

瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对绵羊胃肠道内容物和血浆中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

赵 芳 陈 晖 王 根 高 超 赵国栋 马 晨 杨开伦*

(新疆农业大学动物科学学院, 新疆肉乳用草食动物营养重点实验室, 乌鲁木齐 830052)

摘 要: 本试验旨在研究绵羊胃肠道内容物中褪黑素的分布特点, 探究瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对绵羊胃肠道内容物和血浆中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响, 探讨通过 5-羟基色氨酸调节绵羊肠道中褪黑素合成的可能性。试验选取健康、平均体重为 (47.79±3.70) kg 的 3 岁哈萨克母羊 15 只, 按体重分为 3 组, 每组 5 只, 分别为对照组和试验 I、II 组。每天每只羊的粉状精料饲喂量为体重的 1.2%, 玉米青贮饲喂量为 0.9 kg, 混合干草自由采食, 在此基础上, 试验 I、II 组羊只分别饲喂 111、222 mg/kg BW 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸, 进行 15 d 的饲养试验。结果表明, 绵羊胃肠道内容物中 5-羟基色氨酸含量的分布特点是: 盲肠>空肠、结肠>瘤胃液、十二指肠、回肠; 褪黑素含量分布特点是: 十二指肠>瘤胃液、空肠>回肠、盲肠>结肠。除盲肠和结肠外, 试验 I、II 组绵羊胃肠道内容物中 5-羟基色氨酸含量极显著高于对照组 ($P<0.01$)。试验 II 组十二指肠内容物中 5-羟色胺、N-乙酰-5-羟色胺含量极显著高于对照组 ($P<0.01$), 结肠内容物中 5-羟色胺、N-乙酰-5-羟色胺含量显著高于对照组 ($P<0.05$); 试验 I 组空肠、回肠内容物中 5-羟色胺、N-乙酰-5-羟色胺含量极显著低于对照组、试验 II 组 ($P<0.01$)。试验 I、II 组结肠内容物中褪黑素含量极显著高于对照组 ($P<0.01$)。试验 I、II 组十二指肠、空肠内容物中 5-羟基吲哚乙酸含量极显著低于对照组 ($P<0.01$), 但试验 II 组盲肠、结肠内容物中 5-羟基吲哚乙酸含量极显著高于对照组 ($P<0.01$)。试验 II 组血浆中 5-羟基色氨酸、5-羟色胺、褪黑素含量均显著或极显著高于

收稿日期: 2018-04-05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31760681)

作者简介: 赵 芳 (1989-), 女, 新疆阿勒泰人, 博士研究生, 研究方向为草食动物营养代谢。E-mail: 937317612@qq.com

*通信作者: 杨开伦, 教授, 博士生导师, E-mail: yangkailun2002@aliyun.com

对照组 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。由此可见, 绵羊胃肠道内容物中 5-羟基色氨酸含量的分布特点是: 盲肠>空肠、结肠>瘤胃液、十二指肠、回肠; 褪黑素含量分布特点是: 十二指肠>瘤胃液、空肠>回肠、盲肠>结肠。瘤胃保护性 5-羟基色氨酸补喂量为 222 mg/kg BW 时能提高胃肠道内容物中 5-羟基色氨酸含量, 但对 5-羟色胺、褪黑素含量的影响在各胃肠段表现不同。瘤胃保护性 5-羟基色氨酸补喂量为 111、222 mg/kg BW 时均能提高绵羊血浆中 5-羟基色氨酸、5-羟色胺、褪黑素含量。

关键词: 绵羊; 胃肠道; 内容物; 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸; 褪黑素

中图分类号: S826

文献标识码:

文章编号:

褪黑素 (melatonin, MT) 除了可以在松果体中合成, 肠道组织中也可合成大量的褪黑素^[1], 且肠道组织中的褪黑素含量是松果体的 400~500 倍^[2]。肠道组织中的褪黑素来自肠黏膜中的嗜铬细胞^[3], 肠黏膜中合成的褪黑素可分泌至肠道内容物中^[4]。肠道中褪黑素含量的分布存在明显的种属差异。猪胃肠道内容物中褪黑素含量变化趋势为: 结肠>盲肠>回肠>空肠>胃; 而牛胃肠道内容物中褪黑素含量变化趋势为: 回肠、结肠、盲肠>瘤胃、网胃、瓣胃、皱胃>空肠^[5]。大鼠直肠内容物中褪黑素含量较高, 但在胃、十二指肠、空肠、回肠、结肠内容物中褪黑素含量较低^[6]。猪在禁食 30 h 后进行饲喂, 除直肠外, 各肠段组织、肠黏膜、内容物中褪黑素含量均明显升高, 且内容物中褪黑素含量均在进食后 5 h 达峰值^[5]。因此, 禁食与采食、摄入褪黑素或褪黑素的前体物质等均能影响动物肠道组织或肠道内容物中褪黑素的含量^[7]。

肠黏膜中由色氨酸为前体物质合成并分泌到肠道内容物中的褪黑素在动物肠道运动调节和组织健康维护中具有重要作用^[2], 其中 5-羟基色氨酸 (5-hydroxytryptophan, 5-HTP) 是色氨酸代谢为褪黑素过程中重要的中间产物之一, 5-羟基色氨酸在芳香族氨基酸脱羧酶、5-羟色胺 N-乙酰转移酶、羟基吲哚氧位甲基转移酶的催化下, 转化为褪黑素。褪黑素及其前体物质如 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT)、5-羟基色氨酸等在绵羊肠道内容物中的含

量分布特点尚未见有研究报道,因此,本试验一方面研究褪黑素及其前体物质如 5-羟色胺、5-羟基色氨酸等在绵羊肠道内容物中的含量分布特点,另一方面研究补喂褪黑素前体物质——瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对绵羊肠道内容物中褪黑素及其前体物质如 5-羟色胺、5-羟基色氨酸等含量的影响,为进一步认识褪黑素在绵羊等反刍动物肠道运动调节和组织健康维护中的作用提供科学理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 试验时间与地点

本试验于 2017 年 8 月 1 至 2017 年 8 月 16 日在新疆惠康畜牧生物科技有限公司羊场进行,采集血样当天日出时间为 06:08,日落时间为 22:04。

