

# 不同功能性寡糖组合对锦江黄牛瘤胃固相微生物多样性的影响

闵力, 瞿明仁\*, 戈婷婷, 钟志勇, 刘立恒

(江西农业大学 江西省高校动物营养与饲料重点实验室 江西 南昌 330045)

**摘要:** 研究功能性寡糖组合对锦江黄牛的瘤胃固相微生物多样性的影响。选择 3 头健康且体重相近的装有永久性瘤胃瘘管的锦江黄牛, 采用自身对照方法, 试验分 3 期进行, 第 1 期: 对照期, 饲喂基础日粮, 不添加任何寡糖; 第 2 期: GT1 添加期, 饲喂基础日粮 + 0.8% 甘露寡糖 + 1.0% 果寡糖 + 0.8% 大豆寡糖; 第 3 期: GT2 添加期, 饲喂基础日粮 + 0.8% 甘露寡糖 + 1.20% 果寡糖 + 1.0% 大豆寡糖, 每期持续 14 d。利用 PCR-DGGE 方法进行分析, 牛瘤胃固相微生物 PCR-DGGE 图谱条带数及相似性。结果发现: 添加功能性寡糖组合后, 对锦江黄牛瘤胃固相微生物 PCR-DGGE 图谱条带数影响不明显。3 头牛 3 个试验期 DGGE 图谱的相似度较高。对锦江黄牛瘤胃液相微生物多样性影响有待下一步研究。

**关键词:** 功能性寡糖组合; 变性梯度凝胶电泳(DGGE); 锦江黄牛; 瘤胃固相微生物; 多样性  
中图分类号: S823.8<sup>+</sup>1 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2012)04-0769-06

## Effects of Different Functional Oligosaccharide Combinations on Diversity of Rumen Solid Bacteria in Jinjiang Cattle

MIN Li, QU Ming-ren\*, GE Ting-ting, ZHONG Zhi-yong, LIU Li-heng

(Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science of Universities and Colleges in Jiangxi Province, JXAU, Nanchang 330045, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to study the effects of different functional oligosaccharide combinations on the band numbers of DGGE-DNA fingerprints of rumen solid bacteria in Jinjiang cattle. Three healthy Jinjiang cattle with permanent rumen cannula and weight of (300 ± 20) kg were selected. By self-contrasted method, the test was divided into three periods, the first period: the control period, basal diet was fed without any additional oligosaccharides, the second period, the basal diet added with GT1 of functional oligosaccharide combination was fed, the third period, the basal diet added with GT2 of functional oligosaccharide combination was fed, the experiment lasted 14 days for each period. The band number of PCR-DGGE fingerprints and similarity of rumen solid bacteria in Jinjiang cattle were analyzed. The results showed that compared with the control period, the effects of functional oligosaccharide combinations of GT1, GT2 on the band numbers of DGGE-DNA fingerprints of rumen solid bacteria in Jinjiang cattle were not obvious. The similarity degree of the three trial cattle was higher in the three periods. The effects of different functional oligosaccharide combinations on diversity of rumen liquid bacteria in Jinjiang cattle remain to be determined.

收稿日期: 2012-04-20 修回日期: 2012-05-17

基金项目: 国家现代肉牛产业技术体系项目(CARS-38)、国家自然科学基金(30960254)和江西省教育厅项目(GJJ10405, 2009GJJ10409)

作者简介: 闵力(1988—), 男, 硕士生, 主要从事反刍动物营养方面的研究, E-mail: min1988317@yahoo.com.cn; \*  
通讯作者: 瞿明仁, 教授, 博士生导师, E-mail: qumingren@sina.com。

