

¹⁾ DE is a calculated value and others are measured values

1.3 饲养管理

试验开始前对试验所用圈舍及饲喂用具进行清洁及消毒,所有试验藏羊注射伊维菌素驱虫,并佩戴耳标。预饲期结束后,试验藏羊每头单栏饲养,每天在 08:00 和 16:00 分 2 次饲喂,并记录投喂量及剩余量。BS 组所补饲尿素-糖蜜型舔砖置于料槽中自由舔食,并定期称重,计算舔食量。CS 组所补饲精料在每天 08:00 饲喂。所有试验藏羊自由饮水。羊舍每天打扫 1 次,每周消毒 1 次。

1.4 样品采集

1.4.1 饲料样品采集 每天记录所有试验藏羊的采食量,并每星期采集供给试验藏羊采食的燕麦干草 200 g,采集用于试验藏羊补饲的每块尿素-糖蜜型舔砖各 100 g,采集每袋精料中处于饲料袋内上、中、下 3 个部位的精料各 100 g, -20 °C 条件下保存,用于营养水平测定。

1.4.2 小肠组织样品采集 所有试验藏羊屠宰后,立即分离出十二指肠、空肠和回肠。参照 Y. H. Wang 等^[27]分别取十二指肠、空肠和回肠中段各 1 cm 置于 4% 多聚甲醛固定液中,用于组织形态学的测定。另外再各取 5 cm 用生理盐水冲洗食糜后,用载玻片刮取黏膜,并于 1.5 mL 离心管分装后置于液氮中,之后转入 -80 °C 保存,用于 mRNA 表达量的测定。

1.5 测定指标与方法

1.5.1 饲料营养水平测定 饲料中的干物质(DM)、粗蛋白质(CP)、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)、钙(Ca)和磷(P)含量参照张丽英《饲料分析及饲料质量检测技术》的方法测定^[28]。饲料中的铁(Fe)、铜(Cu)、锰(Mn)、锌(Zn)、碘(I)、钴(Co)和硒(Se)含量采用原子吸收光谱法并参照 GB/T13885-2003^[29]测定,原子吸收光谱仪为 CON-TAA700 型(德国耶拿)。

1.5.2 小肠组织形态测定 将固定于 4% 多聚甲醛固定液中的小肠组织样用蒸馏水冲洗干净后,依次置于 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 85%, 95% 和 100% 的无水乙醇溶液中脱水,然后依次置于 25%, 50%, 75% 和 100% 的二甲苯溶液(无水乙醇配制)中透明,之后用石蜡包埋,切片机(RM2235, 德国莱卡)切片,厚度为 5 μm,每个组织样选取 4 片用苏木精/伊红染色法(H&E)进行染色^[27]。组织切片在显微镜(E400, 日本尼康)下观察,并在每张切片中随机选取 10 个视野拍照,使用 Image-Pro

Plus 6.0 软件测量每个视野照片中的绒毛高度、绒毛宽度、绒毛表面积和隐窝深度。

1.5.3 总 RNA 提取和 mRNA 表达量测定 使用 Trizol(宝生物, 中国大连)法提取总 RNA,并用蛋白核酸测定仪(DU800, 美国贝克曼)和 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 浓度和质量后,利用反转录试剂盒(宝生物, 中国大连)反转录制备 cDNA,并以其为模板使用荧光定量 PCR 试剂盒(宝生物, 中国大连)并参照其说明书进行荧光定量 PCR 扩增。荧光定量 PCR 仪为 CFX96 型(美国伯乐),反应体系为 12.5 μL(SYBR 6.5 μL, 上游引物 0.5 μL, 下游引物 0.5 μL, cDNA 1 μL, dH₂O 4 μL)。反应程序: 95 °C 2 min; 95 °C 10 s, 退火温度(表 2)30 s, 39 个循环; 72 °C 30 s, 在 65~95 °C 绘制熔解曲线。引物采用 Primer5 软件设计,由宝生物(中国大连)工程有限公司合成,引物序列及参数见表 2。mRNA 表达量数据采用 2^{-ΔΔCt} 法计算^[30]。

1.6 数据分析

试验数据用 EXCEL 2013 初步整理统计后,采用 SPSS 22.0 进行单因素 ANOVA 模型方差分析,并用 Duncan 法进行多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 冷季补饲对藏羊营养物质摄入量的影响

由表 3 可知,CS 组干物质采食量(DMI)显著高于 CON 组($P < 0.05$)。CS 和 BS 组每天消化能摄入量分别比 CON 组多 29.68% 和 11.37% ($P < 0.05$),粗蛋白质摄入量分别比 CON 组多 40.00% 和 20.00% ($P < 0.05$),且 CS 组每天消化能和粗蛋白质摄入量比 BS 组多 16.44% 和 16.67% ($P < 0.05$)。CS 和 BS 组总微量元素每天摄入量分别比 CON 组多 16.74% 和 49.12% ($P < 0.05$),且 BS 组比 CS 组多 27.74% ($P < 0.05$)。冷季补饲精料或尿素-糖蜜型舔砖均显著提高了藏羊对能量、蛋白质及矿物元素的摄入量。

2.2 冷季补饲对藏羊小肠形态发育的影响

由表 4、图 1、图 2、图 3 可以看出,十二指肠绒毛宽度、绒毛表面积和绒毛高度/隐窝深度 CS 组和 BS 组均显著大于 CON 组,且 CS 组显著大于 BS 组 ($P < 0.05$),隐窝深度 CS 和 BS 组均显著小于 CON 组,且 CS 组显著小于 BS 组 ($P < 0.05$),且十二指肠绒毛高度 CS 组显著高于 BS 和 CON 组 ($P < 0.05$)。空肠绒毛宽度和表面积 CS 和 BS 组均显著

