

网络出版时间:2012-07-18 10:40

网络出版地址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20120718.1040.016.html>

日粮 NDF 水平对断奶獭兔生长性能和肠道形态的影响

王金利,任战军,宋洪新,曹玮娜,冯 奇,韩 营,常万波,马红英

(西北农林科技大学 动物科技学院,陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 【目的】研究日粮中性洗涤纤维(NDF)水平对断奶獭兔生产性能、肠道形态、盲肠 pH 值、腹泻率、死亡率和血液碱性磷酸酶(AKP)活性的影响。【方法】将 56 只体质质量相近(432.11 ± 11.17 g)的 35 d 断奶獭兔,随机分为 4 组,分别饲喂含质量分数 29%,33%,37%和 41%NDF 的日粮,进行 28 d 的饲喂试验,于 14 和 28 d 测定各组采食量和体质量,计算各组生产性能。饲喂结束后,屠宰并及时采集血液和肠道样品,测定肠道绒毛高度和隐窝深度及血液 AKP 活性、盲肠 pH 值、腹泻率、死亡率。【结果】各 NDF 处理组间的生产性能差异显著($P < 0.05$),其中 33% NDF 组的平均日增质量显著高于 37% NDF 组和 41% NDF 组($P < 0.05$),料质量比显著低于 29% NDF 组和 41% NDF 组($P < 0.05$)。日粮 NDF 水平对十二指肠肠绒毛高度和隐窝深度、空肠肠绒毛高度的影响均不显著($P > 0.05$);日粮 NDF 水平对空肠隐窝深度有显著影响($P < 0.05$),表现为低水平 NDF 使空肠隐窝加深;日粮 NDF 水平对回肠肠绒毛高度、隐窝深度和肠绒毛高度/隐窝深度都有显著影响($P < 0.05$),表现为 41% NDF 组的肠绒毛高度和隐窝深度均较其他组高,而肠绒毛高度/隐窝深度值显著低于 29% NDF 组($P < 0.05$)。腹泻率和死亡率随着日粮 NDF 水平的升高呈降低趋势,AKP 活性在各组间无显著差异,盲肠 pH 值随日粮 NDF 水平的提高而总体升高,且 37% NDF 组和 41% NDF 组盲肠 pH 显著高于 29% NDF 组和 33% NDF 组($P < 0.05$)。【结论】高 NDF 水平日粮可降低断奶獭兔腹泻率,影响其肠道形态,当日粮 NDF 质量分数为 33%时 1~2 月龄獭兔生产性能最好。

[关键词] 獭兔;NDF 水平;肠道形态

[中图分类号] S829.15

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2012)08-0034-05

Effect of diets NDF levels on growth performance and intestinal mucosa morphology of weaned rex rabbit

WANG Jin-li, REN Zhan-jun, SONG Hong-xin, CAO Wei-na, FENG Qi,
HAN Ying, CHANG Wan-bo, MA Hong-ying

(College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】An experiment was conducted to determine the effects of different levels of diets NDF on growth performance, intestinal mucosa morphology and cecal pH, diarrhea percentage and plasma AKP of rabbit. 【Method】Fifty-six 35-d old healthy weaned rex rabbits were randomly divided into 4 groups, and fed the diets with NDF level of 29%, 33%, 37% and 41% respectively for 28 days. Feed intake and body weight were determined on day 14 and 28, respectively. After sampling blood in heart, the rabbit were blunt to death, and the intestinal samples were collected immediately to determine intestinal villous height and crypt depth. 【Result】Results showed that the growth performance of 4 groups was different

* [收稿日期] 2012-12-31

[基金项目] 陕西省农业攻关项目(2010K01-16)