**Key words:** functional oligosaccharides; DGGE; Jinjiang cattle; rumen solid bacteria; diversity

功能性寡糖作为新型绿色添加剂,具有无毒、无残留、无耐药性、安全、环保、稳定性强等特点。在单胃动物中大量研究表明<sup>[1-3]</sup>:功能性寡糖作为一种营养生理活性物质(Nutricines),其对动物的作用主要有:促进动物肠道有益菌的增殖,阻止外源性病原菌在肠道的定植;提高机体的免疫水平可抗应激能力,防止动物发病;提高动物的生产性能等。然而,无论是理论研究还是生产应用,对功能性寡糖的研究主要集中在单胃动物上,而对反刍动物的研究报道较少。近年来,江西农业大学动物营养实验室在寡糖对反刍动物瘤胃发酵进行了一些研究。研究发现,在日粮中添加功能性寡糖具有促进反刍动物瘤胃发酵功能的作用<sup>[4-8]</sup>,而且发现添加功能性寡糖均能够极显著提高 DM、OM、NDF、ADF 降解率,而对 CP 降解率无显著影响<sup>[9]</sup>。据此推理,日粮中添加功能性寡糖可使瘤胃微生物区系发生了变化。那么,添加功能性寡糖组合对锦江黄牛瘤胃微生物区系是否有影响,目前尚未见报道。阐明这一问题对功能性寡糖的作用机理和在生产中营养具有重要指导意义。为此,本试验利用 PCR-DGGE 技术比较不同功能性寡糖组合对锦江黄牛瘤胃固相细菌多样性的影响,旨在为功能性寡糖在反刍动物生产中应用提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验动物

试验动物为编号 A、B、C 的 3 头锦江黄牛,体质量 300 kg 左右,安装有永久性瘤胃瘘管。饲养在江西农业大学国家肉牛产业技术体系研究基地养牛场。

### 1.2 试验设计及饲养管理

在开展本研究前,本课题组采用体外批次培养法研究了在精粗比为 2:8 的日粮中添加功能性寡糖对锦江黄牛瘤胃微生物发酵的影响。结果表明在体外培养条件下,日粮中添加不同组合功能性寡糖对锦江黄牛瘤胃发酵产生显著影响<sup>[10]</sup>。应用多指标正交试验设计综合平衡分析法对所有试验指标进行综合平衡分析。得出了 2 个理想组合(表 1)。

表 1 功能性寡糖组合构成

Tab. 1 Composed of functional oligosaccharide combinations

组合 Combination	甘露寡糖/% MOS	果寡糖/% FOS	大豆寡糖/% SBOS
GT1	0.8	1.0	0.8
GT2	0.8	1.2	1.0

添加量是以饲料中干物质为基础来确定。

Addition amount of oligosaccharides in table1 used to determine base on dry matter of feed.

本试验在上述前期研究基础上,采用自身对照的方法进行体内试验。试验分 3 期进行,第 1 期:对照期,饲喂基础日粮,不添加任何寡糖。第 2 期:GT1 添加期,饲喂基础日粮 + 0.8% 甘露寡糖 + 1.0% 果寡糖 + 0.8% 大豆寡糖。将甘露寡糖 48 g + 果寡糖 60 g + 大豆寡糖 48 g 和每日所需饲喂的精料 1.2 kg 混匀。第 3 期:GT2 添加期,饲喂基础日粮 + 0.8% 甘露寡糖 + 1.20% 果寡糖 + 1.0% 大豆寡糖,即每日将甘露寡糖 48 g + 果寡糖 72 g + 大豆寡糖 60 g 和每日所需饲喂的精料混匀。

每期为 14 d,中间过渡 14 d,中间过渡期饲喂对照期日粮。于 08:00 和 20:00 各饲喂一半。每期持续 14 d。

基础日粮为玉米-麦麸-稻草型,由精粗饲料组成,精粗饲料比为 2:8。精料购于江西华达牧业有限公司,精料的配方组成为玉米、麦麸、豆粕、棉粕、碳酸钙、磷酸氢钙、食盐、维生素(A、D<sub>3</sub>、E、烟酸)微量元素(CuSO<sub>4</sub>、FeSO<sub>4</sub>、ZnSO<sub>4</sub>、MnSO<sub>4</sub>、NaSeO<sub>3</sub>、KI、CoCl<sub>2</sub>)及防霉剂等。基础日粮组成及营养水平见表 2。试验动物栓系饲养,每天分别在 08:00 和 20:00 以先粗后精顺序饲喂 2 次,每天饲喂精料 1.2 kg,粗料 4.8 kg,自由饮水。

### 1.3 主要试剂和仪器

甘露寡糖购自北京奥特奇生物制品有限公司;果寡糖购自河南天顺食品有限公司;大豆寡糖购自陕

西森弗生物技术有限公司; *Taq* DNA 聚合酶及 PCR 反应缓冲液购自 Takara 公司, DGGE 成套试剂购自 Bio-Rad 公司; PCR 仪( Bio-Rad); DGGE 电泳仪 Bio-Rad Dcode Universal Detection System( Bio-Rad)。