表 2 引物序列及参数

Table 2 Primer sequences and parameters

目的基因 Target gene	基因序列号 GenBank ID	引物序列(5'→3') Primer sequence	产物大小/bp Products size	退火温度/°C Annealing temperature
<i>IGFBP5</i>	NM_001159276.1	F: AGTCCAAGCATGAGACAGAATACG R: TCAGGTTCGACTCTGTCTTATGC	112	55.5
<i>SGLT1</i>	NM_001009404	F: ACCACCCATCGCAGCAGTCT R: TGGTGGGTAGCGTCGTCAGA	120	54.5
<i>GLUT2</i>	AJ318925.1	F: CCAGGAGGTCCAACACCAGTCT R: GGTCCCTCCAGGTTGTGGTCAGA	176	56.7
<i>LAT1</i>	AY162432.1	F: CCACCTTCCCTCCATCCTCT R: GGTGGAAGGGAGGTAGGAGA	100	55.5
<i>CAT1</i>	XM_012184646.1	F: ACCTAATGTCCATCGGCACTCT R: TGGATTACAGGTAGCCGTGAGA	161	57.5
<i>pepT1</i>	NM_001009758.1	F: TACACCATTGGGCAGGTAGTCA R: ATGTGGTAACCCGTCCATCAGT	163	55.5
<i>βactin</i>	U39357.1	F: ATCGGCAATGAGCGTTCC R: TAGCCGTTACTCGCCAAGG	137	56.0

表 3 藏羊营养物质摄入量

Table 3 The nutrients intake of Tibetan sheep

项目 Item	组别 Group			SEM	P 值 P-value
	CON 组 CON group	BS 组 BS group	CS 组 CS group		
饲料平均日采食量 Daily intake of diets					
燕麦干草/kg Oat hay	1.18	1.22	1.07	0.04	0.260
舔砖/g Lick block		21.00		1.13	
精料/g Concentrate			200.00		
营养物质平均日采食量 Daily intake of nutrients					
干物质/kg DM	0.96 ^b	1.07 ^{ab}	1.17 ^a	0.04	0.112
消化能/MJ DE ¹⁾	9.94 ^c	11.07 ^b	12.89 ^a	0.39	0.001
粗蛋白质/kg CP	0.10 ^c	0.12 ^b	0.14 ^a	0.01	0.007
酸性洗涤纤维/kg ADF	0.42	0.43	0.40	0.02	0.357
中性洗涤纤维/kg NDF	0.68	0.70	0.65	0.02	0.453
钙/g Ca	4.34 ^b	5.11 ^a	5.02 ^a	0.15	0.043
磷/g P	2.93 ^b	3.42 ^a	3.40 ^a	0.11	0.044
平均日采食微量元素总量/mg The total daily intake of trace minerals	149.77 ^c	223.34 ^a	174.84 ^b	11.22	<0.000 1

¹⁾ 消化能为计算值,其余为实测值。同行数据中不同小写字母肩标表示差异显著($P < 0.05$),无字母或相同字母肩标表示差异不显著($P > 0.05$)。下表同

¹⁾ DE is a calculated value and others are measured values. In the same row, values with different small letter superscripts showed significant difference ($P < 0.05$), while with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$). The same as below

表 4 冷季补饲对藏羊小肠形态发育的影响

Table 4 Effects of supplementation on the development of intestine morphology of Tibetan sheep in cold season

项目 Item	组别 Group			SEM	P 值 P-value
	CON 组 CON group	BS 组 BS group	CS 组 CS group		
十二指肠 Duodenum					
绒毛高度/ μm Villus height	636.49 ^b	670.33 ^b	742.93 ^a	13.43	<0.000 1
绒毛宽度/ μm Villus width	108.29 ^c	129.82 ^b	155.37 ^a	5.24	<0.000 1
绒毛表面积/ μm^2 Villus surface	55 783.55 ^c	75 704.53 ^b	96 148.50 ^a	3 632.24	<0.000 1
隐窝深度/ μm Crypt depth	249.56 ^a	231.14 ^b	215.54 ^c	4.58	0.002
绒毛高度/隐窝深度 V/C	2.55 ^c	2.89 ^b	3.44 ^a	0.11	<0.000 1
空肠 Jejunum					
绒毛高度/ μm Villus height	546.77 ^b	565.88 ^{ab}	580.86 ^a	5.54	0.021
绒毛宽度/ μm Villus width	108.51 ^c	117.50 ^b	136.17 ^a	3.22	<0.000 1
绒毛表面积/ μm^2 Villus surface	46 555.04 ^b	56 278.53 ^a	61 077.64 ^a	2 001.92	<0.000 1
隐窝深度/ μm Crypt depth	239.01 ^a	232.79 ^a	217.26 ^b	3.63	0.021
绒毛高度/隐窝深度 V/C	2.30 ^b	2.41 ^b	2.66 ^a	0.05	0.007
回肠 Ileum					
绒毛高度/ μm Villus height	447.91 ^b	473.83 ^b	526.94 ^a	11.44	0.001
绒毛宽度/ μm Villus width	112.83 ^c	127.30 ^b	146.43 ^a	4.43	<0.000 1
绒毛表面积/ μm^2 Villus surface	44 788.80 ^b	46 975.47 ^b	54 307.34 ^a	1473.04	0.002
隐窝深度/ μm Crypt depth	227.70 ^a	214.53 ^a	193.77 ^b	4.95	0.003
绒毛高度/隐窝深度 V/C	1.97 ^c	2.21 ^b	2.72 ^a	0.10	<0.000 1