1.2 试验材料

5-羟基色氨酸购自武汉远成共创科技有限公司,纯度为 98%;瘤胃保护性 5-羟基色氨酸是以 5-羟基色氨酸为原料,由北京亚禾营养高新技术有限责任公司加工制成,其中 5-羟基色氨酸有效含量为 45.00%,过瘤胃率为 88.60%。瘤胃保护性 5-羟基色氨酸过瘤胃率的测定过程为:准确称取 10 g 制成的瘤胃保护性 5-羟基色氨酸于带玻璃塞的锥形瓶中,加入 100 mL 蒸馏水,放入 37 °C、50 r/min 的水浴摇床中,预孵 4 h 后取出锥形瓶,过滤后得 5-羟基色氨酸溶液。使用高效液相色谱仪测定滤液中 5-羟基色氨酸含量。

瘤胃保护性 5-羟基色氨酸的过瘤胃率(%)=[(瘤胃保护性 5-羟基色氨酸中 5-羟基色氨酸含量-溶液中 5-羟基色氨酸含量)/瘤胃保护性 5-羟基色氨酸中 5-羟基色氨酸含量]×100。

1.3 试验设计

试验选取健康、平均体重为(47.79±3.70) kg 的 3 岁哈萨克母羊 15 只,按体重分为 3 组,每组 5 只,分别为对照组和试验 I、II 组。所有羊只饲喂同一营养水平的粉状精料(购自新疆天康畜牧生物技术股份有限公司),每天每只羊的粉状精料饲喂量为体重的 1.2%,玉米青贮饲喂量为 0.9 kg,混合干草(苜蓿:麦秸≈1:1)自由采食,在此基础上,试验 I、II

组羊只分别饲喂 111、222 mg/kg BW 的瘤胃保护性 5-羟基色氨酸，饲喂量参考 Namboodiri 等^[8]的研究结果。试验过程中使用的粉状精料组成及营养水平见表 1，玉米青贮、苜蓿、麦秸的营养水平见表 2。

表1 粉状精料组成及营养水平（干物质基础）

原料	含量	营养水平	含量
Ingredients	Content	Nutrient levels	Content
玉米 Corn	44.00	干物质 DM	91.28
燕麦 Oat	16.00	有机物 OM	84.29
大麦 Barley	15.00	粗蛋白质 CP	21.82
豆粕 Soybean meal	20.00	中性洗涤纤维	36.24
		NDF	
磷酸氢钙 CaHPO ₄	3.00	酸性洗涤纤维	12.97
		ADF	
食盐 NaCl	1.00	钙 Ca	1.54
预混料 Premix	1.00	磷 P	0.59
合计 Total	100.00		

每千克预混料含有 One kg of premix contained the following: VA 480 IU, VB₁ 816 mg, VB₂ 333 mg, VB₆ 49 mg, VD 70 IU, VE 21 333 IU, 泛酸 pantothenic acid 20 mg, 烟酰胺 nicotinamide 485 mg, Cu (as copper sulfate) 11 mg, Fe (as ferrous sulfate) 35 mg, Mn (as manganese sulfate) 33 mg, Zn (as zinc sulfate) 31 mg, I (as potassium iodide) 2 mg, Se (as sodium selenite) 6 mg, Co (as cobalt chloride) 1 mg。

表2 玉米青贮、苜蓿、麦秸的营养水平（干物质基础）

Table 2 Nutrition levels of corn silage, alfalfa and wheat straw (DM basis) %

项目	玉米青贮	苜蓿干草	麦秸
Items	Corn silage	Alfalfa	Wheat straw
干物质 DM	94.76	93.67	95.93
有机物 OM	84.05	85.30	82.49
粗蛋白质 CP	8.33	13.72	4.21
中性洗涤纤维 NDF	67.36	53.97	71.31
酸性洗涤纤维 ADF	43.73	36.52	47.49
粗灰分 Ash	10.71	8.37	13.44
钙 Ca	0.64	1.36	0.38
磷 P	0.24	0.16	0.07

1.4 饲养管理

试验期间，将每天每只羊的粉状精料和青贮、瘤胃保护性 5-羟基色氨酸平均分为 2 份，分别于 07:45、19:45 饲喂，饲喂时将瘤胃保护性 5-羟基色氨酸与 50 g 粉状精料混合后饲喂，待绵羊摄入完毕后再饲喂其他粉状精料和玉米青贮。饲喂粉状精料、玉米青贮时为单栏饲养，采食完毕后羊只在运动场中自由活动。

1.5 样品的采集与处理

于试验的第 16 天，早上采食后 6 h 进行颈静脉采血，制备血浆。血液采集后立即对绵羊宰杀，放血 2 min 后，将羊只放入手术台上，腹部向上，使用手术刀、剪刀沿腹线将羊只腹腔打开，使用线绳在瘤胃、十二指肠、空肠、回肠、结肠、盲肠的肠结处结扎，剪断结扎处后，立即将肠道内容物捋至干净的塑料烧杯中，混匀后分装至冻存管中（瘤胃液使用 60 目尼龙袋过滤），标记好后立即放入液氮中保存。

1.6 样品的测定

绵羊血浆中 5-羟基色氨酸、5-羟色胺、褪黑素的含量均送至北京华英生物技术研究所进

行测定。5-羟基色氨酸、褪黑素含量测定使用放免法（XH-6020 全自动放免计数器，西安核仪器厂），5-羟色胺含量测定使用酶免法（华卫德朗 DR-200BS 酶标分析仪，无锡华卫德朗仪器有限公司）。

肠道内容物中5-羟基色氨酸、5-羟色胺、N-乙酰-5-羟色胺（N-acetylserotonin, NAS）、褪黑素、5-羟基吲哚乙酸（5-hydroxyindoleacetic acid, 5-HIAA）含量使用超高效液相色谱-串联质谱联用(UHPLC-MS/MS)技术测定（高效液相：1290 Infinity series UHPLC System，购自Agilent公司；高分辨质谱：Q Exactive Focus，购自Thermo Fisher Scientific公司）。使用超高效液相色谱仪，通过Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈（100.0 mm×2.1 mm,1.7 μm）液相色谱柱对目标化合物进行色谱分离，以平行反应监测（parallel reaction monitoring, PRM）模式进行质谱分析。