表2 试验日粮组成及营养水平(风干物质)

Tab.2 Composition and nutrient levels of the basal diet( air dry basis)

日粮组成 Ingredient	比例/% Percentage	营养水平 Nutrient levels	含量 Content
稻草 Straw	80.0	干物质/% DM	90.15
玉米 Corn	10.2	综合净能/( MJ · kg <sup>-1</sup> ) NE	3.13
麦麸 Wheat bran	1.4	粗蛋白/% CP	7.67
豆粕 Soybean meal	3.6	Ca/%	0.64
棉籽粕 Cottonseed	3.4	P/%	0.31
磷酸氢钙 CaHPO <sub>4</sub>	0.1		
石粉 Limestone	0.3		
食盐 NaCl	0.5		
预混料 Premix	0.5		

每 kg 预混料含: 维生素 A 500 kIU; 维生素 D<sub>3</sub> 80 kIU; 维生素 E 2 000 IU; 烟酸 80 g; 铜 2 g; 铁 10 g; 锰 8 g; 锌 6 g; 硒 0.02 g; 碘 0.1 g; 钴 0.02 g。

Containing of per kg of premix: VA 500 kIU; VD 80 kIU; VE 2 000 IU; nicotinic acid 80 g; Cu 2 g; Fe 10 g; Mg 8 g; Ze 6 g; Se 0.02 g; I 0.1 g; Co 0.02 g.

#### 1.4 样品采集及处理

在每期(14 d)结束的当天 08:00 晨饲后,于 12:00 从瘤胃采样固相物 100 g,装入自封袋中备用。操作过程中每头牛换一次薄膜手套。

向装有瘤胃固相物的自封袋中倒入 300 mL 生理盐水,充分震荡 5 min。静置 1 h 后经 4 层纱布过滤,离心机中 800 r/min 离心 5 min 取 1.5 mL 上清液转入 EP 管中,14 000 r/min 离心 10 min,弃上清液。所得的沉淀即为固相微生物样品沉淀,-20 °C 保存备用。

#### 1.5 固相细菌 DNA 提取、检测及扩增

DNA 提取:使用天恩泽 DNA 提取试剂盒提取固相细菌 DNA,提取完成后 -20 °C 保存备用。

DNA 检测:取 5 μL 提取的固相细菌 DNA 样品,分别与 1 μL 6 × Loading Buffer 混合均匀,将枪头小心伸入到加样孔中,缓慢推出使样品垂直落入加样孔内,并用 5 μL 2 000 bp DNA Marker 作标样。加样结束后,盖上电泳槽盖,100 V 电压下电泳 40 ~ 50 min。待电泳结束后,小心取出凝胶放置于 UVI 凝胶成像系统中,观察结果并拍照保存。

DNA-PCR 扩增:参照 Wang 等<sup>[11]</sup>方法,利用细菌通用引物对细菌 16S rRNA 的 V6 至 V8 可变区序列进行 PCR 扩增。

上游引物(U968 - GC - f): 5 - CGCCCGGGCGCGCCCCGGGCGGGGCGGGGCACGGGGG A ACGCGAAGAACCCTTAC - 3' ;

下游引物(L1401r): 5 - CGGTGTGTACAAGACCC - 3' 。

PCR 扩增条件:94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s; 57 °C 退火 30 s; 68 °C 延伸 40 s,30 个循环后,68 °C 延伸 7 min,PCR 产物于 -20 °C 冰箱保存。

PCR 反应体系(25 μL):模板 DNA 1 μL,10 × PCR buffer 2.5 μL,25 mmol/L MgCl<sub>2</sub>1.5 μL,上游引物(50 pmol/μL)0.5 μL,下游引物(50 pmol/μL)0.5 μL,dNTP1 μL,*Taq* DNA 聚合酶(5 U/μL)0.5 μL,ddH<sub>2</sub>O 17.5 μL,总体积为 25 μL。