大于 CON 组 ($P < 0.05$), 且绒毛宽度 CS 组显著大于 BS 组 ($P < 0.05$)。空肠隐窝深度 CS 组显著小于 BS 和 CON 组 ($P < 0.05$)。空肠绒毛高度和绒毛高度/隐窝深度 CS 组显著大于 CON 组 ($P < 0.05$)。回肠绒毛高度和绒毛表面积, CS 组显著大于 BS 和 CON 组 ($P < 0.05$)。回肠绒毛宽度和绒毛高度/隐窝深度 CS 和 BS 组均显著大于 CON 组 ($P < 0.05$), 且 CS 组显著大于 BS 组 ($P < 0.05$)。隐窝深度 CS 组显著小于 BS 和 CON 组 ($P < 0.05$)。

2.3 冷季补饲对藏羊小肠黏膜中 IGFBP5 mRNA 表达量的影响

由图 4 可知, 胰岛素样生长因子结合蛋白 5 (Insulin-like growth factor binding protein 5, IGFBP5) mRNA 表达量在十二指肠和空肠黏膜中 CS 和 BS 组均显著高于 CON 组 ($P < 0.05$), 且 CS 组显著高于 BS 组 ($P < 0.05$), 在回肠黏膜中 CS 组显著高于 BS 和 CON 组 ($P < 0.05$)。

2.4 冷季补饲对藏羊小肠黏膜中营养物质转运载体 mRNA 表达量的影响

由图 5 可知, 在十二指肠黏膜中, L 型氨基酸转

运载体 1 (L-type amino acid transporter 1, LAT1)、阳离子氨基酸转运载体 1 (Cationic amino acid transporters 1, CAT1)、和小肽转运载体 1 (Peptides transporter 1, *pepT1*) mRNA 表达量 CS 组显著高于 BS 和 CON 组 ($P < 0.05$)。在空肠黏膜中, CAT1 和 *pepT1* mRNA 表达量 BS 组显著高于 CS 和 CON 组 ($P < 0.05$), LAT1 mRNA 表达量 CS 组显著高于 BS 和 CON 组。在回肠黏膜中, CAT1 和 LAT1 mRNA 表达量 BS 组显著高于 CS 和 CON 组 ($P < 0.05$), *pepT1* mRNA 表达量 CS 和 BS 组均显著高于 CON 组 ($P < 0.05$), 且 CS 组显著高于 BS 组 ($P < 0.05$)。

由图 6 可知, 在十二指肠黏膜中, 钠依赖型葡萄糖转运载体 1 (Na^+ -dependent glucose co-transporter 1, SGLT1) 和促葡萄糖转运载体 2 (Facilitative glucose transporter 2, GLUT2) mRNA 表达量 CS 组显著高于 CON 和 BS 组 ($P < 0.05$)。在空肠黏膜中, SGLT1 mRNA 表达量 BS 组显著高于 CON 组 ($P < 0.05$), GLUT2 mRNA 表达量 CS 显著高于 BS 和 CON 组 ($P < 0.05$)。在回肠黏膜中,

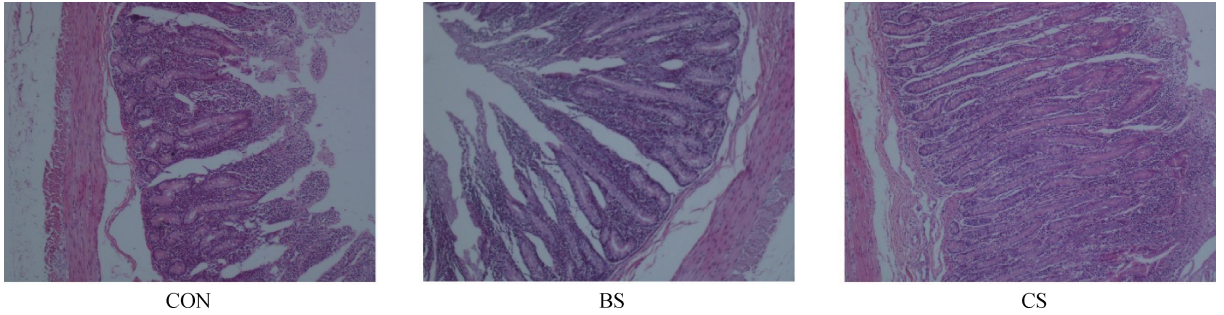


图 1 十二指肠组织形态切片(10×)

Fig. 1 Duodenum morphological sections(10×)