样品处理过程：称取100 mg内容物（1 mL瘤胃液）于Eppendorf管中，加入1 mL提取液（乙腈:甲醇:水=2:2:1），旋涡混匀30 s，加入钢珠，45 Hz研磨处理10 min，冰水浴条件下超声10 min，12 000 r/min离心15 min（4 °C），取100 μL上清液用于UHPLC-MS/MS分析。流动相、质谱条件：液相色谱流动相A为0.1%甲酸水溶液，流动相B为乙腈。柱温箱温度为40 °C，样品盘设为4 °C，进样体积为1 μL。质谱条件：喷雾电压=+3 500/-3 100 V，气流量（N₂）=40，辅助气体流量（N₂）=5，辅助气体温度=350 °C，离子传输管温度=320 °C。色谱梯度见表3。

表 3 色谱梯度

Table 3 Chromatography gradient

时间	流动相 A（0.1%甲酸水溶液）	流动相 B（乙腈）	流速
Time/min	Mobile phase A（0.1% formic acid solution）/%	Mobile phase B（ACN）/%	Flow rate/（mL/min）
0	95	5	0.40

1.5	95	5	0.40
6.0	60	40	0.40
7.0	5	95	0.40
8.8	5	95	0.40
9.0	95	5	0.40
12.0	95	5	0.40

进行UHPLC-MS/MS分析之前,将目标化合物标准溶液引入质谱中。针对每个目标化合物,对其PRM参数进行优化,并选取其中响应最好的子离子用于定量分析,其他子离子用于目标化合物定性分析,PRM参数优化见表3。

表4 PRM 参数优化

Table 4 PRM parameter optimization

物质名称 Compound names	母离子扫描 Prec ion	子离子扫描 Prod ion	毛细管 电泳 CE/V	开始时间 Start time/min	结束时间 End time/min	极性 Polarity
5-羟基色氨酸 5-HTP	221.092 07	204.064 96	10	0.10	2.23	正极
5-羟色胺 5-HT	177.102 24	160.075 30	10	0.10	2.23	正极
N-乙酰-5-羟色胺 NAS	219.112 80	160.075 30	10	2.24	4.37	正极
褪黑素 MT	233.128 45	174.090 98	10	4.38	12.00	正极
5-羟基吲哚乙酸 5-HIAA	192.065 52	146.059 72	10	2.24	4.37	正极

1.7 数据分析

数据采用 Excel 2003 进行初步整理,试验结果以平均值±标准差 (mean±SD) 表示。试验数据采用 SPSS 18.0 软件的 one-way ANOVA 程序进行方差分析,各组间多重比较采用

Duncan 氏法。

2 结果

2.1 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对绵羊瘤胃液中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

由表 5 可知, 试验 I、II 组瘤胃液中 5-羟基色氨酸含量极显著高于对照组 ($P<0.01$); 试验 II 组瘤胃液中 5-羟色胺含量极显著高于对照组 ($P<0.01$); 对照组瘤胃液中褪黑素含量显著高于试验 II 组 ($P<0.05$), 而对照组与试验 I 组相比差异不显著 ($P>0.05$); 各组间瘤胃液中 N-乙酰-5-羟色胺、5-羟基吲哚乙酸含量无显著差异 ($P>0.05$)。

表 5 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对绵羊瘤胃液中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

Table 5 Effects of rumen protected 5-HTP on contents of 5-HTP and melatonin in rumen fluid of sheep ($n=5$)

项目 Items	5-羟基色氨酸	5-羟色胺	N-乙酰-5-羟色胺 NAS/ (pmol/mL)	褪黑素	5-羟基吲哚乙酸
	5-HTP/ (nmol/mL)	5-HT/ (nmol/mL)		MT/ (nmol/mL)	5-HIAA/ (nmol/mL)
对照组 Control group	0.10±0.01 ^C	0.30±0.03 ^{Bb}	49.34±3.39	15.05±1.11 ^a	3.05±0.28
试验 I 组 Trail group I	0.76±0.11 ^B	0.37±0.01 ^{ABa} b	52.45±4.78	13.59±0.42 ^{ab}	3.29±0.20
试验 II 组 Trail group II	1.35±0.13 ^A	0.83±0.02 ^{Aa}	49.94±4.57	12.84±1.38 ^b	3.08±0.06

同列数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 不同大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$), 相同或无字母表示差异不显著 ($P>0.05$)。下表同。

In the same column, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and with different capital letter superscripts mean significant difference ($P<0.01$), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$). The same as below.

2.2 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对十二指肠内容物中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

由表 6 可知, 十二指肠内容物中, 试验 II 组 5-羟基色氨酸、5-羟色胺、N-乙酰 5-羟色胺含量极显著高于对照组 ($P<0.01$), 但试验 I、II 组褪黑素和 5-羟基吲哚乙酸含量极显著低于对照组 ($P<0.01$)。

表 6 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对绵羊十二指肠内容物中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

Table 6 Effects of rumen protected 5-HTP on contents of 5-HTP and melatonin in duodenum

digesta of sheep ($n=5$)					
项目	5-羟基色氨酸	5-羟色胺	N-乙酰-5-羟色胺	褪黑素	5-羟基吲哚乙酸
Items	5-HTP/ (nmol/g)	5-HT/ (nmol/g)	NAS/ (pmol/g)	MT/ (nmol/g)	5-HIAA/ (nmol/g)
对照组	0.11±0.02 ^C	1.59±0.22 ^{Bb}	10.14±0.89 ^C	23.46±1.64 ^{Aa}	1.03±0.07 ^{Aa}
Control group					
试验 I 组	1.19±0.10 ^B	1.60±0.09 ^{Bb}	13.18±1.16 ^B	19.16±1.10 ^{Bb}	0.74±0.08 ^{Bb}
Trail group I					
试验 II 组	3.03±0.12 ^A	2.38±0.31 ^{Aa}	16.93±1.61 ^A	19.66±1.31 ^{Bb}	0.69±0.18 ^{Bb}
Trail group II					

2.3 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对空肠内容物中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

由表 7 可知, 空肠内容物中, 试验 I、II 组 5-羟基色氨酸含量极显著高于对照组 ($P<0.01$), 试验 II 组 5-羟色胺、N-乙酰 5-羟色胺、褪黑素含量极显著高于对照组、试验 I 组 ($P<0.01$), 对照组 5-羟基吲哚乙酸含量极显著高于试验 I 组、试验 II 组 ($P<0.01$)。