#### 1.6 变性梯度凝胶电泳(DGGE)及相似性指数分析

DGGE 试验参照 Van Orsouw 的方法进行<sup>[13]</sup>。凝胶变性梯度为 40% ~ 60%。DGGE 采用 Dcode DGGE 系统(Bio-Rad),电泳缓冲液为 1 × TAE 缓冲液,在 60 °C 200 V 条件电泳 10 min 后,电压设定为

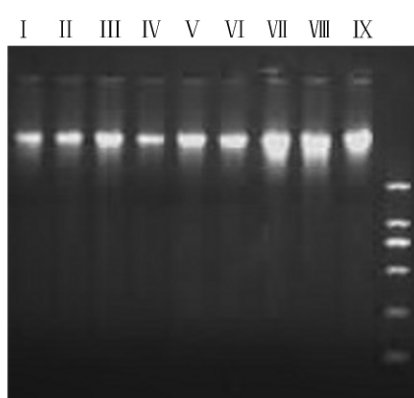
100 V 进行电泳,时间为 12 h。电泳结束,用硝酸银染色,凝胶显色定影后拍照,采用 Quantity One( Bio-Rad) 4. 6. 2 分析软件包对凝胶图谱进行分析。

采用相似性分析指数( sorenson spairwise similarity coefficient,  $C_s$ ) 来比较瘤胃液相细菌菌群的差异,计算公式如下:  $C_s = 2j / (N_x + N_y)$  其中,  $N_x$  为  $x$  泳道条带数;  $N_y$  为  $y$  泳道条带数;  $j$  为各泳道共有的条带数。  $C_s$  值越大,表明样品的相似程度越高。

## 2 结果与分析

### 2.1 瘤胃固相细菌 DNA 检测

使用天恩泽 DNA 提取试剂盒提取的瘤胃内容物固相细菌 DNA 图谱见图 1。

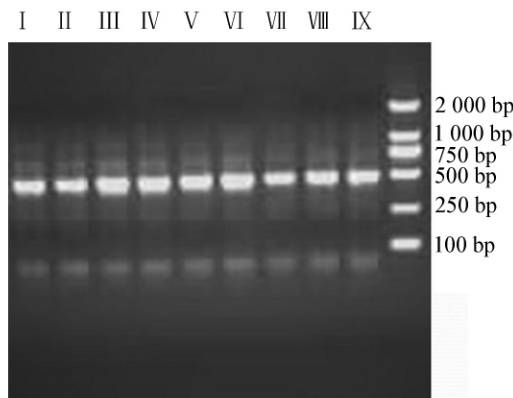


从左到右分别为: I 为 A 牛对照期, II 为 B 牛对照期, III 为 C 牛对照期; IV 为 A 牛添加组合 GT1 期, V 为 B 牛添加组合 GT1 期, VI 为 C 牛添加组合 GT1 期, VII 为 A 牛添加组合 GT2 期, VIII 为 B 牛添加组合 GT2 期, IX 为 C 牛添加组合 GT2 期。

Left to right: I is cattle A of control Period, II is cattle B of control Period, III is cattle C of control Period; IV is cattle A of GT1 Period, V is cattle B of GT1 Period, VI is cattle C of GT1 Period; VII is cattle A of GT2 Period, VIII is cattle B of GT2 Period, IX is cattle C of GT2 Period.

图 1 瘤胃固相细菌 DNA 图谱

Fig. 1 DNA fingerprints of rumen solid bacteria



从左到右分别为: I 为 A 牛对照期, II 为 B 牛对照期, III 为 C 牛对照期; IV 为 A 牛添加组合 GT1 期, V 为 B 牛添加组合 GT1 期, VI 为 C 牛添加组合 GT1 期, VII 为 A 牛添加组合 GT2 期, VIII 为 B 牛添加组合 GT2 期, IX 为 C 牛添加组合 GT2 期。

Left to right: I is cattle A of control Period, II is cattle B of control Period, III is cattle C of control Period; IV is cattle A of GT1 Period, V is cattle B of GT1 Period, VI is cattle C of GT1 Period; VII is cattle A of GT2 Period, VIII is cattle B of GT2 Period, IX is cattle C of GT2 Period.