[作者简介] 王金利(1984—),女,新疆阿勒泰人,在读硕士,主要从事特种经济动物营养调控研究。E-mail:jinli1@yeah.net

[通信作者] 任战军(1966—),男,陕西淳化人,副教授,主要从事特种经济动物研究。E-mail:renzhanjun@nwsauf.edu.cn

($P<0.05$). The average gain(AG) of NDF 33% group was higher than 37%group and 41% group ($P<0.05$),and the feed conversion rate was lower than 29% and 41% NDF groups ($P<0.05$). There was no effects of diets NDF levels on villous height, crypt depth of duodenum and villous height of jejunum ($P>0.05$);the crypt depth of jejunum 29% group and 33% group were higher than group 37% ($P<0.01$),and low NDF level increased the crypt depth. With 41% NDF in diet, jejunum villous height and crypt depth were higher than the other groups. The ratio of villous height to crypt depth was lower than 29% NDF group($P<0.05$). Diarrhea percentage and mortality were decreased with increasing diet NDF level. AKP activity were similar between the treatments ($P>0.05$). Cecal pH was increased with increasing diet NDF level, and diet with 37% and 41%NDF group were higher than group with 29% and 33% diet NDF.【Conclusion】 In conclusion lower NDF diets can raise the growth performance, while higher NDF diets can raise the villous height and effects intestinal morphology. The group of NDF 33% rabbits' growth performance is the best.

Key words: rex rabbit; NDF levels; intestinal mucosa morphology

幼兔断奶阶段常发生断奶腹泻,其主要原因是营养应激^[1]。纤维是日粮中具有特殊营养生理作用的复合成分,有研究表明,日粮纤维对兔的生产性能、肠道形态、盲肠发酵和腹泻率都有影响^[2-4],较高水平的日粮纤维有利于仔猪的健康和肠道的发育^[5],可影响固始鸡肠绒毛长度和隐窝深度^[6],进而影响肠道的吸收功能。日粮中性洗涤纤维(NDF)包括了日粮中的全部纤维素及绝大部分木质素和半纤维素,其较粗纤维更能准确地反映日粮的纤维素水平。NDF 是兔日粮的重要组分,但目前关于日粮 NDF 水平对獭兔生产性能、肠道形态和血液碱性磷酸酶(AKP)活性影响的报道较少。为此,本试验研究了不同水平 NDF 对断奶幼龄獭兔生产性能、肠道形态、盲肠 pH 值、腹泻率、死亡率和血液 AKP 活性的影响,旨在为科学评价日粮 NDF 水平提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

体质量相近((432.11±11.17) g)、35 d 断奶獭兔 56 只,购于伟丰獭兔场。

1.2 试验设计

参照 NRC(1977)^[7]家兔营养标准,设计 4 组 NDF 水平的日粮,其中 NDF 的质量分数分别为 29%,33%,37%和 41%,各组日粮组成及其营养水平详见表 1。将供试验用的 56 只獭兔随机分成 4 组,每组 14 只,每只为 1 个重复,分别饲喂 4 组日粮。

1.3 饲养管理及采样

预饲期 5 d,正饲期 28 d。试验獭兔常规饲养管理,自由采食和饮水。正常防疫和兔舍消毒。于

2011-09-03 08:00 各组随机选 6 只 68 日龄的獭兔,心脏采血后注射空气致死,采集肠道样品备用。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 生产性能 分别在正饲期 14 和 28 d 19:00 测定各组獭兔的采食量和体质量,计算其平均日采食量、日增质量和料质量比。

1.4.2 肠道形态 屠宰后分别取獭兔的十二指肠、空肠和回肠各 6~10 cm,用生理盐水轻轻冲洗干净里面的食糜后将其分成 3 段,放入 40 g/L 多聚甲醛溶液中固定 24 h 以上,制作石蜡切片,H. E 染色观察肠道形态,从每张切片中选取 10 根最长肠绒毛和 5 个隐窝,通过 Image-pro 6.0 软件测定肠绒毛高度(从肠绒毛顶端到隐窝开口垂直距离)和隐窝深度(从隐窝开口到隐窝基部垂直距离),共测定 3 张不连续切片,记录数据,计算肠绒毛高度/隐窝深度(VCR)。

1.4.3 AKP 活性 心脏采血 10 mL,加肝素钠抗凝,离心分离血浆,-20 ℃保存,待测。采用南京建成 AKP 试剂盒测定 AKP 活性。

1.4.4 盲肠 pH 值 屠宰后及时打开腹腔用棉线结扎盲肠并分离,选择盲肠上 3 个不同位点,以 pH 计插入 1 cm 直接测其 pH 值。

1.4.5 腹泻率与死亡率 试验期间统计各组獭兔腹泻和死亡情况,计算腹泻率和死亡率:

腹泻率=Σ(腹泻只数×腹泻天数)/(试验只数×试验天数)×100%;

死亡率=死亡只数/试验只数×100%。

1.5 数据处理

采用 SPSS 18.0 软件,计算各指标的平均值和标准差,并进行显著性检验($P<0.05$),采用 Dun-

can’s 法进行多重比较。

表 1 日粮组成及营养水平
Table 1 Composition and nutrient levels of diets

日粮组成 Ingredients	NDF 质量分数/% NDF levels			
	29	33	37	41
玉米/(g·kg ⁻¹) Corn	370.0	287.0	246.5	218.0
豆粕/(g·kg ⁻¹) Soyban meal	135.0	147.0	135.0	105.0
麸皮/(g·kg ⁻¹) Wheat bran	80.0	80.0	130.0	165.0
菜粕/(g·kg ⁻¹) Rap meal	40.0	31.0	40.0	61.5
苜蓿草粉/(g·kg ⁻¹) Alfalfa hay meal	300.5	383.5	341.0	292.0
食盐/(g·kg ⁻¹) Salt	3.0	3.0	3.0	3.0
蛋氨酸/(g·kg ⁻¹) Met	1.5	1.5	1.5	1.5
赖氨酸/(g·kg ⁻¹) Lys	1.0	1.0	1.0	1.0
石粉/(g·kg ⁻¹) Limestone	19.0	16.0	15.0	19.0
磷酸氢钙/(g·kg ⁻¹) Dicalcium phosphate	10.0	10.0	18.0	4.0
沸石粉/(g·kg ⁻¹) Zeolite powder	30.0	30.0	—	—
菜籽油/(g·kg ⁻¹) Rap oil	—	—	13.0	20.0
稻壳粉/(g·kg ⁻¹) Rice hull	0	0	46.0	100.0
预混料/(g·kg ⁻¹) Premix	10.0	10.0	10.0	10.0
营养水平 Nutrient level				
干物质/(g·kg ⁻¹) DM	893.0	897.0	898.0	899.0
粗蛋白质/(g·kg ⁻¹) CP	175.0	177.0	177.0	173.0
中性洗涤纤维/(g·kg ⁻¹) NDF	293.0	330.0	370.0	409.0
钙/(g·kg ⁻¹) Ca	11.0	10.0	12.0	10.0
磷/(g·kg ⁻¹) P	9.7	10.6	11.1	9.4
蛋氨酸/(g·kg ⁻¹) Met	4.2	4.3	4.1	4.2
赖氨酸/(g·kg ⁻¹) Lys	10.5	10.9	10.3	10.2
消化能/(MJ·kg ⁻¹) DE	11.2	10.7	10.7	10.5

注:预混料可为每千克日粮提供:VA 15 000 IU;VD₃ 2 000 IU;VE 100 IU;VK₃ 2 mg;VB₁ 2 mg;VB₂ 9 mg;VB₆ 1.5 mg;VB₁₂ 0.02 mg;VB₁₁ 0.08 mg;泛酸钙 15 mg;烟酸 40 mg;胆碱 600 mg;Zn 150 mg;Fe 150 mg;Cu 200 mg;Mn 20 mg;I 0.3 mg;Se 0.3 mg;消化能为计算值,其他营养水平为实测值。

Note:The premix provided following per kg of diet:VA 15 000 IU;VD₃ 2 000 IU;VE 100 IU;VK₃ 2 mg;VB₁ 2 mg;VB₂ 9 mg;VB₆ 1.5 mg;VB₁₂ 0.02 mg;VB₁₁ 0.08 mg,calcium pantothenic 15 mg,nicotinic acid 40 mg,choline 600 mg,Zn 150 mg;Fe 150 mg;Cu 200 mg;Mn 20 mg;I 0.3 mg;Se 0.3 mg;DE was a calculated value,and other nutricent levels were measure valnes.