表 7 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对绵羊空肠内容物中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

Table 7 Effects of rumen protected 5-HTP on contents of 5-HTP and melatonin in jejunum

digesta of sheep ($n=5$)					
项目	5-羟基色氨酸	5-羟色胺	N-乙酰-5-羟色胺	褪黑素	5-羟基吲哚乙酸

Items	5-HTP/ (nmol/g)	5-HT/ (nmol/g)	NAS/ (pmol/g)	MT/ (nmol/g)	5-HIAA/ (nmol/g)
对照组 Control group	0.17±0.03 ^C	3.53±0.16 ^B	10.53±1.03 ^B	15.18±0.46 ^B b	2.12±0.13 ^{Aa}
试验 I 组 Trail group I	1.30±0.06 ^B	1.61±0.26 ^C	7.92±0.13 ^C	14.84±1.03 ^B b	1.36±0.12 ^{Bb}
试验 II 组 Trail group II	2.36±0.21 ^A	4.52±0.34 ^A	13.74±1.55 ^A	16.71±0.60 ^A a	1.35±0.17 ^{Bb}

2.4 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对回肠内容物中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

由表 8 可知, 回肠内容物中, 5-羟基色氨酸含量的变化为试验 II 组 > 试验 I 组 > 对照组, 各组间差异极显著 ($P < 0.01$); 试验 I、II 组 5-羟色胺含量极显著低于对照组 ($P < 0.01$); 对照组、试验 II 组 N-乙酰-5-羟色胺含量极显著高于试验 I 组 ($P < 0.01$); 各组间褪黑素、5-羟基吲哚乙酸含量无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 8 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对绵羊回肠内容物中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

Table 8 Effects of rumen protected 5-HTP on contents of 5-HTP and melatonin in ileum digesta of sheep ($n=5$)

项目 Items	5-羟基色氨酸	5-羟色胺	N-乙酰-5-羟色胺 NAS/ (pmol/g)	褪黑素	5-羟基吲哚乙酸 5-HIAA/ (nmol/g)
	5-HTP/ (nmol/g)	5-HT/ (nmol/g)		MT/ (nmol/g)	
对照组 Control group	0.12±0.03 ^C	5.02±0.66 ^A	5.74±0.62 ^{Aa}	6.69±0.81	2.54±0.32
试验 I 组	1.75±0.28 ^B	2.01±0.10 ^C	4.28±0.31 ^{Bb}	6.00±0.53	2.28±0.20

Trail group I					
试验 II 组	3.10±0.29 ^A	3.49±0.20 ^B	5.50±0.51 ^{Aa}	6.57±0.43	2.23±0.25
Trail group II					

2.5 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对盲肠内容物中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

由表 9 可知, 盲肠内容物中, 对照组 5-羟基色氨酸、5-羟色胺、N-乙酰-5-羟色胺含量极显著高于试验 I、II 组 ($P<0.01$), 且试验 II 组 5-羟基色氨酸、N-乙酰-5-羟色胺含量均极显著高于试验 I 组 ($P<0.01$); 各组间褪黑素含量无显著差异 ($P>0.05$); 试验 II 组 5-羟基吲哚乙酸含量极显著高于对照组 ($P<0.01$)。

表 9 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对绵羊盲肠内容物中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

Table 9 Effects of rumen protected 5-HTP on contents of 5-HTP and melatonin in caecum digesta of sheep ($n=5$)

项目 Items	5-羟基色氨酸	5-羟色胺	N-乙酰-5-羟色胺 NAS/ (pmol/g)	褪黑素	5-羟基吲哚乙酸 5-HIAA/ (nmol/g)
	5-HTP/ (nmol/g)	5-HT/ (nmol/g)		MT/ (nmol/g)	
对照组 Control group	0.58±0.01 ^A	6.09±0.62 ^{Aa}	30.73±2.38 ^A	7.25±0.97	2.20±0.36 ^{Bb}
试验 I 组 Trail group I	0.28±0.04 ^C	4.74±0.20 ^{Bb}	14.99±1.83 ^C	7.22±0.87	2.61±0.40 ^{ABab}
试验 II 组 Trail group II	0.42±0.05 ^B	4.93±0.29 ^{Bb}	21.36±2.84 ^B	6.18±0.42	2.97±0.37 ^{Aa}

2.6 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对结肠内容物中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

由表 10 可知, 结肠内容物中, 试验 I、II 组 5-羟基色氨酸、5-羟色胺、N-乙酰-5-羟色胺、褪黑素、5-羟基吲哚乙酸含量均高于对照组; 其中, 试验 II 组 5-羟基色氨酸含量极显著

高于对照组($P<0.01$), 试验 II 组 5-羟色胺、N-乙酰-5-羟色胺含量显著高于对照组($P<0.05$), 试验 I、II 组褪黑素含量极显著高于对照组 ($P<0.01$), 试验 I、II 组 5-羟基吲哚乙酸含量显著或极显著高于对照组 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表 10 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对绵羊结肠内容物中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

Table 10 Effects of rumen protected 5-HTP on contents of 5-HTP and melatonin in colon digesta of sheep ($n=5$)

项目	5-羟基色氨酸 5-HTP/ (nmol/g)	5-羟色胺 5-HT/ (nmol/g)	N-乙酰-5-羟色胺 NAS/ (pmol/g)	褪黑素 MT/ (nmol/g)	5-羟基吲哚乙酸 5-HIAA/ (nmol/g)
对照组 Control group	0.22±0.01 ^{Bb}	6.45±0.32 ^b	30.21±4.23 ^b	4.06±0.71 ^{Bb}	2.41±0.29 ^{Bc}
试验 I 组 Trail group I	0.26±0.07 ^{Bb}	6.46±0.28 ^{ab}	33.16±3.53 ^{ab}	5.10±0.51 ^{Aa}	2.90±0.34 ^{Bb}
试验 II 组 Trail group II	0.91±0.12 ^{Aa}	6.88±0.50 ^a	36.89±3.09 ^a	5.59±0.20 ^A	3.53±0.18 ^{Aa}

2.7 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对绵羊血浆中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