图 2 瘤胃固相细菌 DNA 的 PCR 图谱

Fig. 2 PCR - DNA fingerprints of rumen solid bacteria

由图 1 可以看出,提取瘤胃内容物的固相细菌 DNA 图谱基本上没有拖尾现象,而且样品提取的 DNA 含量高,纯度高。说明 DNA 提取方法可行,可以进行下一步的试验。

### 2.2 瘤胃固相细菌 DNA 的 PCR 扩增效果

由图 2 可以看出,按照优化后的 PCR 程序及反应体系,每个 DNA 样品均有扩增产物出现,PCR 扩增的产物的大小较为一致,在预期的目的区域(约 500 bp)处获得了相应的片段。说明瘤胃固相细菌 DNA 的 PCR 扩增效果良好,PCR 扩增产物可以进行后续的 DGGE 试验。

表 3 添加功能性寡糖对锦江黄牛瘤胃固相 DDGE 细菌条带数的影响

Tab. 3 Effects of add functional oligosaccharides on band numbers of DGGE - DNA fingerprints of rumen solid bacteria in Jinjiang cattle

处理牛 Treated cattle	对照期 Period of control	GT1 添加期 Period of adding GT1	GT2 添加期 Period of adding GT2
A 牛 Cattle	23	22	21
B 牛 Cattle	23	20	22
C 牛 Cattle	22	23	22

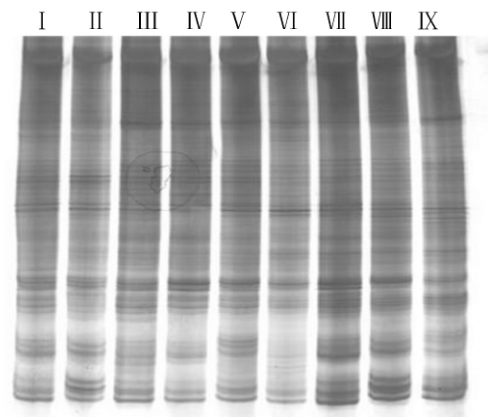
### 2.3 添加功能性寡糖对瘤胃固相细菌的 DGGE 图谱条带数影响

添加功能性寡糖对瘤胃固相细菌的 DGGE 图谱见图 3。经对图 3 进行分析,各试验期锦江黄牛瘤胃固相细菌条带数见表 3。

由图 3 和表 3 可见,添加功能性寡糖 GT1 期和 GT2 期与对照期相比,3 头试验牛瘤胃固相微生物 DNA 的条带数量相近。结果表明:添加功能性寡糖可能对牛瘤胃固相细菌种类影响不大。

### 2.4 添加功能性寡糖对瘤胃固相细菌 DGGE 图谱的相似性影响

由表 4 看出,固相细菌对照期 A、B、C 3 头牛之间的相似度分别为:91.3%、88.9%、80.0%。固相细菌 GT1 期 A、B、C 3 头牛之间的相似度分别为:90.4%、88.8%、93.0%。固相细菌 GT2 期 A、B、C 3 头牛之间的相似度分别为:93.0%、88.8%、88.8%。固相细菌各样品间的相似度为 80%~90%。这可能是因为固相细菌的稳定性较好,受外界环境、日粮水平、遗传因素的影响较小。因此,添加寡糖对瘤胃固相细菌无明显影响。



从左到右分别为: I 为 A 牛对照期, II 为 B 牛对照期, III 为 C 牛对照期; IV 为 A 牛添加组合 GT1 期, V 为 B 牛添加组合 GT1 期, VI 为 C 牛添加组合 GT1 期, VII 为 A 牛添加组合 GT2 期, VIII 为 B 牛添加组合 GT2 期, IX 为 C 牛添加组合 GT2 期。

Left to right: I is cattle A of control Period, II is cattle B of control Period, III is cattle C of control Period; IV is cattle A of GT1 Period, V is cattle B of GT1 Period, VI is cattle C of GT1 Period; VII is cattle A of GT2 Period, VIII is cattle B of GT2 Period, IX is cattle C of GT2 Period.