2 结果与分析

2.1 日粮 NDF 水平对断奶獭兔生产性能的影响

日粮 NDF 水平对断奶獭兔生产性能的影响见

表 2 日粮 NDF 水平对断奶獭兔生产性能的影响

Table 2 Effects of NDF levels of diets on growth performance in weaned rex rabbit

项目 Item	生长阶段/d Phase	NDF 质量分数/% NDF levels				SEM	P 值 P values
		29	33	37	41		
平均日增质量/ (g·d ⁻¹) ADG	1~14	29.07 ab	32.07 a	27.79 b	25.36 b	0.73	0.023
	14~28	46.86 a	48.00 a	41.07 b	43.07 b	1.24	0.044
	1~28	38.73 ab	41.12 a	35.60 b	35.54 b	1.32	0.048
平均日采食量/ (g·d ⁻¹) ADFI	1~14	52.14 a	50.36 a	47.79 b	45.79 b	0.97	0.030
	14~28	93.79	85.93	81.29	84.21	1.42	0.089
	1~28	74.64	69.16	65.52	66.16	1.45	0.561
料质量比 F/G	1~14	1.81 b	1.73 c	1.83 b	1.98 a	0.01	0.011
	14~28	2.02 a	1.89 b	2.09 a	2.06 a	0.01	0.032
	1~28	1.95 b	1.77 a	1.84 ab	1.90 b	0.01	0.046

注:同行数字据后标相同小写字母者表示差异不显著(P>0.05);标不同小写字母者表示差异显著(P<0.05)。下表同。
Note:In the same row,values with the same or no letter superscripts mean no significant difference (P>0.05),while with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05). The same as below.

由表 2 可知,在各生长阶段,随着饲料 NDF 水平的升高,断奶獭兔平均日增质量呈先增高后降低的变化趋势,其中 33% NDF 组平均日增质量显著高于 37% NDF 组和 41% NDF 组($P<0.05$);断奶獭兔平均日采食量在 1~14 d 随着日粮 NDF 水平的提高而降低,29% NDF 组和 33% NDF 组显著高于 37% NDF 组和 41% NDF 组,在 14~28 及 1~28 d,各组间平均日采食量差异不显著($P>0.05$);在各生长阶段,料质量比随着 NDF 水平的升高呈先降低再逐渐升高的变化趋势,其中 33% NDF 组的料质量比最低,显著低于其他各组($P<0.05$),29% NDF 组在 1~28 d 最高。

2.2 日粮 NDF 水平对断奶獭兔肠道黏膜形态的影响

从表 3 可以看出,日粮 NDF 水平对小肠各肠段

肠道黏膜形态的影响不同。日粮 NDF 水平对十二指肠的肠绒毛高度、隐窝深度和 VCR 均无显著影响($P>0.05$)。空肠肠绒毛高度在各 NDF 水平组差异不显著($P>0.05$);但 29% NDF 组和 33% NDF 组隐窝深度显著高于 37% NDF 组($P<0.05$);41% NDF 组和 37% NDF 组 VCR 显著高于 29% NDF 组($P<0.05$),而与 33% NDF 组差异不显著($P>0.05$)。比较 4 个处理组的回肠肠绒毛高度和隐窝深度,结果表明,41% NDF 组肠绒毛高度显著高于 29% NDF 组和 33% NDF 组($P<0.05$),但与 37% NDF 组差异不显著($P>0.05$);41% NDF 组的隐窝深度显著高于 29% NDF 组和 37% NDF 组($P<0.05$),但与 33% NDF 组差异不显著($P>0.05$);29% NDF 组 VCR 显著高于 41% NDF 组($P<0.05$),而与其他组差异不显著。

表 3 日粮 NDF 水平对断奶獭兔肠道黏膜形态的影响

项目 Item		NDF 质量分数/% NDF levels				SEM	P 值 P values
		29	33	37	41		
十二指肠 Duodenum	肠绒毛高度/ μm Villous height	862.1	1 019.6	926.5	874.5	27.9	0.182
	隐窝深度/ μm Crypt depth	116.2	141.1	113.7	108.3	5.0	0.081
	肠绒毛高度/隐窝深度 VCR	7.8	7.3	8.2	8.1	0.3	0.705
空肠 Jejunum	肠绒毛高度/ μm Villous height	587.3	633.6	544.1	671.6	30.5	0.574
	隐窝深度/ μm Crypt depth	105.7 a	93.8 a	70.0 b	85.7 ab	4.2	0.006
	肠绒毛高度/隐窝深度 VCR	5.8 a	6.8 ab	7.8 b	7.9 b	0.4	0.032
回肠 Ileum	肠绒毛高度/ μm Villous height	571.2 b	600.3 b	606.7 ab	724.8 a	22.5	0.047
	隐窝深度/ μm Crypt depth	70.6 b	97.7 ab	84.1 b	119.5 a	9.1	0.130
	肠绒毛高度/隐窝深度 VCR	8.1 a	6.5 ab	7.4 ab	6.1 b	0.3	0.045