由表 11 可知, 绵羊早上采食瘤胃保护性 5-羟基色氨酸后 6 h, 血浆中 5-羟基色氨酸含量增加, 且试验 II 组极显著高于对照组 ($P<0.01$); 试验 II 组血浆中 5-羟色胺含量显著高于对照组 ($P<0.01$); 试验 II 组血浆中褪黑素含量显著高于对照组 ($P<0.05$)。

表 11 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对绵羊血浆中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

Table 11 Effects of rumen protected 5-HTP on contents of 5-HTP and melatonin in plasma of sheep

项目	5-羟基色氨酸 5-HTP/ (μg/L)	5-羟色胺 5-HT/ (ng/mL)	褪黑素 MT/ (pg/mL)
----	-----------------------	---------------------	-----------------

Items			
对照组	237.04±22.25 ^{Bb}	274.20±33.00 ^{Bb}	61.99±9.42 ^b
Control group			
试验 I 组	294.40±30.73 ^{ABab}	306.27±44.41 ^{ABab}	72.64±9.14 ^{ab}
Trail group I			
试验 II 组	326.32±45.76 ^{Aa}	389.64±49.20 ^{Aa}	83.93±9.70 ^a
Trail group II			

3 讨 论

3.1 绵羊胃肠道内容物中5-羟基色氨酸、5-羟色胺、褪黑素含量的分布特点

目前,关于绵羊肠道内容物中5-羟基色氨酸、5-羟色胺、褪黑素、N-乙酰5-羟基色氨酸、5-羟基吲哚乙酸含量分布的研究报道较少。在本试验中,绵羊各肠段内容物中5-羟基色氨酸含量分布特点有很大差异,表现为盲肠>空肠、结肠>瘤胃液、十二指肠、回肠。肠道内容物中的5-羟基色氨酸可能来自肠道中微生物以饲料中的色氨酸为底物经羟化后形成^[9]。5-羟基色氨酸是5-羟色胺的重要前体物质,但导致绵羊胃肠道内容物中5-羟基色氨酸含量分布的差异及其是否还有其他生理功能尚不明确。5-羟色胺主要存在于肠黏膜的嗜铬细胞中^[10]。大鼠肠组织中5-羟色胺含量变化为:空肠<胃部<回肠<结肠^[11]。在本试验中,对照组绵羊肠道内容物中5-羟色胺含量在结肠中最高,肠道内容物中5-羟色胺含量变化为:瘤胃液<十二指肠<空肠<回肠<盲肠<结肠,与大鼠肠组织中5-羟色胺分布情况基本一致。而在梅花猪肠组织中,5-羟色胺在十二指肠、空肠、回肠、结肠中均有分布,但在十二指肠中含量最高^[12],这可能与猪、绵羊消化系统差异性 & 采食的饲料中色氨酸的水平有关^[13]。N-乙酰-5-羟色胺和5-羟基吲哚乙酸均是5-羟色胺的代谢产物,其中N-乙酰-5-羟色胺是褪黑素形成过程中重要的中间产物。大鼠肠道内容物中5-羟基吲哚乙酸含量变化为:胃部、回肠<空肠<结肠^[14],本试验中,对照组绵羊瘤胃液和结肠内容物中N-乙酰-5-羟色胺和5-羟基吲哚乙酸含量

较高。

肠道中含有大量的褪黑素^[14]，肠道中的褪黑素主要在肠黏膜中的嗜铬细胞中合成^[15]。肠嗜铬细胞主要以L-色氨酸为底物，经过羟化、脱羧、转氨基后合成褪黑素，且肠道中褪黑素的分布与肠道中嗜铬细胞的密度有关^[16-17]，肠道内容物中的褪黑素可能有3种来源：肠黏膜^[18]、饲料^[7]、肠道微生物^[9]。此外，哺乳动物胆汁中含有较高含量的褪黑素^[19]。因此，广泛存在的肝肠循环也可能是肠道中褪黑素的来源之一。本试验中，胃肠道内容物中的褪黑素含量分布特点是：十二指肠>瘤胃、空肠>回肠、盲肠>结肠。牛的胃肠道内容物中褪黑素含量变化为：回肠、盲肠、结肠>瘤胃、网胃、瓣胃、皱胃>空肠^[13]。西班牙斗牛食管、胃部、肠道前端、肠道后端内容物中褪黑素含量分别为73、78、20、152 pg/g^[20]。本试验测定的肠道内容物褪黑素含量分布与前人的研究结果有所不同，可能的原因是：1) 与肠道的消化吸收、采食控制有关，尤其是后肠中的褪黑素含量可能受到肠道内容物含量、食糜蠕动速度影响^[21]；2) 采样时间的差异，牛胃肠道中内容物是在牛采食后立即采集，而本试验是在绵羊采食后6 h才采集样品。由此看来，动物肠道中的褪黑素含量受采食时间、采食饲料的营养水平、消化道特点等多种因素的影响。

3.2 瘤胃保护性5-羟基色氨酸对绵羊胃肠道内容物5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

Namboodiri 等^[8]通过腹腔注射的方式给绵羊分别注射了 20、200 mg/kg BW 的 5-羟基色氨酸，腹腔注射可直接进入血液循环，而在饲料中添加 5-羟基色氨酸则会经过胃肠道的代谢，且 5-羟基色氨酸能否在瘤胃中降解尚不明确。因此，本试验选择的瘤胃保护性 5-羟基色氨酸的添加量为 111、222 mg/kg BW。在本试验中，绵羊摄入不同水平瘤胃保护性 5-羟基色氨酸后，瘤胃液中 5-羟基色氨酸、5-羟色胺含量增加，可能是由于本试验饲喂的瘤胃保护性 5-羟基色氨酸在瘤胃的蠕动、饲料的挤压下，部分瘤胃保护性 5-羟基色氨酸的包衣破裂，使 5-羟基色氨酸释放出来，进而转化为 5-羟色胺。瘤胃液中 5-羟基色氨酸、5-羟色胺、N-乙酰-5-羟色胺含量增加，而褪黑素含量则降低，可能本试验饲喂的瘤胃保护性 5-羟基色氨

酸对 N-乙酰-5-羟色胺转化为褪黑素过程中的羟基吲哚氧位甲基转移酶未起到调控作用。目前关于瘤胃中的褪黑素来源尚不明确，可能是反刍动物唾液中含有褪黑素^[22]，在绵羊反刍、采食过程中，含有褪黑素的部分唾液进入了瘤胃。