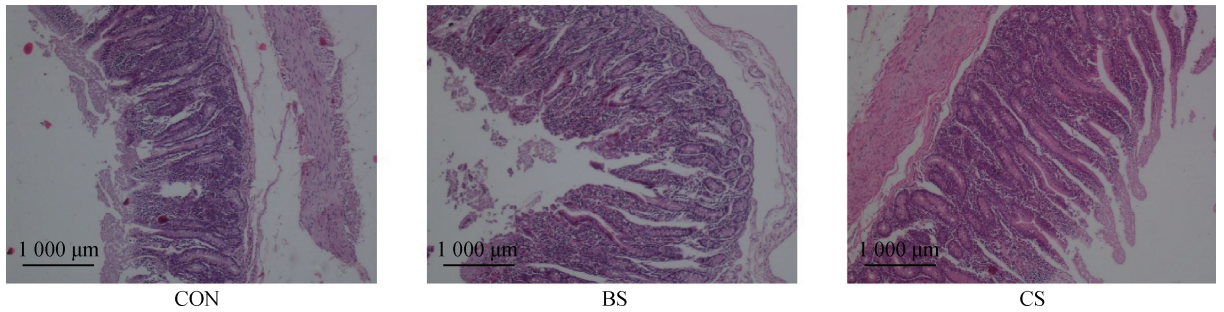


图 2 空肠组织形态切片

Fig. 2 Jejunum morphological sections

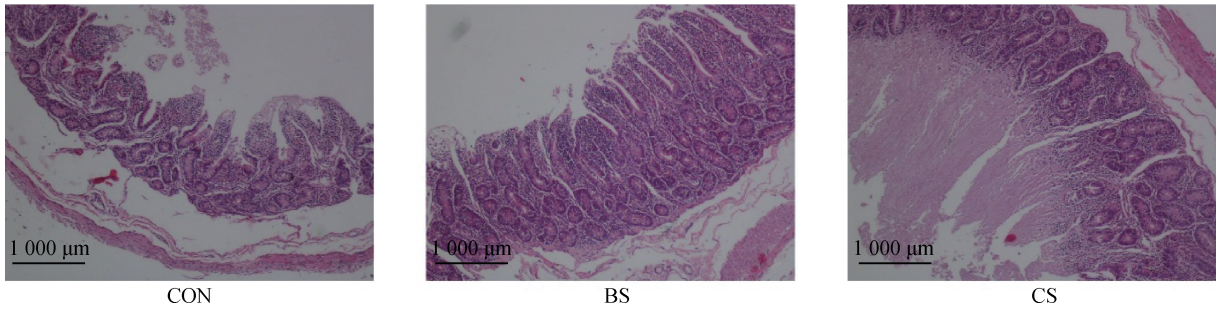


图 3 回肠组织形态切片

Fig. 3 Ileum morphological sections

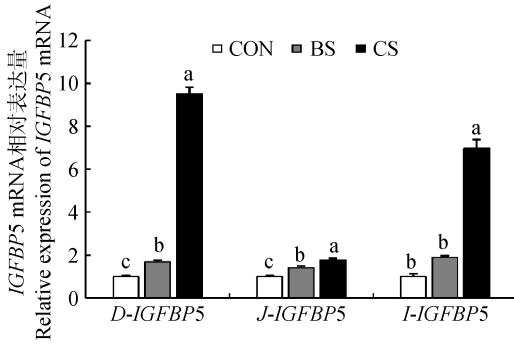
SGLT1 和 GLUT2 mRNA 表达量 BS 组显著高于 CS 和 CON 组($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 冷季补饲对藏羊小肠组织形态发育的影响

前期研究表明,藏羊平均日增重 CS 组是 BS 组的 1.63 倍,是 CON 组的 3.22 倍,BS 组是 CON 组的 1.98 倍^[31],冷季补饲尿素-糖蜜型舔砖或精料均显著提高了藏羊在冷季的生长性能。动物生长性能的发挥不但与其营养物质摄入量有关,而且与其对营养物质的消化吸收能力密切相关。小肠是动物机体对营养物质消化吸收的主要器官,小肠组织形态

的发育状况是决定其消化吸收功能发挥的关键,进而影响其生长性能。小肠绒毛高度、宽度、表面积、隐窝深度及绒毛高度/隐窝深度是反映小肠组织形态结构的直接指标。小肠绒毛是小肠对营养物质转运吸收的主要部位,小肠绒毛越高,分布均匀整齐,表面积越大,隐窝深度越小,小肠对营养物质的吸收功能就越强^[32]。研究表明,蛋白质或能量缺乏可阻碍小肠组织形态的发育,且当能量和蛋白质摄入恢复正常后,小肠组织形态视其营养缺乏程度随之不同程度的逐渐恢复发育^[21,33-34],且饲料中蛋白质来源、蛋白水平及碳水化合物组成等,均可显著影响动物小肠组织形态发育水平^[8,10]。本研究中,CS和BS



D. 十二指肠黏膜;J. 空肠黏膜;I. 回肠黏膜。不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),相同小写字母表示差异不显著($P > 0.05$)。下图同

D. Duodenal mucosa; J. Jejunum mucosa; I. Ileum mucosa. Different lowercase letters indicate the statistically significant difference ($P < 0.05$), the same lowercase letters mean no significant difference ($P > 0.05$). The same as below

图 4 冷季补饲对藏羊小肠黏膜中 IGFBP5 mRNA 表达量的影响

Fig. 4 Effects of supplementation in cold season on the relative expression of IGFBP5 mRNA in intestine mucosa of Tibetan sheep

组十二指肠、空肠和回肠绒毛高度、宽度、表面积以及绒毛高度/隐窝深度均不同程度的大于 CON 组,且 CS 组大于 BS 组。这与能量和蛋白质摄入量 CS 和 BS 组均显著高于 CON 组,且 CS 组高于 BS 组相一致。BS 组所补充摄入的尿素-糖蜜型舔砖与 CS 组所补充摄入的精料相比,其含有更多的能被瘤胃微生物迅速发酵降解的可溶性糖和非蛋白氮,其经瘤胃发酵到达小肠的部分较少,在小肠进一步消化所产生的氨基酸和葡萄糖较 CS 组少,而精料中的玉米、豆粕等在瘤胃的降解速率相比尿素和糖蜜较慢,经瘤胃发酵后进入小肠的部分较多,CS 与 BS 组小肠组织形态发育的差异可能与其营养物质摄入量及尿素-糖蜜型舔砖和精料的消化降解特性有关。胃肠道的发育受营养水平、环境及饲养管理等诸多因素的影响,而这些外在因素对机体生长发育的影响最终是通过神经内分泌来调控,其中胰岛素样生长因子(IGF)发挥着关键作用^[10],而 IGFBP5 可调控 IGF 的运输和在特定组织及细胞的定位,以及通

