

张李文,陈慧君,王超,等. 酵母铬和二氢吡啶对热应激围产期奶牛生理生化指标及HSP70 mRNA表达量的影响[J]. 华中农业大学学报, 2024, 43(2): 188-196. DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2024.02.021

酵母铬和二氢吡啶对热应激围产期奶牛生理生化指标及HSP70 mRNA表达量的影响

张李文¹, 陈慧君², 王超¹, 张绍波¹, 王盛琪¹, 张博¹, 敖英男¹, 齐智利¹

1. 华中农业大学动物科学技术学院, 武汉 430070; 2. 武汉城市职业学院财经学院, 武汉 430064

摘要 为确定酵母铬和二氢吡啶是否能缓解围产期奶牛热应激, 将24头体质量和胎次相近的围产期荷斯坦奶牛随机分为3组, 饲养于环境温湿指数(THI)高于68的热应激条件下, 对照组饲喂基础日粮, 酵母铬组和二氢吡啶组饲喂基础日粮的同时饲喂8 g/(头·d)铬含量为1‰的酵母铬和3 g/(头·d)的二氢吡啶, 试验周期为40 d, 观测酵母铬和二氢吡啶对围产期奶牛热应激反应的影响。结果显示: ① 酵母铬组和二氢吡啶组奶牛与对照组奶牛在呼吸频率上无显著差异($P>0.05$)。② 各组奶牛血清中血糖和胆固醇含量在产前第7天与产后第3天均无显著差异。二氢吡啶组奶牛产前第7天血清中甘油三酯含量显著降低($P<0.05$)。③ 与对照组比较, 酵母铬组和二氢吡啶组产前、产后血清中 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 的浓度均无显著差异($P>0.05$), 各组在产前、产后血清中碱性磷酸酶和肌酸激酶的含量也均未出现显著变化($P>0.05$)。④ 酵母铬组、二氢吡啶组与对照组奶牛血清中热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)基因mRNA表达量没有明显差异($P>0.05$)。以上结果表明, 热应激条件下, 在围产期奶牛日粮中添加8 g/(头·d)铬含量为1‰的酵母铬和3 g/(头·d)二氢吡啶对血液生化指标和HSP70 mRNA表达量均无显著影响, 说明日粮中添加8 g/(头·d)铬含量为1‰的酵母铬和3 g/(头·d)二氢吡啶对缓解围产期荷斯坦奶牛热应激无明显效果。

关键词 热应激; 围产期奶牛; 酵母铬; 二氢吡啶; 血清生化指标

中图分类号 S858.23 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2024)02-0188-09

奶牛是对温度特别敏感的动物, 尤其是处于泌乳阶段的奶牛, 在高温高湿环境下很容易产生热应激^[1]。随着全球气候变暖日益加剧^[2], 我国南方地区夏季温度不断升高, 奶牛发生热应激的情况愈发频繁。奶牛产生热应激后表现为体温升高、呼吸频率增加以及采食量下降等症状, 其产奶量、乳品质以及养殖效率明显降低^[3]。热应激还会导致内分泌激素的紊乱, 从而降低奶牛免疫功能, 使得奶牛发病率上升^[4], 严重影响奶牛经济价值的发挥。因此, 缓解奶牛热应激已经成为奶牛养殖行业亟需解决的重要问题。

在饲料中添加铬等抗应激饲料添加剂是缓解奶牛热应激、提高生产性能的有效措施。例如饲料中添加0.8 mg/kg酵母铬可提高热应激牛日增重、显著降低料肉比, 并降低热应激标志物热休克蛋白的含量^[5];

在围产期奶牛日粮中补充0.03、0.06和0.12 mg/kg蛋氨酸铬, 产后体况评分损失随着蛋氨酸铬浓度的增加呈线性下降, 同时还使得牛奶产量以及乳中脂肪和乳糖含量增加^[6]; 另外有研究表明铬补充剂改善了奶牛葡萄糖代谢并防止了热应激条件下奶牛体温的升高^[7]。以上研究结果表明在饲料中添加铬对于缓解奶牛热应激有很大的潜力, 但其作用机制并不清楚。