绵羊摄入不同水平的瘤胃保护性 5-羟基色氨酸后，十二指肠内容物中 5-羟基色氨酸含量增加，表明绵羊摄入的瘤胃保护性 5-羟基色氨酸在瘤胃蠕动、挤压和肠道消化酶的作用下释放。十二指肠内容物中，5-羟色胺、N-乙酰-羟色胺含量随瘤胃保护性 5-羟基色氨酸摄入量的增加而增加，但肠道内容物中褪黑素含量则随瘤胃保护性 5-羟基色氨酸摄入量的增加而降低，这也进一步证实羟基吲哚氧位甲基转移酶是褪黑素合成过程中的限速酶^[23]，可能由于绵羊十二指肠中 pH 较低^[24]，肠腔中含有大量的食物抗原、共生微生物以及胆酸盐、胰腺分泌物等营养因子^[25]，影响了褪黑素合成过程中酶活力或表达的调节，故瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对绵羊十二指肠褪黑素合成的调节并未有显著影响。犬口服 5-羟基色氨酸 (0.5 mg/kg BW) 后，十二指肠内容物中 5-羟基吲哚乙酸含量在采食后 0.5 h 开始增加^[26]。而本试验中，试验组十二指肠内容物中 5-羟基吲哚乙酸含量降低，这与上述的试验结果有所不同，这可能是与狗、绵羊消化系统特点、采食饲料组成和营养水平不同有关。

补喂瘤胃保护性 5-羟基色氨酸后，绵羊空肠、回肠内容物 5-羟基色氨酸含量高于对照组，但试验 I 组空肠、回肠内容物中 5-羟色胺、N-乙酰-5-羟色胺含量低于对照组，同时，褪黑素和 5-羟基吲哚乙酸含量也低于对照组。本试验未能够对肠道内容物中的这几个关键酶活力进行测定。但从 5-羟基色氨酸代谢为褪黑素的过程来看，5-羟色胺、N-乙酰-5-羟色胺是褪黑素合成过程中的关键中间产物，本试验的结果可能与 5-羟色胺-N-乙酰转移酶、羟基吲哚氧位甲基转移酶的变化有关。绵羊白天时松果体中 5-羟色胺-N-乙酰转移酶、羟基吲哚氧位甲基转移酶的活力分别为 1.1、0.14 nmol/ (min•mg prot)，夜晚时的活力分别为 3.1、0.29 nmol/ (min•mg prot)，但其他合成酶的活力并未产生显著变化^[23]。222 mg/kg BW 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸显著增加了空肠内容物中 5-羟基色氨酸、5-羟色胺、N-乙酰-5-羟色胺、褪

黑素、5-羟基吲哚乙酸含量，可能是由于 222 mg/kg BW 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸达到了调节空肠中褪黑素合成酶活力的底物含量，促进了 5-羟色胺、N-乙酰-5-羟色胺、褪黑素、5-羟基吲哚乙酸的合成，而 111 mg/kg BW 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对未空肠内容物中褪黑素合成过程中酶活力或表达起到调节作用。

本试验还发现，绵羊摄入不同水平瘤胃保护性 5-羟基色氨酸后，盲肠内容物中 5-羟基色氨酸、5-羟色胺、N-乙酰-5-羟色胺含量降低，5-羟基吲哚乙酸含量增加。导致这一结果的原因有 3 个方面：1) 从盲肠的生理特点来看，盲肠是各肠段中长度最短的一段^[27]，本试验是在绵羊早上采食后 6 h 采集的肠道内容物样品，外源性的瘤胃保护性 5-羟基色氨酸及其代谢产物可能已经通过了该肠段；2) 5-羟基色氨酸的代谢产物 5-羟色胺具有促进肠道蠕动的功能，可能促进了肠道的蠕动^[28]，使食糜在盲肠中停留的时间缩短；3) 盲肠内容物中 5-羟基吲哚乙酸含量随瘤胃保护性 5-羟基色氨酸的摄入量增加而增加，推测盲肠内容物中的 5-羟基色氨酸增加了单胺氧化酶的活力或表达，使 5-羟色胺转化为 5-羟基吲哚乙酸，而不是 N-乙酰-5-羟色胺和褪黑素，但具体的原因有待于进一步研究。

在结肠内容物中，5-羟基色氨酸、5-羟色胺、N-乙酰-5-羟色胺、褪黑素和 5-羟基吲哚乙酸均随瘤胃保护性 5-羟基色氨酸摄入量的增加而增加，表明不同水平瘤胃保护性 5-羟基色氨酸可能调节了结肠内容物中褪黑素合成过程中的每个步骤中酶的活力或表达。研究表明，肠道微生物可以合成褪黑素^[9]。在绵羊的肠道微生物中，结肠中的微生物丰富度较高^[29]，本试验给绵羊饲喂的瘤胃保护性 5-羟基色氨酸可能为结肠微生物提供了更多的褪黑素合成底物，进而增加了结肠内容物中褪黑素含量。其次，本试验是在绵羊早上采食后 6 h 采集的肠道内容物样品，此时，十二指肠、空肠、回肠、盲肠中的食糜可能通过肠道蠕动到达了结肠，结肠中的 5-羟基色氨酸及其代谢产物可能来自于“上游”肠段。本试验添加的瘤胃保护性 5-羟基色氨酸可增加绵羊胃肠道中 5-羟色胺、褪黑素含量，这 2 种物质在维持胃肠道生理功能中发挥了重要的作用，但是否会影响绵羊的消化代谢值得进一步研究。

3.3 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸对绵羊血浆中 5-羟基色氨酸、褪黑素含量的影响

在本试验中, 绵羊摄入瘤胃保护性 5-羟基色氨酸后 6 h, 血浆中 5-羟基色氨酸、5-羟色胺含量增加, 这一结果与在人^[30-31]、犬^[32]、绵羊^[33]分别使用腹腔注射、口服摄入 5-羟基色氨酸后血浆中 5-羟基色氨酸、5-羟色胺、褪黑素含量增加的结果基本一致。