2.3 日粮 NDF 水平对断奶獭兔血液 AKP 活性、盲肠 pH 值、腹泻率和死亡率的影响

从表 4 可以看出,断奶獭兔的 AKP 活性、腹泻率和死亡率均随着日粮 NDF 水平的升高而降低,但各组间差异均未达显著水平。日粮 NDF 水平对盲

肠 pH 值影响显著,37% NDF 组、41% NDF 组的盲肠 pH 显著高于 29% NDF 组和 33% NDF 组($P<0.05$)。总体来看,盲肠 pH 值随日粮 NDF 水平的提高而升高。

表 4 日粮 NDF 水平对断奶獭兔血液 AKP 活性、盲肠 pH 值、腹泻率和死亡率的影响

项目 Item	NDF 质量分数/% NDF levels				SEM	P 值 P values
	29	33	37	41		
碱性磷酸酶/($\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$)AKP	23.24	18.83	24.06	19.81	1.00	0.234
盲肠 pH Cecal pH	5.89 a	6.01 a	6.49 b	6.44 b	0.08	0.005
腹泻率/% Diarrhea rate	5.43	4.31	3.01	2.25	—	—
死亡率/% Death rate	21.42	14.33	7.15	7.15	—	—

3 讨论

3.1 日粮 NDF 水平对断奶獭兔生产性能的影响

有研究表明,家兔 40%维持机体的能量由后肠道发酵所产生的挥发性脂肪酸(VFA)提供^[8-9]。日粮中的纤维含量过高会加速食物的排空,降低营养物质的消化率和吸收率,造成营养浪费,从而降低动

物的生产性能。本试验结果表明,在各生长阶段,33% NDF 组獭兔的平均日增质量最高,料质量比较低,生长性能最好,腹泻率和死亡率都有所降低。陶志勇等^[4]的研究结果表明,30% NDF 组肉兔的生长性能最好,与本试验结果有一定差异,其原因可能是肉兔对日粮 NDF 的需求量比獭兔低。

3.2 日粮 NDF 水平对断奶獭兔肠道黏膜形态的影响

目前,关于日粮纤维水平对动物肠道形态影响的报道结果尚不一致。周世霞等^[10]研究表明,日粮不同粗纤维水平对鹅肠道隐窝深度影响不显著,但对肠绒毛高度影响显著;Jin 等^[11]研究表明,高纤维日粮可使生长期猪空肠和回肠的肠绒毛显著增粗,隐窝加深。晁洪雨等^[12]研究表明,较高的酸性洗涤纤维水平可提高肉兔十二指肠的肠绒毛高度。本试验结果表明,日粮 NDF 水平对十二指肠、空肠和回肠的影响程度不同。日粮 NDF 水平对十二指肠的肠绒毛高度和隐窝深度均无显著影响,其原因可能是由于十二指肠较短,食糜通过时间较短,并且十二指肠主要消化和吸收的物质是糖类和蛋白等,所以对日粮 NDF 水平改变不敏感;日粮 NDF 对空肠肠绒毛高度无显著影响,但 29% NDF 组和 33% NDF 组的隐窝深度明显大于其他各组,表明 29% NDF 组和 33% NDF 组獭兔的肠壁细胞分化率和死亡率较其他组高,肠壁损伤较大;日粮 NDF 水平对回肠的肠绒毛高度和隐窝深度影响显著,这与周世霞等^[10]在鹅上的研究结果不一致。Jin 等^[11]认为,日粮纤维水平过高会使隐窝细胞数量增加、隐窝加深。可以看出,日粮 NDF 水平对獭兔小肠中的空肠和回肠影响较大。其原因可能是,空肠和回肠的长度较长,肠道横截面积较大,食糜在此停留的时间较长,并且回肠具有一定消化 NDF 的能力^[13],故日粮中的 NDF 水平变化对空肠和回肠的影响较十二指肠大。