二氢吡啶在动物饲料中充当一种抗氧化添加剂, 可以保护油脂、维生素A以及胡萝卜素免受氧化^[8], 在反刍动物生产中应用广泛。热应激环境下在奶牛日粮中添加二氢吡啶可以提高超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)和总抗氧化(T-AOC)水平, 并对热应激下的瘤胃微生物群落产生有利影响^[9]; 高景等^[10]报道,

收稿日期: 2022-11-24

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0501605; 2016YFD0500507); 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室开放课题(2021SZ04)

张李文, E-mail: 1594848149@qq.com

通信作者: 齐智利, E-mail: zhiliqi@mail.hzau.edu.cn

饲料中添加 3 g/(头·d) 二氢吡啶可以显著提高热应激奶牛的干物质采食量和粗蛋白消化率; 赵新茂等^[11]报道, 饲料中添加 3 g/(头·d) 二氢吡啶可以降低瘤胃中氨态氮的浓度, 促进瘤胃对氨态氮的利用。

当前关于铬补充剂和二氢吡啶对热应激围产期奶牛的研究鲜有报道, 围产期是奶牛泌乳周期中最为关键的阶段, 缓解此阶段奶牛热应激对改善奶牛生产性能、延长奶牛利用年限等有重要意义。鉴于此, 笔者探究饲料中添加酵母铬或二氢吡啶对热应激围产期奶牛血液生化指标以及热应激标志物 HSP70 mRNA 表达量的影响, 旨在确定酵母铬或二氢吡啶作为饲料添加剂是否具有缓解奶牛热应激作用, 并为酵母铬和二氢吡啶在奶牛生产中的合理应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

铬含量为 1‰ 的酵母铬购自浙江深友生物技术有限公司, 纯度为 99% 的二氢吡啶购自河北衡水和川生物技术公司。

1.2 试验设计

选择胎次相近 $[(2 \pm 0.3)$ 胎], 体况、产奶量以及预产期相似, 处于围产期的荷斯坦奶牛 24 头, 按照随机分配的原则分为 3 组, 分别为对照组、酵母铬组和二氢吡啶组, 每组 8 头牛。对照组饲喂基础日粮, 酵母铬组和二氢吡啶组分别饲喂基础日粮的同时饲喂 8 g/(头·d) 铬含量为 1‰ 的酵母铬和 3 g/(头·d) 的二氢吡啶, 整个奶牛试验于 8—9 月完成, 其中预试期为 10 d, 试验期为产前 27 d 到产后 3 d, 共 40 d。

1.3 饲养管理

试验期间试验牛产前和产后基础日粮配方不变, 日粮组成如表 1 所示。奶牛进入干奶期后被转移至单独的开放型牛舍中, 不同组奶牛单栏饲养, 每日 3 次(07:00、15:00 和 21:40) 饲喂全价日粮, 饲喂时先将每日酵母铬和二氢吡啶饲喂量分成 3 份, 分别与 300 g 基础日粮人工搅拌充分混合, 待奶牛采食完混合物后再投喂剩余的日粮, 自由饮水。奶牛产犊后每天挤奶 3 次, 操作步骤严格按照奶牛场规定的流程进行, 配方主要参照中国乳牛的饲养标准。日粮营养水平: 粗蛋白(16.21%)、粗脂肪(5.26%)、中性洗涤纤维(36.73%)、酸性洗涤纤维

(27.63%)、钙(0.95%)、总磷(0.46%)、泌乳净能(6.84 MJ/kg)。

表 1 奶牛产前和产后日粮的组成和营养水平

Table 1 The composition and nutrient levels of the experimental diets

原料 Ingredient of diets	含量/% Content	原料 Ingredient of diets	含量/% Content
玉米青贮 Corn silage	40.33	棉籽粕 Cottonseed meal	2.56
燕麦草 Oat grass	4.16	糖蜜 Molasses	1.32
苜蓿 Alfalfa	5.19	甜菜粕 Beet pulp	1.14
豆粕 Soybean meal	11.82	碳酸氢钙 $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$	0.92
压片玉米 Flaked corn	22.52	氯化钠 NaCl	0.25
酒糟 Dry distillers grains	3.87	氧化镁 MgO	0.42
膨化大豆 Extruded full-fat soybean	3.54	预混料 Premix ^①	1.96