在本试验中, 2 个试验组绵羊血浆中 5-羟基色氨酸、5-羟色胺、褪黑素含量增加, 结合绵羊肠道内容物中 5-羟基色氨酸、5-羟色胺、褪黑素含量的变化, 绵羊血浆中 5-羟色胺、褪黑素含量可能来源于绵羊胃肠道。对猪采食后 24 h 内动脉、腔静脉、门静脉血液中褪黑素含量进行比较发现, 经肠道吸收的褪黑素再经过肝脏代谢后, 在颈静脉中仍有较高含量的褪黑素^[21], 说明肠道中的褪黑素含量可影响血液中的褪黑素含量。给切除松果体的鸡饲喂色氨酸后, 鸡血浆中褪黑素含量也有所增加^[34], 提示鸡血浆中的褪黑素可能是以色氨酸为前体物质, 在肠道中褪黑素合成酶的作用下转化而来, 本试验结果也与该结果一致。以上研究结果说明, 血浆中的褪黑素可能来源于胃肠道, 且给动物饲喂褪黑素的前体物质可通过胃肠道吸收的方式增加血浆中褪黑素的含量。

4 结 论

① 绵羊胃肠道内容物中 5-羟基色氨酸含量的分布特点是: 盲肠>空肠、结肠>瘤胃液、十二指肠、回肠; 褪黑素含量的分布特点是: 十二指肠>瘤胃、空肠>回肠、盲肠>结肠。

② 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸补喂量为 222 mg/kg BW 时能提高胃肠道内容物中 5-羟基色氨酸含量, 但对 5-羟色胺、褪黑素含量的影响在各胃肠段表现不同。

③ 瘤胃保护性 5-羟基色氨酸补喂量为 111、222 mg/kg BW 时均能提高绵羊血浆中 5-羟基色氨酸、5-羟色胺、褪黑素含量。

参考文献:

[1] HUTHER G. The contribution of extrapineal sites of melatonin synthesis to circulating melatonin levels in higher vertebrates[J]. *Experientia*, 1993, 49(8): 665–670.

[2] CHEN C Q, FICHNA J, BASHASHATI M, et al. Distribution, function and physiological role

- of melatonin in the lower gut[J]. *World Journal of Gastroenterology*,2011,17(34):3888–3898.
- [3] LEE P P N,SHIU S Y W,CHOW P H,et al.Regional and diurnal studies of melatonin and Melatonin binding sites in the duck gastro-intestinal tract[J]. *Biological Signals*,1995,4(4):212–224.
- [4] MAWE G M,HOFFMAN J M.Serotonin signalling in the gut—functions,dysfunctions and therapeutic targets[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*,2013,10(8):473–486.
- [5] BUBENIK G A,PANG S F,HACKER R R,et al.Melatonin concentrations in serum and tissues of porcine gastrointestinal tract and their relationship to the intake and passage of food[J]. *Journal of Pineal Research*,1996,21(4):251–256.
- [6] BUBENIK G A,BROWN G M,GROTA L J.Immunohistological localization of melatonin in the rat digestive system[J]. *Experientia*,1977,33(5):662–623.
- [7] BUBENIK G A.Localization of melatonin in the digestive tract of the rat.Effect of maturation,diurnal variation,melatonin treatment and pinealectomy[J]. *Hormone Research*,1980,12(6):313–323.
- [8] NAMBOODIRI M A A,SUGDEN D,KLEIN D C,et al.5-hydroxytryptophan elevates serum melatonin[J]. *Science*,1983,221(4611):659–661.
- [9] HARDELAND R,FUHRBERG B.Ubiquitous melatonin-presence and effects in unicells,plants and animals[J]. *Trends in Comparative Biochemistry & Physiology*,1996 (2) :25–45.
- [10] ERSPAMER V,ASERO B.Identification of enteramine,the specific hormone of the enterochromaffin cell system,as 5-hydroxytryptamine[J]. *Nature*,1952,169(4306):800–801.
- [11] BUBENIK G A,BALL R O,PANG S F.The effect of food deprivation on brain and gastrointestinal tissue levels of tryptophan,serotonin,5-hydroxyindoleacetic acid,and melatonin[J]. *Journal of Pineal Research*,1992,12(1):7–16.
- [12] 陈中健,吴秀菊,朱翠,等.梅花猪胃肠道 5-羟色胺、胃饥饿素和胰高血糖素样肽-1 免疫阳性细胞分布特征研究[J]. *中国畜牧兽医*,2017,44(5):1498–1507.
- [13] BUBENIK G A,HACKER R R,BROWN G M,et al.Melatonin concentrations in the luminal fluid,mucosa,and muscularis of the bovine and porcine gastrointestinal tract[J]. *Journal of Pineal Research*,1999,26(1):56–63.
- [14] MUKHERJEE S,MAITRA S K.Gut Melatonin in vertebrates:chronobiology and

- physiology[J].Frontiers in Eocrinology,2015,6:112.
- [15] VERA H, TIJMES M, RONCO A M, et al. Melatonin binding sites in interstitial cells from immature rat testes[J]. Biological Research, 1993, 26(3):337.
- [16] HUETHER G. Melatonin synthesis in the gastrointestinal tract and the impact of nutritional factors on circulating melatonin[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 1994, 719(1):146–158.
- [17] LEE P P N, PANG S F. Melatonin and its receptors in the gastrointestinal tract[J]. Neurosignals, 1993, 2(4):181–193.
- [18] BULBRING E, LIN R C. The effect of intraluminal application of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxytryptophan on peristalsis; the local production of 5-HT and its release in relation to intraluminal pressure and propulsive activity[J]. Journal of Physiology, 1958, 140(3):381–407.
- [19] TAN D X, MANCHESTER L C, REITER R J, et al. High physiological levels of melatonin in the bile of mammals[J]. Life Science, 1999, 65(23):2523–2529.
- [20] MUKHERJEE S, MONIRUZZAMAN M, MAITRA S K. Daily and seasonal profiles of gut melatonin and their temporal relationship with pineal and serum melatonin in carp *Catla catla* under natural photo-thermal conditions[J]. Biological Rhythm Research, 2014, 45(2):301–315.
- [21] BUBENIK G A, PANG S F, COCKSHUT J R, et al. Circadian variation of portal, arterial and venous blood levels of melatonin in pigs and its relationship to food intake and sleep[J]. Journal of Pinal Research, 2000, 28(1):9–15.
- [22] KOLBABAVÁ T, MALKEMPER P, BARTOŠ L, et al. Effect of exposure to extremely low frequency magnetic fields on melatonin levels in calves is seasonally dependent[J]. Scientific Reports, 2015, 5:14206.
- [23] NAMBOODIRI M A A, SUGDEN D, KLEIN D C, et al. Serum melatonin and pineal indoleamine metabolism in a species with a small day/night N-acetyltransferase rhythm[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 1985, 80(4):731–736.
- [24] DOUGHERTY R W, RILEY J L, COOK H M. Changes in motility and pH in the digestive tract of experimentally overfed sheep[J]. American Journal of Veterinary