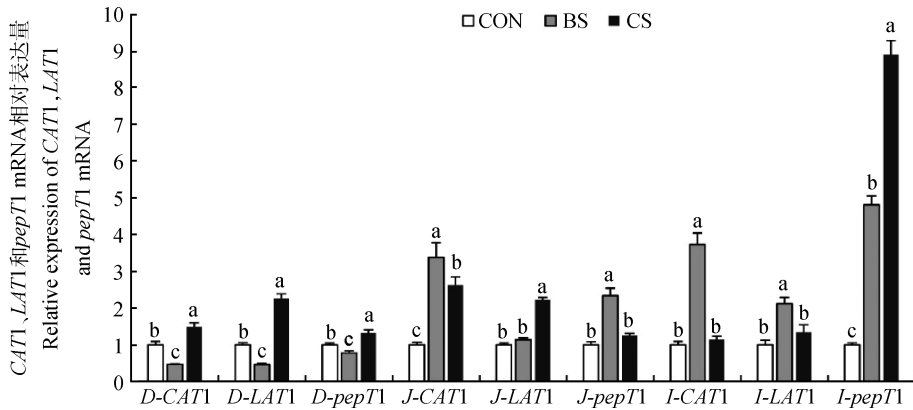


图 5 冷季补饲对藏羊小肠黏膜中 CAT1, LAT1 和 pepT1 mRNA 表达量的影响

Fig. 5 Effects of supplementation in cold season on the relative expression of CAT1, LAT1 and pepT1 in intestine mucosa of Tibetan sheep

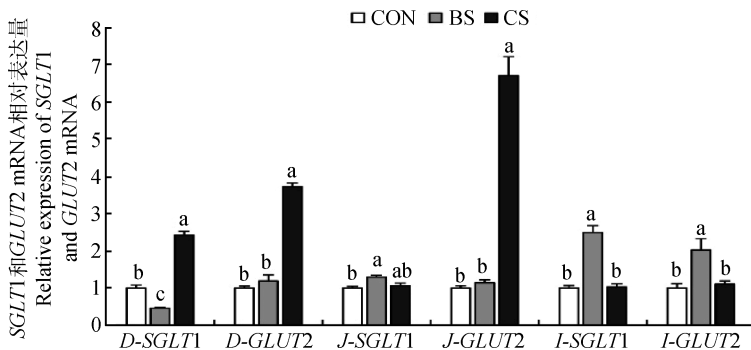


图 6 冷季补饲对藏羊小肠黏膜中 SGLT1 和 GLUT2 mRNA 表达量的影响

Fig. 6 Effects of supplementation in cold season on the relative expression of SGLT1 and GLUT2 in intestine mucosa of Tibetan sheep

过调控 IGF 与其受体的结合间接或直接的调控 IGF 的生物活性^[35]。本研究中, *IGFBP5* mRNA 表达量, 在十二指肠和空肠黏膜中 CS 和 BS 组均显著高于 CON 组, 且 CS 组显著高于 BS 组, 在回肠黏膜中 CS 组显著高于 BS 和 CON 组, 这与其小肠组织形态的发育状况相一致。冷季补饲尿素-糖蜜型舔砖或精料均显著增加了藏羊的营养物质摄入量, 促进了其小肠组织形态发育, 增加对营养物质的消化吸收能力, 进而提高了藏羊在冷季的生长性能。

3.2 冷季补饲对藏羊小肠黏膜中营养物质转运载体基因 mRNA 表达量的影响

进入小肠的蛋白质和碳水化合物在小肠消化酶的作用下, 被降解为游离氨基酸、小肽和葡萄糖, 而游离氨基酸、小肽和葡萄糖需要相应转运载体的转运才能被小肠上皮细胞吸收。 *LAT1*、*CAT1*、*pepT1*、*SGLT1* 和 *GLUT2* 在游离氨基酸、小肽和葡萄糖的转运吸收过程中起重要作用, 其在小肠上皮细胞中的表达量是衡量小肠对营养物质吸收能力的重要指标, 其受小肠肠腔中营养物质的调节^[36-37]。E. R. Gilbert^[38] 报道, 饲喂高蛋白质水平饲料的动物小肠黏膜中氨基酸和小肽转运载体的表达量增加, 促进了氨基酸和小肽的转运, 且 X. Pan 等^[39] 报道, 长时间禁食可使其在小肠黏膜中的表达量迅速下降。本研究中, 在十二指肠黏膜中 *CAT1*、*LAT1* 和 *pepT1* mRNA 表达量 CS 组显著高于 BS 和 CON 组, 但在空肠黏膜中 *CAT1* 和 *pepT1* mRNA 表达量 BS 组均显著高于 CS 和 CON 组。CS 和 BS 组粗蛋白质摄入量均显著高于 CON 组, 从而促进氨基酸和小肽转运载体表达量的增加, 而 CS 和 BS 组中其表达量在不同肠段的差异可能与其蛋白质摄入量及精料和尿素-糖蜜型舔砖的降解特性差异有关。BS 组所补充摄入的糖蜜-尿素型舔砖, 其含氮物质主要为非蛋白氮, 能在瘤胃被迅速降解, 而 CS 组所补充摄入的精料, 其含氮物质主要为在瘤胃降解速率较慢的饼粕类, 其未被瘤胃微生物降解部分以及其被瘤胃微生物降解产生的小肽到达十二指肠的数量较 BS 组多, 这与本研究中十二指肠黏膜中氨基酸和小肽转运载体表达量 CS 组显著升高的结果相一致。有研究表明, 饲料中可溶性糖和快速降解蛋白质含量同步较高时, 可增加提供给小肠消化吸收的瘤胃微生物蛋白质数量^[40]。本研究结果表明, 空肠黏膜中氨基酸和小肽转运载体表达量 BS 组高于 CS 和 CON 组, 这可能与其摄入的可溶性糖和快速