注: 表中数据以干物质为基础。①预混料为每千克日粮提供 VA 750 000 IU、VD 17 000 IU、VE 200 IU、Fe 950 mg、Cu 580 mg、Zn 2 000 mg、Mn 1 500 mg、I 40 mg、Se 30 mg、Co 25 mg。②泌乳净能为计算值, 其余为实测值。Note: The data in the table are based on dry matter. ① The premix per kilogram diet contained 750 000 IU vitamin A, 17 000 IU vitamin D, 200 IU vitamin E, 950 mg iron, 580 mg copper, 2 000 mg zinc, 1 500 mg manganese, 40 mg iodine, 30 mg selenium, 25 mg cobalt; ② NEL was a calculated value, while the others were measured values.

1.4 奶牛干物质采食量测定

在试验后期连续 3 d 测定奶牛的采食量数据, 每次饲喂时都给予奶牛充足的饲料, 饲喂前称量饲料的新鲜质量并根据饲料水分含量计算出干物质含量, 于第 2 天 07:00 再次饲喂前称量剩余饲料烘干后的质量, 通过差值法计算得出奶牛每天的干物质采食量, 最后根据 3 d 的干物质采食量计算出每组试验牛的平均日干物质采食量。

1.5 奶牛呼吸频率测定

在试验奶牛产前 1 周左右, 分别于 06:00、08:00、10:00、12:00、14:00、16:00、18:00 对每组试验牛用计数器和秒表进行呼吸频率测定。统计奶牛 3 min 内胸廓和腹部的起伏次数, 奶牛的呼吸频率为 1 d 内记录数据的平均值。

1.6 牛舍温湿指数测定

干湿球温度计分别悬挂于 2 列牛舍的中部, 距离地面 1.5 m, 保证干湿球温度计的有效通风, 防止阳光直射和雨淋, 以确保读数的准确性。在每日 07:00、13:00、17:00 这 3 个时间点记录干球温度(T_d)

与湿球温度(T_w),并通过湿湿指数(temperature-humidity index, I_{TH})公式 $[I_{TH}=0.72 \times (T_d + T_w) + 40.6]$ 计算出湿湿指数^[12]。

1.7 血液相关指标测定

在奶牛产前第7天和产后第3天的07:00,对空腹奶牛进行尾静脉采血,部分血液置于10 mL灭菌离心管中,以3 000 r/min离心15 min,收集上层血清于1.5 mL离心管中,待测。血清中血糖、甘油三酯、总胆固醇、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)、电解质浓度均参照试剂盒(购自南京建成)说明书进行。另一部分血液置于10 mL抗凝管中,用于测定血细胞中HSP70 mRNA表达量。

1.8 HSP70 mRNA表达量的测定

1)裂解红细胞,提取总RNA。①取1 mL全血,3 000 r/min离心10 min,吸除上清。加入1.5 mL红细胞裂解液,混匀,4 °C放置15 min。3 000 r/min离心10 min,吸除上清。重复以上步骤2次,直至沉淀中无红细胞。②加入1 mL 4 °C预冷的PBS溶液。3 000 r/min离心10 min,吸除PBS。加入1 mL Trizol Reagent,破碎细胞。③将液体转移到灭菌后的1.5 mL离心管,加入250 μ L三氯甲烷,混匀后静置3 min。4 °C下12 000 r/min离心8 min。④将上清移至离心管中,加入0.8倍体积的异丙醇混匀。-20 °C放置15 min。4 °C下12 000 r/min离心10 min, RNA沉淀于管底。⑤吸除液体,加入75%乙醇1.5 mL洗涤沉淀。4 °C下12 000 r/min离心5 min。吸除液体,将离心管置于超净台上吹3 min。加入20 μ L无RNA酶的水溶解RNA。

2)逆转录。在PCR管中加入含2 μ L RNA的溶液,再加入1 μ L oligo(dT)15,用无核糖核酸酶的去离子水补足至12 μ L。于PCR仪上70 °C保温5 min后迅速置冰上冷却。依次加入4 μ L 5 \times buffer、2 μ L 10 mmol/L dNTPs、1 μ L RNA inhibitor和1 μ L反转录酶,混匀。于PCR仪上42 °C保温30 min,结束后80 °C保温5 min灭活反转录酶。