- Research,1975,36(6):827–829.
- [25] SHIRKEY T W,SIGGERS R H,GOLDADE B G,et al.Effects of commensal bacteria on intestinal morphology and expression of proinflammatory cytokines in the gnotobiotic pig[J].Experimental Biology and Medicine,2006,231(8):1333–1345.
- [26] RUCKEBUSCH Y,MEIRIEU O,VON RITTER C,et al.Measurement of monoamines and their metabolites in the interstitial fluid of the gut[J].Journal of Pharmacological Methods,1985,13(2):167–177.
- [27] 杨银凤.家畜解剖学及组织胚胎学[M].4版.北京:中国农业出版社,2011.
- [28] WADE P R,CHEN J,JAFFE B,et al.Localization and function of a 5-HT transporter in crypt epithelia of the gastrointestinal tract[J].The Journal of Neuroscience,1996,16(7):2352–2364.
- [29] WANG J,FAN H,HAN Y,et al.Characterization of the microbial communities along the gastrointestinal tract of sheep by 454 pyrosequencing analysis[J].Asian-Australas Journal of Animal Science,2017,30(1):100–110.
- [30] MAGNUSSEN I,JENSEN T S,RAND J H,et al.Plasma accumulation of metabolism of orally administered single dose *L*-5-hydroxytryptophan in man[J].Acta Pharmacologica et Toxicologica,1981,49(3):184–189.
- [31] JOSEPH M H,BAKER H F.The determination of 5-hydroxytryptophan and its metabolites in plasma following administration to man[J].Clinica Chimica Acta,1976,72(1):125–131.
- [32] BOGDANSKI D F,WEISSBACH S.Pharmacological studies with the serotonin precursor,5-hydroxytryptophan[J].Journal of Pharmacology and Experiment Therapeutics,1958,122(2):182–194.
- [33] SUGDEN D,NAMBOODIRI M A A,KLEIN D C,et al.Ovine pineal indoles:effects of *L*-tryptophan or *L*-5-hydroxytryptophan administration[J].Journal of Neurochemistry,1985,44(3):769–772.
- [34] HURTHUR G,POEGGELER B,REIMER A,et al.Effect of tryptophan administration on circulating melatonin levels in chicks and rats:evidence for stimulation of melatonin synthesis and release in the gastrointestinal tract[J].Life Science,1992,51(12):945–953.

Effects of Rumen Protected 5-Hydroxytryptophan on Contents of 5-Hydroxytryptophan,

Melatonin in Gastrointestinal Tract Digesta and Plasma of Sheep

ZHAO Fang CHEN Hui WANG Gen GAO Chao ZHAO Guodong MA Chen YANG

Kailun*

*(Xinjiang Agricultural University, Xinjiang Key Laboratory of Meat & Milk Production Herbivore**Nutrition, Urumqi 830052, China)*

Abstract: This study aimed to investigate the distribution of melatonin in gastrointestinal tract digesta of sheep, to study the effects of rumen protected 5-hydroxytryptophan (5-HTP) on contents of 5-HTP, melatonin in gastrointestinal tract digesta and plasma of sheep, and to explore the possibility of regulating sheep gastrointestinal tract melatonin synthesis by 5-HTP. Fifteen 3-year-old Kazak sheep with average body weight of (47.79±3.70) kg were divided into 3 groups (control group, trial group I and trial group II) with 3 sheep per group. All sheep were fed with 1.2% body weight powder concentrate, and 0.9 kg corn silage per sheep per day, and had free feeding mixed with hay, additionally, each sheep in trail groups I and II was fed with 111 and 222 mg/kg BW rumen protected 5-HTP, respectively. The feeding experiment lasted for 15 days. The results showed that the distribution characteristics of the content of 5-HTP in gastrointestinal tract digesta of sheep were: caecum>jejunum, colon>rumen fluid, duodenum, ileum; and the distribution characteristics of melatonin content were: duodenum>rumen fluid, jejunum>ileum, caecum>colon. Except caecum and colon, the content of 5-HTP in gastrointestinal tract digesta of sheep in trail groups I and II was significantly higher than that in the control group ($P<0.01$). The contents of 5-hydroxytryptamine (5-HT) and N-acetylserotonin (NAS) in duodenum digesta in trail group II were significantly higher than those in the control group ($P<0.01$), and the contents of 5-HT and NAS in colon digesta in trail group II were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$); the contents of 5-HT and NAS in jejunum and ileum digesta in trial group I were significantly lower than those in the control group and trial group II ($P<0.01$). The content of melatonin in colon digesta in trail groups I and II was significantly higher than that in the control group ($P<0.01$). The content of 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) in duodenum and jejunum digesta in trail groups I and II was significantly lower than that in the control group ($P<0.01$), however, the content of 5-HIAA in caecum and colon digesta in trial group II was significantly higher than that in the control group ($P<0.01$). The contents of 5-HTP, 5-HT and melatonin in plasma in trial group II were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$ or $P<0.01$). Therefore, the distribution characteristics of the 5-HTP content in gastrointestinal tract digesta of sheep are: caecum>jejunum, colon>rumen fluid, duodenum, ileum, and the distribution characteristics of melatonin content are: duodenum>rumen fluid, jejunum>ileum, caecum>colon. Rumen protected 5-HTP supplementation at 222 mg/kg BW can increase the content of 5-HTP in gastrointestinal tract digesta, but its effect on 5-HT and melatonin contents perform differently in different gastrointestinal tract. Rumen protected 5-HTP supplementation at 111 and 222 mg/kg BW can increase the contents of 5-HTP, 5-HT and melatonin in plasma of sheep.

Key words: sheep; gastrointestinal tract; digesta; rumen protected 5-HTP; melatonin

*Corresponding author, professor, E-mail: yangkailun2002@aliyun.com (责任编辑 武海龙)