图 3 瘤胃固相细菌的 DGGE 图谱

Fig. 3 DGGE - DNA fingerprints of rumen solid bacteria

表 4 瘤胃固相细菌在不同处理期的相似性

Tab. 4 Similarity Analysis of DGGE - DNA fingerprints of rumen solid bacteria of Jinjiang cattle between different treatment period

处理 Treatment	对照期 Period of control			GT1 期 GT1 Period			GT2 期 Period of adding GT2			
	A 牛 Cattle	B 牛 Cattle	C 牛 Cattle	A 牛 Cattle	B 牛 Cattle	C 牛 Cattle	A 牛 Cattle	B 牛 Cattle	C 牛 Cattle	
对照期 Period of control	A 牛 Cattle	-	91.3	88.9	84.4	83.7	86.9	86.3	88.8	88.8
	B 牛 Cattle	-	-	80.0	88.8	88.3	82.36	86.3	88.8	88.8
	C 牛 Cattle	-	-	-	90.9	90.4	93.3	93.0	86.3	81.8
GT1 期 GT1 Period	A 牛 Cattle	-	-	-	-	90.4	88.8	88.3	90.9	86.3
	B 牛 Cattle	-	-	-	-	-	93.0	92.6	90.4	85.7
	C 牛 Cattle	-	-	-	-	-	-	90.9	84.4	80.0
GT2 期 Period of adding GT2	A 牛 Cattle	-	-	-	-	-	-	-	93.0	88.3
	B 牛 Cattle	-	-	-	-	-	-	-	-	93.0
	C 牛 Cattle	-	-	-	-	-	-	-	-	-

## 3 讨论与结论

瘤胃细菌是反刍动物瘤胃中数量最多、种类最复杂的微生物,它们的生长代谢活动能够为动物提供能量、蛋白质、必需氨基酸和维生素等营养物质,对反刍动物的消化代谢和饲料的利用均有很重要的作用。然而,传统体外培养技术在培养过程中将微生物置于偏离它们原有小环境的、新的人为操纵的条件下,极有可能会改变相关微生物群落的原有结构。

随着分子生物学技术的迅速发展,特别是随着微生物界 16SrRNA 序列数据库的完善和全新菌株特异性探针序列的出现,探针定量杂交分析法逐渐成为检测瘤胃细菌微生态系统的有力手段<sup>[13-14]</sup>。16S rRNA 保守区的互补寡核苷酸可用来设计通用探针。而其可变区则设计成高特异性的探针用来鉴定微生物的种或属。它避免了分离纯化培养所造成的误差,再现微生物群落多样性。PCR - DGGE 技术,在揭示微生物菌群多样性方面具有独特的优越性。目前被广泛使用的细菌 16SrDNA 通用引物有 341f/534r(V3 区)、341f/926r(V3 - V5 区)和 968f/1401r(V6 - V8 区)。V3 区 200 bp 左右的片段分离效果

较好,但用于微生物菌群多样性分析时往往缺乏足够的分类信息。本研究使用带 GC 夹板的 V6 - V8 区片段的 968f/1401r 引物进行 PCR 扩增及 DGGE 电泳,能更好的提供细菌的分类信息,取得了良好效果。

固相细菌附着于饲料颗粒表面,与消化代谢专门的底物有关。固相细菌中有大量的纤维降解菌,固相细菌驱动的纤维素降解是瘤胃代谢的限速步骤,可见固相细菌在瘤胃微生物研究中有重要意义。Larue 等<sup>[15]</sup>利用 PCR - DGGE 比较了绵羊瘤胃三相中微生物,得出了固相样品产生的条带多于液相样品产生的条带的结论。王新峰<sup>[16]</sup>采用变性梯度凝胶电泳(DGGE)和实时定量 PCR 技术低聚糖对断奶羔羊瘤胃菌群的影响,结果表明:与对照相比,FOS 显著降低了瘤胃菌群的多样性( $P < 0.05$ ),而 IMO 及混合低聚糖对瘤胃菌群的多样性无显著影响( $P > 0.05$ );2 种低聚糖均显著降低了 DGGE 凝胶上的条带数( $P < 0.05$ ),而混合低聚糖处理后 DGGE 凝胶上的条带数则无显著变化( $P > 0.05$ );本研究利用 PCR - DGGE 方法研究功能性寡糖组合对锦江黄牛瘤胃固相微生物多样性的影响,结果表明:添加寡糖对瘤胃固相细菌无明显影响。这与 Larue 等<sup>[15]</sup>、王新峰<sup>[16]</sup>研究结果不一致,这可能分析样品有关。在本研究中是采集固相样品进行分析,而王新峰<sup>[16]</sup>研究所采集的样品是瘤胃固相和液相混合样品。也可能是因为功能性寡糖进入瘤胃后,并未对附着在饲料颗粒上微生物产生影响,而是以其他的形式影响瘤胃微生物生长与繁殖,其真实的原因目前不清楚,因此,下一步有必要研究功能性寡糖组合对锦江黄牛瘤胃液相微生物多样性影响。以探明功能性寡糖对整个瘤胃微生物区系的影响。