3)PCR扩增。反应体系共25 μ L,包括12.5 μ L 2 \times qPCR预混液、2 μ L反转录产物、8.5 μ L双蒸水、2 μ L 2.5 μ mol/L基因引物。上游引物序列为5'-AGAAGAAGGTGCTGGACAAGTGC-3',下游引物序列为5'-CAGTCTGCTGATGATGGGGTTAC-3'。扩增程序为:95 °C预变性30 s,然后95 °C变性5 s,在最佳退火温度下退火20 s,共40

个循环。

4)结果处理。HSP70 mRNA相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行计算。

1.9 数据统计与分析

采用Excel 2007进行初步数据整理,以平均值±标准误表示。采用SAS 9.1.3统计软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA),采用Duncan's多重比较进行显著性分析, $P < 0.05$ 为差异显著。呼吸频率使用SAS 9.1.3统计软件进行重复统计模型分析,组间进行LSD多重比较。用GraphPad Prism 8.0对干物质采食量和血液中HSP70 mRNA相对表达量进行作图。

2 结果与分析

2.1 牛舍温湿指数及酵母铬和二氢吡啶对奶牛呼吸频率及采食量的影响

在试验正式期的30 d内观测白天3个时间点07:00、13:00和17:00的THI指数,发现THI指数均超过72(图1),所有THI值均高于热应激阈值68,说明奶牛处于热应激状态。对照组、酵母铬组和二氢吡啶组奶牛干物质采食量分别为(11.00 \pm 0.05)、(11.02 \pm 0.39)、(10.81 \pm 0.30) kg/d,3组间无显著差异($P > 0.05$)。由表2可见,3组奶牛呼吸频率受测量时间影响显著($P < 0.05$),组间奶牛呼吸频率无明显差异($P > 0.05$)。但与对照组奶牛相比,酵母铬组和二氢吡啶组奶牛呼吸频率有升高的趋势。酵母铬组奶牛在10:00时呼吸频率显著高于对照组和二氢吡啶组($P < 0.05$)。

2.2 酵母铬和二氢吡啶对奶牛血清生化代谢物质浓度的影响

由表3可见,各组奶牛血清中血糖和总胆固醇在产后与产前相比有降低的趋势,血清甘油三酯含量产后与产前相比有升高趋势。与对照组比较,酵母铬组奶牛产前、产后血清中血糖和胆固醇浓度的变化差异不显著($P > 0.05$)。与对照组比较,二氢吡啶组产前血清中甘油三酯含量显著降低($P < 0.05$)。二氢吡啶组奶牛血清中胆固醇含量在产后低于对照组,低22.40%。

2.3 酵母铬和二氢吡啶对奶牛血液电解质浓度的影响

由表4可见,与对照组比较,酵母铬组奶牛产前血清中 Cl^- 浓度均值升高,血清中阴阳离子差(blood cation-anion difference, BCAD)产前显著降低($P <$