3.3 日粮 NDF 水平对断奶獭兔血液 AKP 活性、盲肠 pH 值、腹泻率和死亡率的影响

机体 AKP 主要来源于肝和骨骼等组织,它可反映肝胆和骨骼的健康状况,肠黏膜上的 AKP 活性可以从侧面反映肠道对营养物质的吸收能力。目前,关于日粮 NDF 水平和血液 AKP 的相关性研究较少。本试验结果表明,日粮 NDF 水平对血液 AKP 活性影响不显著,这与刘记强^[6]和周世霞等^[10]在鸡和鹅上的研究结果一致。盲肠 pH 值是衡量盲肠发酵的一个重要标准。一般认为,盲肠 pH 值过低不利于大肠杆菌等有害菌的定植。本试验结果表明,随着日粮 NDF 水平的提高,兔盲肠 pH 值总体升高,这与晁洪雨^[14]关于日粮酸性洗涤纤维水平对肉兔盲肠发酵影响的研究结果类似,但与谷子林等^[15]的报道并不一致。其原因可能是,决定盲肠 pH 值的因素较多,如 H^+ 、 HO^- 、VFA、氨态

氮等都可可在一定程度上影响盲肠 pH 值^[16],加之内源性的或日粮中的一些缓冲物质也可影响盲肠 pH 值,因此目前关于日粮纤维对盲肠 pH 值影响的报道并不一致。

本试验结果显示,随着日粮 NDF 水平的提高,獭兔的腹泻率和死亡率均降低,这与谷子林等^[15]研究的粗纤维水平对腹泻率影响的结果一致。

4 结 论

本试验结果表明,日粮 NDF 水平对断奶獭兔的生产性能、肠道形态、盲肠 pH 值等都有影响;日粮 NDF 质量分数为 33% 时,1~2 月龄獭兔生产性能最好。

[参考文献]

- [1] Funderburke D, Seerley R. The effects of postweaning stressors on pig weight change, blood, liver and digestive tract characteristics [J]. *Journal of Animal Science*, 1990, 68(1): 155-162.
- [2] 谷子林, 霍贵成, 张玉华. 日粮粗纤维及对家兔的生理功能 [J]. *饲料工业*, 2002, 23(11): 16-18.
Gu Z L, Huo G C, Zhang Y H. Crude fiber in daily ration and physiology functions for rabbits [J]. *Fees Industry*, 2002, 23(11): 16-18. (in Chinese)
- [3] 祝素珍, 李福昌. 2~3 月龄肉兔日粮消化能水平对消化代谢和产肉性能影响的研究 [J]. *动物营养学报*, 2004, 16(4): 51-57.
Zhu S Z, Li F C. Effects of digestible energy levels on digestibility, metabolism and meat quality of 2-3 months meat rabbits [J]. *Acta Zoonutrimenta Sinica*, 2004, 16(4): 51-57. (in Chinese)
- [4] 陶志勇, 李福昌. 日粮中性洗涤纤维水平对断奶至 2 月龄肉兔生产性能、消化代谢和盲肠发酵的影响 [J]. *动物营养学报*, 2005, 17(4): 56-61.
Tao Z Y, Li F C. Effects of dietary NDF levels on production performance, digestibility, metabolism and caecum fermentation of weaning to two month old meat rabbits [J]. *Acta Zoonutrimenta Sinica*, 2005, 17(4): 56-61. (in Chinese)
- [5] 杨玉芬, 卢德勋, 许梓荣. 日粮纤维对仔猪生长性能和消化生理功能的影响 [J]. *动物营养学报*, 2009, 21(6): 816-821.
Yang Y F, Lu D X, Xu Z R. Effect of dietary fiber on growth performance and digestive physiology function of piglets [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2009, 21(6): 816-821. (in Chinese)
- [6] 刘记强. 日粮纤维对固始鸡生长发育、消化生理和盲肠微生物定植规律的影响 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2009.
Liu J Q. Effects of dietary crude fiber levels on growth and development, digestive physiology and cecal microflora colonization law in gushi chicken [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2009. (in Chinese)