降解的非蛋白氮含量同步较高, 促进产生大量的微生物蛋白在空肠被降解有关。

研究表明, 当小肠肠腔中葡萄糖的含量增加时, 小肠上皮细胞中的葡萄糖转运载体数量和活性也随之增加, 以提高小肠对葡萄糖的吸收效率, 且饲喂高水平多糖饲料可上调 *SGLT1* 和 *GLUT2* mRNA 表达量^[41-43]。本研究中, 十二指肠黏膜中 *SGLT1* 和 *GLUT2* mRNA 表达量, 以及空肠黏膜中 *GLUT2* mRNA 表达量 CS 组均显著高于 BS 和 CON 组。R. D. Jr McCarthy 等^[44] 指出, 饲喂高快速降解淀粉饲料的动物到达十二指肠的淀粉量较饲喂高慢速降解淀粉的动物少。本研究中, BS 组所补充摄入的尿素-糖蜜型舔砖含有的碳水化合物主要为糖蜜, 其在瘤胃中会被微生物快速发酵利用。而 CS 组所补充摄入的精料其中的玉米与糖蜜相比在瘤胃的降解速度较慢, 且能更多的到达十二指肠, 其在十二指肠和空肠被消化酶进一步消化产生的葡萄糖较 BS 组多, 从而促进葡萄糖转运载体基因的表达, 以提供更多葡萄糖转运载体用于葡萄糖的转运吸收, 这与十二指肠黏膜中 *SGLT1* 和 *GLUT2* mRNA 表达量, 以及空肠黏膜中 *GLUT2* mRNA 表达量 CS 组均显著高于 BS 和 CON 组相一致。

有研究报道指出, 可溶性糖在瘤胃中的迅速降解使瘤胃液 pH 快速降低, 导致瘤胃中纤维降解菌数目及其活动下降, 致使结构性碳水化合物在瘤胃的降解率下降, 但是可在肠道中被肠道微生物发酵降解而得到补偿^[45-47]。在反刍动物回肠中有大量的纤维降解菌存在^[48], 其可对进入肠道的结构性碳水化合物进行降解, 对结构性碳水化合物在全消化道的降解有重要贡献作用^[49]。BS 组由于可溶性糖在瘤胃中的迅速降解, 可能导致瘤胃液 pH 在短时间内迅速下降, 超出了结构性碳水化合物降解菌活动的适宜 pH 范围, 阻碍了其活动, 使得结构性碳水化合物在瘤胃的降解率下降, 使更多的结构性碳水化合物进入小肠后段被肠道微生物降解, 而产生单糖, 且同时产生大量的微生物菌体蛋白, 其可被消化酶降解为单糖和氨基酸。这与回肠黏膜中 *SGLT1* 和 *GLUT2* mRNA 表达量及 *CAT1* 和 *LAT1* mRNA 表达量, BS 组均显著高于 CS 和 CON 组的结果相一致, 以产生更多葡萄糖和氨基酸转运载体用于葡萄糖和氨基酸的转运吸收。

4 结论

冷季补饲尿素-糖蜜型舔砖或精料均可显著增

加藏羊对消化能、粗蛋白质以及矿物元素的摄入量, 促进了藏羊小肠组织形态的发育。补饲精料提高了十二指肠黏膜中氨基酸、小肽及葡萄糖转运载体基因 mRNA 的表达量, 而补饲尿素-糖蜜型舔砖提高了其在空肠和回肠黏膜中的表达量。

参考文献 (References):

- [1] D'MELLO J F. Amino acids in animal nutrition [M]. CABI, 2003: 156-168.
- [2] GRONEBERG D A, DÖRING F, EYNOTT P R, et al. Intestinal peptide transport: ex vivo uptake studies and localization of peptide carrier PEPT1 [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2001, 281(3): G697-G704.
- [3] BRÖER S, WAGNER C A. Structure-function relationships of heterodimeric amino acid transporters [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2002, 36(2-3): 155-168.
- [4] MCALLAN A B, SMITH R H. Carbohydrate metabolism in the ruminant: Bacterial carbohydrates formed in the rumen and their contribution to diaesta entering the duodenum [J]. *Br J Nutr*, 1974, 31(1): 77-88.
- [5] JANES A N, WEEKES T E, ARMSTRONG D G. Absorption and metabolism of glucose by the mesenteric-drained viscera of sheep fed on dried-grass or ground, maize-based diets [J]. *Br J Nutr*, 1985, 54(2): 449-458.
- [6] BAUER M L, HARMON D L, BOHNERT D W, et al. Influence of alpha-linked glucose on sodium-glucose cotransport activity along the small intestine in cattle [J]. *J Anim Sci*, 2001, 79(7): 1917-1924.
- [7] WOOD I S, TRAYHURN P. Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins [J]. *Br J Nutr*, 2003, 89(1): 3-9.
- [8] 李 辉. 蛋白水平与来源对早期断奶犊牛消化代谢及胃肠道结构的影响 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2008: 41-110.
- LI H. Effects of protein level and source on nutrient utilization and gastrointestinal characteristics in early-weaning calves [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2008: 41-110. (in Chinese)
- [9] 吕 凯, 侯生珍, 王志有, 等. 饲料蛋白质水平及赖氨酸/蛋氨酸对早期断奶藏羔羊生长性能及胃肠道组织形态的影响 [J]. *动物营养学报*, 2013, 25(4): 743-751.
- LV K, HOU S Z, WANG Z Y, et al. Dietary protein level and Lys/Met affect growth performance and gastrointestinal morphology of early-weaner Tibetan lambs [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2013, 25(4): 743-751. (in Chinese)
- [10] 任 文. 不同直/支链淀粉比对肥羔胃肠道发育及其相关基因 mRNA 表达量的影响 [D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2014: 30-82.
- REN W. Effects of different amylose/amylopectin ratio on the development of gastrointestinal tract and mRNA expression of related genes in fattening in fattening lamb [D]. Daqing Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2014: 30-82. (in Chinese)
- [11] FERRARIS R, DIAMOND J. Substrat-dependent regulation of intestinal nutrient transporters [J]. *Annu Rev Physiol*, 1989, 51:125-141.
- [12] 向泽宇, 王长庭. 青藏高原藏羊遗传资源的现状, 存在问题及对策 [J]. *中国畜牧兽医文摘*, 2011, 27(2): 1-4.
- XIANG Z Y, WANG C T. Current status of genetic resources of Tibetan sheep in Qinghai-Tibet plateau, existing problems and countermeasures [J]. *Animal Husbandry and Veterinary Digest of China*, 2011, 27(2): 1-4. (in Chinese)
- [13] 李英年. 高寒草甸牧草产量和草场载畜量模拟研究及对气候变暖的响应 [J]. *草业学报*, 2000, 9(2): 77-82.
- LI Y N. Simulation of forage yeild and stocking rate on alpine grassland in response to warming trend of climate [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2000, 9(2): 77-82. (in Chinese)
- [14] 王宏博, 阎 萍, 梁春年, 等. 甘南藏系绵羊饲养管理现状及发展对策 [C]. 简阳: 第八届羊业发展大会, 2011: 53-54.
- WANG H B, YAN P, LIANG C N, et al. Present situation and development countermeasures of Tibetan sheep in Gannan husbandry management [C]. Jianyang: Proceedings of the Eighth the Sheep Industry Conference, 2011: 53-54. (in Chinese)
- [15] 李长慧. 高寒草甸草地牧草产量及其营养 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2001,(9): 18-19.
- LI C H. Alpine meadow forage yield and nutrition [J]. *Heilongjiang Journal of Animal science and Veterinary Medicine*, 2001,(9): 18-19. (in Chinese)
- [16] 赵禹臣, 孟庆翔, 参木有, 等. 西藏高寒草地冷暖季牧草的营养价值和养分提供量分析 [J]. *动物营养学报*, 2012, 24(12): 2515-2522.
- ZHAO Y C, MENG Q X, SHEN M Y, et al. Estimation of nutritive values and nutrient supply of cold and warm-season pastures from high-cold steppes of Tibet region [J]. *Chinese Journal of Animal Nutri-*