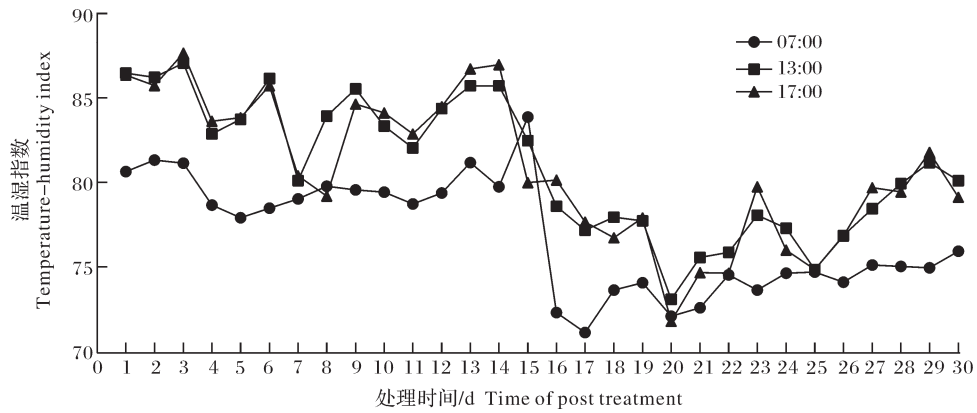


图1 牛舍每日07:00、13:00和17:00的温湿指数

Fig.1 Temperature humidity index of cowshed at 07:00, 13:00 and 17:00 every day

表2 酵母铬和二氢吡啶处理下热应激围产期奶牛呼吸频率

Table 2 Respiratory rate of perinatal dairy cows under heat stress treated with yeast chromium and dihydropyridine

时刻 Time	呼吸频率/(times /min) Respiratory rate			标准误 SEM	P值P-value		
	对照组 Control	酵母铬组 Cr-yeast	二氢吡啶组 HP		时间 Time	分组 Groups	交互 Interaction
06:00	59.44	56.67	57.22	4.08			
08:00	51.00	63.22	56.22	6.75			
10:00	64.11b	81.00a	66.67b	3.89			
12:00	65.78	80.00	72.33	5.05	0.03	0.296	0.531
14:00	80.00	87.56	83.11	10.84			
16:00	64.56	79.33	74.89	9.19			
18:00	69.56	90.00	81.56	8.14			

注：同行标记不同小写字母表示相同时刻不同处理间差异显著(P<0.05)。下表同。Note: Different capital letters within the same row indicate significant differences between different treatments at the same time (P<0.05). The same as below.

表3 酵母铬和二氢吡啶处理下热应激围产期奶牛血清生化代谢物质浓度变化

Table 3 Changes of serum biochemical metabolites concentration in perinatal dairy cows under heat stress treated with yeast chromium and dihydropyridine

指标 Index	阶段 Stage	对照组 Control	酵母铬组 Cr-yeast	二氢吡啶组 DHP	mmol/L
葡萄糖 Glucose	产前 Antepartum	3.72±0.27	3.77±0.29	3.72±0.27	
	产后 Postpartum	3.05±0.47	3.15±0.29	3.05±0.47	
总胆固醇 Total cholesterol	产前 Antepartum	2.12±0.28	1.90±0.47	2.25±0.53	
	产后 Postpartum	1.83±0.18	1.86±0.37	1.42±0.52	
甘油三酯 Triglyceride	产前 Antepartum	0.32±0.06a	0.26±0.10ab	0.19±0.08b	
	产后 Postpartum	0.06±0.01	0.07±0.05	0.06±0.02	

0.05), 而血清中Na⁺和K⁺的浓度产前、产后均未出现显著变化(P>0.05); 二氢吡啶组奶牛血清中Na⁺、K⁺、Cl⁻的浓度和BCAD在产前、产后均未出现显著变化(P>0.05)。

2.4 酵母铬和二氢吡啶对热应激奶牛碱性磷酸酶和肌酸激酶的影响

由表5可见, 与对照组比较, 酵母铬组、二氢吡啶组奶牛在产前和产后血清中碱性磷酸酶、肌

酸激酶活性无显著变化(P>0.05), 但碱性磷酸酶水平在产后有下降趋势, 肌酸激酶在产前有下降趋势。

2.5 酵母铬或二氢吡啶对血液HSP70 mRNA表达量的影响

由图2可见, 与对照组比较, 酵母铬组和二氢吡啶组血液HSP70 mRNA表达量变化无显著差异(P>0.05)。

表4 酵母铬和二氢吡啶处理下热应激围产期奶牛血液电解离子浓度变化

Table 4 Changes of electrolytic ion concentration in blood of perinatal dairy cows under heat stress treated with yeast chromium and dihydropyridine