本研究使用带 GC 夹板的 V6 - V8 区片段的 968f/1401r 引物进行 PCR 扩增及 DGGE 电泳技术,未发现添加功能性寡糖组合对锦江黄牛瘤胃固相细菌产生影响。对锦江黄牛瘤胃液相微生物多样性影响有待下一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 戈婷婷,瞿明仁,张晖,等. 功能性寡糖对锦江黄牛瘤胃发酵及微生物生长效率的影响[J]. 动物营养学报, 2012, 24(3): 57-562.
- [2] 游金明,付建福,王自蕊,等. 丁酸钠和甘露寡糖对断奶仔猪生长性能和免疫功能的影响[J]. 动物营养学报, 2010, 22(2): 346-351.
- [3] 游金明,瞿明仁,王自蕊,等. 壳寡糖与金霉素在肉仔鸡生长性能上的对比效应[J]. 江西农业大学学报, 2008, 30(1): 94-98.
- [4] 张学峰,瞿明仁,王立阁,等. 大豆寡糖对瘤胃微生物区系的影响[J]. 动物营养学报, 2008, 20(3): 355-359.
- [5] 刘兵,瞿明仁,张学峰,等. 瘤胃灌注大豆寡糖对绵羊消化道内营养物质流通与消化的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2008, 39(7): 915-922.
- [6] 凌宝明,瞿明仁,卢德勋,等. 利用体外法研究功能性寡糖对生长绵羊瘤胃发酵特性的影响[J]. 动物营养学报, 2007, 19(2): 129-134.
- [7] 刘光斌,刘兵,张学峰,等. 不同水平大豆寡糖(SBOS)对生长不同水平大豆寡糖(SBOS)对生长[J]. 江西农业大学学报, 2007, 29(6): 871-875.
- [8] 瞿明仁,凌宝明,卢德勋,等. 灌注果寡糖对生长绵羊瘤胃发酵功能的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(8): 779-784.
- [9] 闵力,瞿明仁,戈婷婷,等. 不同组合功能性寡糖对稻草在锦江黄牛瘤胃降解率的影响[J]. 江西农业大学学报, 2012, 34(3): 301-308.
- [10] 戈婷婷. 不同组合的功能性寡糖(NDOs)对锦江黄牛体外发酵的影响[D]. 南昌:江西农业大学, 2011.
- [11] Wang H F, Zhu W Y, Yao W, et al. DGGE and 16S rDNA sequencing analysis of bacterial communities in colon content and feces of pigs fed whole crop rice[J]. Anaerobe, 2007, 13: 127-133.
- [12] Van Orsouw N J, Li D, Vijg J. Denaturing gradient gel electrophoresis(DGGE) increases resolution and information of Alu-directed inter-repeat PCR[J]. Molecular and Cellular Probes, 1997, 11: 95-101.
- [13] Krause D O, Russell J B. An rRNA-approach for assessing the role of obligate amino acid-fermenting bacteria in ruminal amino acid deamination[J]. Appl Environ Microbiol, 1996, 62: 815-821.
- [14] Odenyo A A, Mackie R I, Stahl D A. The use of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes to study competition between ruminal fibrolytic bacteria: development of probes for ruminococcus species and evidence for bacteriocin production[J]. Appl Environ Microbiol, 1994, 60: 3688-3696.
- [15] Laure R, Yu Z T, Parisi V A, et al. Novel microbial diversity adherent to plant biomass in the herbivore gastrointestinal tract as revealed by ribosomal intergenic spacer analysis and rrs gene sequencing[J]. Environ Microbiol, 2005(7): 530-543.
- [16] 王新峰,冷青文,李志远,等. 低聚糖对断奶羔羊瘤胃菌群的影响[J]. 动物营养学报, 2010, 22(5): 1396-1400.