- tion, 2012, 24(12): 2515-2522. (in Chinese)
- [17] 薛 白, 赵新全, 张耀生. 青藏高原天然草场放牧家畜体重和体能量变化动态 [J]. 畜牧与兽医, 2005, 37(1): 1-4.
XUE B, ZHAO X Q, ZHANG Y S. Dynamic change of body weight and energy of livestock grazing on natural grassland in Qinghai-Tibetan plateau [J]. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2005, 37(1): 1-4. (in Chinese)
- [18] 王安禄, 白永生, 马玉明, 等. 藏羊冷季体重变化动态与补饲效果研究 [J]. 草业科学, 1993, 10(6): 56-59.
WANG A L, BAI Y S, MA Y M, et al. A study of weight dynamic and supplemental feeding effect [J]. *Pratacultural Science*, 1993, 10(6): 56-59. (in Chinese)
- [19] 马桂琳, 祁红霞, 刘 秀, 等. 甘南藏绵羊冷季补饲试验研究 [J]. 畜牧兽医杂志, 2011, 30(6): 35-37.
MA G L, QI H X, LIU X, et al. Study on supplementary feeding experiment for Gannan Tibetan sheep in cold season [J]. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2011, 30(6): 35-37. (in Chinese)
- [20] 张发慧. 藏系绵羊自然放牧条件下生长发育规律观察 [J]. 畜牧兽医杂志, 2009, 28(5): 26-28.
ZHANG F H. The rule of growth and development of Tibetan sheep in natural grazing conditions observed [J]. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2009, 28(5): 26-28. (in Chinese)
- [21] 张庆丽. 早期能量与蛋白限制饲养对 1 月龄断奶羔羊胃肠道发育的影响 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010: 30-74.
ZHANG Q L. Effect of early energy and protein restricted feeding on gastrointestinal development of weaned lambs at the age of 1 month [D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2010: 30-74. (in Chinese)
- [22] 王 伟, 徐成体, 张 明, 等. 青海省贵南县藏羊冷季精料补饲效果研究 [J]. 青海畜牧兽医杂志, 2013, 43(2): 10-11.
WANG W, XU C T, ZHANG M, et al. Study on effect concentrate supplementary feeding in Tibetan sheep in cold season in Guinan of Qinghai province [J]. *Chinese Qinhai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2013, 43(2): 10-11. (in Chinese)
- [23] 丁考仁青, 石红梅, 张玉林, 等. 甘南藏羊高寒牧区冷季补饲育肥试验 [J]. 畜牧兽医杂志, 2011, 30(6): 28-29.
DING K R Q, SHI H M, ZHANG Y L, et al. Cold season supplementary feeding experiment of Gannan Tibetan sheep in cold grazing region [J]. *Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2011, 30(6): 28-29. (in Chinese)
- [24] 张海容. 不同精料补饲水平对藏绵羊生产性能和消化代谢影响的研究 [J]. 畜牧与兽医, 2009, 41(8): 24-28.
ZHANG H R. Effects of different concentrate supplement levels on the performance digestion and metabolism in the Tibetan sheep [J]. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2009, 41(8): 24-28. (in Chinese)
- [25] 张玲勤, 陈 刚, 韩志辉, 等. 高寒地区枯草期放牧藏羊补饲试验 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2011, (12): 68-70.
ZHANG L Q, CHEN G, HAN Z H, et al. Study on supplementary feeding experiment for Tibetan sheep in dry period in cold grazing region [J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2011, (12): 68-70. (in Chinese)
- [26] 佟 瑛, 张 堃, 王万帮, 等. 不同精料添加量对藏系绵羊的育肥效果 [J]. 甘肃农业大学学报, 2004, 39(5): 489-492.
TONG Y, ZHANG K, WANG W B, et al. Fattening effect of different concentrate supplementing levels on Tibetan sheep [J]. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2004, 39(5): 489-492. (in Chinese)
- [27] WANG Y H, XU M, WANG F N, et al. Effect of dietary starch on rumen and small intestine morphology and digesta pH in goats [J]. *Livest Sci*, 2009, 122(1): 48-52.
- [28] 张丽英. 饲料分析及饲料质量检测技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 48-76.
ZHANG L Y. Analysis of feed and feed quality detection technique [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2003: 48-76. (in Chinese)
- [29] G T. 动物饲料中钙, 铜, 铁, 镁, 锰, 钾, 钠和锌含量的测定原子吸收光谱法 [S]. 2003.
G T. Animal feed calcium, copper, iron, magnesium, manganese, potassium, sodium and determination of zinc content - Flame Atomic Absorption Spectrometry method [S]. 2003. (in Chinese)
- [30] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [31] 景小平, 王之盛, 彭全辉, 等. 冷季补饲对藏羊消化道消化酶活性及表观消化率的影响 [J]. 动物营养学报, 2016, 28(8): 2404-2413.