指标 Index	阶段 Stage	对照组 Control	酵母铬组 Cr-yeast	二氢吡啶组 DHP
Na ⁺	产前 Antepartum	137.23±1.48	135.70±1.27	136.80±2.38
	产后 Postpartum	136.10±2.55	135.08±2.36	135.75±0.95
K ⁺	产前 Antepartum	4.22±0.14	4.24±0.24	4.38±0.17
	产后 Postpartum	5.24±1.09	5.18±0.45	4.83±0.35
Cl ⁻	产前 Antepartum	104.68±1.68	106.50±1.78	105.70±3.32
	产后 Postpartum	100.50±4.11	101.80±1.76	102.28±3.49
血清阴阳离子差 Blood cation-anion difference	产前 Antepartum	36.77±0.43a	33.44±0.53b	35.48±2.01ab
	产后 Postpartum	40.84±2.21	38.45±1.80	38.30±3.20

表5 酵母铬和二氢吡啶处理下热应激奶牛碱性磷酸酶和肌酸激酶活性的变化

Table 5 Changes of alkaline phosphatase and creatine kinase in heat-stressed dairy cows treated with yeast chromium and dihydropyridine

指标 Index	阶段 Stage	对照组 Control	酵母铬组 Cr-yeast	二氢吡啶组 DHP
碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase	产前 Antepartum	42.00±8.04	43.75±15.06	40.75±14.24
	产后 Postpartum	56.50±21.63	35.75±26.23	46.75±14.24
肌酸激酶 Creatine kinase	产前 Antepartum	352.00±385.38	178.25±76.47	143.50±41.15
	产后 Postpartum	164.25±56.24	173.25±82.54	177.50±97.69

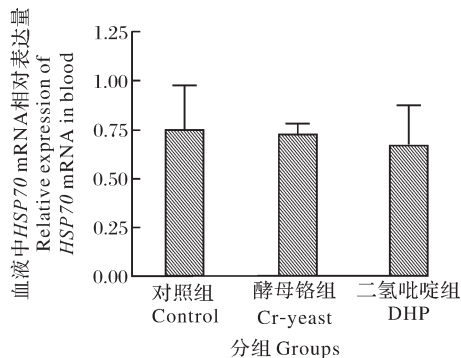


图2 酵母铬或二氢吡啶处理下热应激围产期奶牛血液 HSP70 mRNA 表达量

Fig.2 Expression of HSP70 mRNA in blood of perinatal cows treated with yeast chromium or dihydropyridine under heat stress

3 讨论

3.1 酵母铬和二氢吡啶对奶牛干物质采食量和呼吸频率的影响

热应激会导致奶牛采食量降低^[13],可能是奶牛为加速散热使流经皮肤的血流量增多,消化道供血不足,导致采食的饲料在体内胃肠道蠕动减缓、消化吸收速率降低,奶牛因此减少采食。本研究结果表明在日粮中添加酵母铬和二氢吡啶后奶牛采食量与

对照组相比无显著差异,这与前人结果相似。张会会等^[14]发现在夏季补饲烟酸铬对奶牛采食量无显著影响。同时也有研究发现对犍牛饲喂0.5、1.0和1.5 mg/kg无机铬120 d后,其干物质摄入量并无任何影响^[15]。

呼吸频率是反刍动物重要的生理指标,当机体处于热应激环境下时,反刍动物首先通过提高自身呼吸频率来增加机体的散热量,进而缓解热应激。廖晓霞等^[16]报道,在轻度、中度及严重热应激条件下,奶牛的呼吸频率分别为50~60、80~120、120~160次/min,甚至可能更高。本研究中奶牛呼吸频率结果表明奶牛均处于轻度至中度热应激,添加酵母铬后奶牛呼吸频率与对照组相比有升高趋势。张峰等^[17]研究发现,日粮中分别添加100、150、200 mg/kg的二氢吡啶后奶牛呼吸频率与对照组相比有升高趋势,本研究结果与其相似,可能是奶牛通过提高呼吸频率促进体内热量向外界散发,进而达到缓解热应激的作用。

3.2 酵母铬和二氢吡啶对奶牛血清生化代谢物质浓度的影响

血糖含量是机体糖代谢的重要体现,也能反映能量代谢水平。当奶牛发生热应激时,其采食量和

营养物质消化率均低于非热应激时期,机体摄入的营养物质不足,为满足正常能量需要机体分泌大量糖皮质激素,葡萄糖分解速率加快,血糖浓度下降^[18]。本试验结果表明奶牛在补充酵母铬后无论是产前还是产后血糖含量并没有显著变化。李娜^[19]研究报道在围产期奶牛饲料中添加烟酸铬对产前7 d和产后56 d血糖含量无影响。傅传鞭^[20]研究发现对围产期奶牛分别添加剂量为2.5、5 g/d的丙酸铬后,奶牛血糖含量无显著变化。这可能与奶牛所处的时期有关,围产期奶牛对葡萄糖的需求是未妊娠奶牛的几倍^[21],补充铬虽然可提升胰岛素活性^[22],但由于葡萄糖需求较大,因此血糖变化不显著。本试验结果发现在饲料中添加二氢吡啶后奶牛血糖浓度有升高趋势。郑晓中等^[23]研究发现二氢吡啶能够提高奶牛血液中血糖含量。曹杰^[24]在奶牛日粮中添加0.02%二氢吡啶提高了血清中葡萄糖的浓度。本研究结果与郑晓中等^[23]和曹杰^[24]的研究结果相似,但是奶牛血糖浓度提高水平未达到显著程度,可能是试验中二氢吡啶剂量低于前人研究中的添加量,同时本试验奶牛处于围产期这一特殊时期。

甘油三酯和胆固醇是机体血脂的组成成分,奶牛在发生热应激后随着采食量下降导致营养物质摄入减少,此时机体加速脂肪分解来保持能量的供应。本研究结果中酵母铬组奶牛在产前和产后血清中甘油三酯和胆固醇浓度均呈现下降趋势。研究表明在热应激奶牛日粮中添加0.4、0.8、1.2 mg/kg富铬酵母可降低血清中胆固醇的含量^[25],添加10、20 g/(头·d)丙酸铬后奶牛血浆中胆固醇和甘油三酯含量均呈现下降趋势^[26],本研究结果与此报道结果一致。铬补充剂对热应激条件下奶牛机体脂代谢有调节作用,这种调节作用可能与铬能通过协助葡萄糖耐受因子激活胰岛素和胰岛素样生长因子,促进肝脏胆固醇合成与清除,进而影响脂代谢有关。围产期奶牛由于摄入总能量低于机体所需水平,机体处于能量负平衡状态,而热应激会加剧能量负平衡,导致奶牛代谢紊乱的发病率明显提高^[27]。奶牛机体出现能量负平衡后将动用体脂来满足围产期对能量的需求,当血液中脂质长期保持较高浓度时会造成奶牛肝脏脂肪沉积,形成脂肪肝^[28]。隋晨^[29]发现在围产期奶牛日粮中补充二氢吡啶后降低了分娩当天和产后21 d血浆中胆固醇含量,本试验结果表明二氢吡啶组奶牛血清中胆固醇含量在产后与对照组相比有所降低,这与隋晨所得出的研究结果相同。同时本研究

还发现二氢吡啶组奶牛血液中甘油三酯含量显著降低,表明二氢吡啶对于调节围产期奶牛脂代谢有积极作用,可有效保护奶牛肝脏健康。

3.3 酵母铬和二氢吡啶对奶牛血液电解离子浓度的影响

Na⁺、K⁺和Cl⁻等离子是维持内环境稳态和物质代谢正常运转最为重要的离子。热应激在一定程度上会影响奶牛机体内环境稳态,例如刘庆华等^[30]发现荷斯坦奶牛和娟荷奶牛夏季热应激状态下血清中Na⁺和Ca²⁺浓度显著低于冬季非热应激状态。在本研究中酵母铬组和二氢吡啶组奶牛血清中Na⁺、K⁺和Cl⁻离子浓度与对照组差异不显著。但无论是产前还是产后,酵母铬或二氢吡啶均对血清阴阳离子差有降低趋势,说明酵母铬和二氢吡啶对于缓解热应激引起的代谢紊乱有一定的作用,可维持内环境的稳定。