- JING X P, WANG Z S, PENG Q H, et al. Effects of supplementation on digestive enzyme activities in digestive tract and apparent digestibility of Tibetan sheep in cold season [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, 28(8): 2404-2413. (in Chinese)
- [32] 陈 鼎. 小尾寒羊和滩羊肠道发育及其主要消化酶活性变化规律研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2008:19-62.
- CHEN D. Regulation of intestine and its digestive enzymes activities between small-tailed Han sheep and Tan sheep [D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2008: 19-62. (in Chinese)
- [33] POND W G, ELLIS K J, MERSMANN H J, et al. Severe protein deficiency and repletion alter body and brain composition and organ weights in infant pigs [J]. *J Nutr*, 1996, 126(1): 290-302.
- [34] GUIRALDES E, HAMILTON J R. Effect of chronic malnutrition on intestinal structure, epithelial renewal, and enzymes in suckling rats [J]. *Pediatr Res*, 1981, 15(6): 930-934.
- [35] 杜清友, 王会信. 胰岛素样生长因子结合蛋白研究进展 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 1998, 25(1): 104-105,108.
- DU Q Y, WANG H X. Progress on the studies of insulin like growth factor binding proteins [J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 1998, 25(1): 104-105,108. (in Chinese)
- [36] 熊 霞, 阳成波, 印遇龙. 肠道氨基酸及氨基酸转运载体研究进展 [J]. *生理科学进展*, 2012, 43(3): 202-206.
- XIONG X, YANG C B, YIN Y L. Research progress on intestinal amino acid and amino acid transporters [J]. *Progress in Physiological Science*, 2012, 43(3): 202-206. (in Chinese)
- [37] 周 玲, 王晓清, 刘 臻, 等. 营养素转运载体的研究进展 [J]. *饲料研究*, 2013,(4): 18-23.
- ZHOU L, WANG X Q, LIU Z, et al. Research progress of nutrient transporters [J]. *Feed Research*, 2013,(4): 18-23. (in Chinese)
- [38] GILBERT E R. Dietary and developmental regulation of nutrient transporter gene expression in the small intestine of two lines of broilers [D]. Virginia: Virginia Polytechnic Institute and State University, 2008.
- [39] PAN X, TERADA T, OKUDA M, et al. The diurnal rhythm of the intestinal transporters SGLT1 and PEPT1 is regulated by the feeding conditions in rats [J]. *J Nutr*, 2004, 134(9): 2211-2215.
- [40] SINCLAIR L, GARNSWORTHY P, NEWBOLD J, et al. Effect of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep [J]. *J Agr Sci*, 1993, 120(2): 251-263.
- [41] DYER J, VAYRO S, KING T P, et al. Glucose sensing in the intestinal epithelium [J]. *Eur J Biochem*, 2003, 270(16): 3377-3388.
- [42] LOHRENZ A K, DUSKE K, SCHÖNHUSEN U, et al. Glucose transporters and enzymes related to glucose synthesis in small intestinal mucosa of mid-lactation dairy cows fed 2 levels of starch [J]. *J Dairy Sci*, 2011, 94(9): 4546-4555.
- [43] REIMER R A, THOMSON A B, RAJOTTE R V, et al. A physiological level of rhubarb fiber increases proglucagon gene expression and modulates intestinal glucose uptake in rats [J]. *J Nutr*, 1997, 127(10): 1923-1928.
- [44] MCCARTHY R D JR, KLUSMEYER T H, VICINI J L, et al. Effects of source of protein and carbohydrate on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows [J]. *J Dairy Sci*, 1989, 72(8): 2002-2016.
- [45] MARTIN C, MICHALET-DOREAU B. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on in sacco dry matter degradation of forage [J]. *Ann Zootech*, 1994, 43(3): 254.
- [46] MOULD F L, ORSKOV E R. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate [J]. *Anim Feed Sci Technol*, 1983, 10(1): 1-14.
- [47] CHAPPELL G L M, FONTENOT J P. Sheep rations on cellulose digestibility and nitrogen utilization effect of level of readily-available carbohydrates in purified [J]. *J Anim Sci*, 1968, 27(6): 1709-1715.
- [48] 焦金真, 王芃芃, 汤少勋, 等. 浏阳黑山羊胃肠道不同部位重要功能微生物的数量分布特征研究 [J]. *畜牧兽医学报*, 2013, 44(10): 1590-1599.
- JIAO J Z, WANG P P, TANG S X, et al. Quantity and distribution characteristics of functional microorganisms in gastrointestinal tract of Liuyang black goats [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2013, 44(10): 1590-1599. (in Chinese)
- [49] ARMSTRONG D G, BEEVER D E. Post-abomasal digestion of carbohydrate in the adult ruminant [J]. *Proc Nutr Soc*, 1969, 28(1): 121-131.