3.4 酵母铬和二氢吡啶对奶牛碱性磷酸酶和肌酸激酶的影响

碱性磷酸酶可以促使磷酸根离子与钙离子结合,促进体内矿物元素的沉积。敖日格乐等^[31]发现夏季热应激条件下奶牛血清中碱性磷酸酶活力显著下降。本试验数据显示酵母铬组奶牛和二氢吡啶组奶牛在产后血清碱性磷酸酶活力与对照组相比有降低趋势,表明酵母铬和二氢吡啶可增强围产期奶牛热应激后对钙和磷的吸收,维持血钙稳定。肌酸激酶是参与能量代谢的关键酶之一,能将肌酸向磷酸肌酸转化进而为机体储备能量。何钦^[32]发现不同泌乳阶段的奶牛血清中肌酸激酶活性均随着热应激程度的增加而表现出升高趋势。在热应激条件下,机体无法获得充足的能量,肌酸激酶从肌肉逃逸至血液中,因此肌酸激酶活性可作为判断热应激的指标。从本试验结果来看,酵母铬组和二氢吡啶组奶牛产前血清中肌酸激酶表现为下降趋势,说明酵母铬和二氢吡啶对于缓解奶牛热应激保护机体内环境稳态有一定效果。

3.5 酵母铬或二氢吡啶对血液 HSP70 mRNA 表达量的影响

热休克蛋白70是最保守和重要的一类热休克蛋白,具有调节细胞周期和维持细胞稳定的作用^[33],在热应激等有害条件下HSP70的合成会显著升高而提高机体的抗应激能力。而在本试验中,酵母铬组、二氢吡啶组与对照组奶牛血液样本中HSP70 mRNA

表达量无显著差异。此结果可能与试验采集血液样本的时间有关,本试验于奶牛产前第7天和产后第3天分别于空腹(07:00)进行尾静脉采血,在07:00时奶牛热应激强度低。高景等^[10]和王学清等^[34]的研究均表明,在高温热应激条件下给奶牛饲喂含二氢吡啶或酵母铬的日粮可显著提高中国荷斯坦奶牛HSP70的表达量,而在适温期时各组间HSP70表达量差异不显著。本研究中,在轻度热应激条件下HSP70 mRNA表达量差异不明显,这与前人^[10,34]结果是基本一致的。

总之,本研究中在热应激围产期奶牛日粮中添加剂量为8 g/(头·d)铬含量为1‰的酵母铬或3 g/(头·d)二氢吡啶时,对采食量、呼吸频率、血清代谢物浓度、血清生理生化指标以及HSP70 mRNA表达量影响不显著。说明饲喂8 g/(头·d)铬含量为1‰的酵母铬或3 g/(头·d)二氢吡啶对于缓解围产期荷斯坦奶牛热应激效果不明显。

参考文献 References

- [1] GANTNER V, BOBIC T, GANTNER R, et al. Differences in response to heat stress due to production level and breed of dairy cows [J]. *International journal of biometeorology*, 2017, 61(9):1675-1685.
- [2] FOURNEL S, OUELLET V, CHARBONNEAU É. Practices for alleviating heat stress of dairy cows in humid continental climates: a literature review [J/OL]. *Animals: an open access journal from MDPI*, 2017, 7(5):37 [2022-11-24]. <https://doi.org/10.3390/ani7050037>.
- [3] GAO S T, GUO J, QUAN S Y, et al. The effects of heat stress on protein metabolism in lactating Holstein cows [J]. *Journal of dairy science*, 2017, 100(6):5040-5049.
- [4] DAHL G E, TAO S, LAPORTA J. Heat stress impacts immune status in cows across the life cycle [J/OL]. *Frontiers in veterinary science*, 2020, 7: 116 [2022-11-24]. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00116>.
- [5] 贾亚伟. 甜菜碱和酵母铬对牛抗热应激效应的研究[D]. 重庆:西南大学,2011.JIA Y W. A study on the effects of betaine and chromium-yeast on heat stress resistance in cattle [D]. Chongqing: Southwest University, 2011 (in Chinese with English abstract).
- [6] HAYIRLI A, BREMMER D R, BERTICS S J, et al. Effect of chromium supplementation on production and metabolic parameters in periparturient dairy cows [J]. *Journal of dairy science*, 2001, 84(5):1218-1230.
- [7] DOS SANTOS RIBEIRO L, BRANDÃO F Z, DE REZENDE CARVALHEIRA L, et al. Chromium supplementation improves glucose metabolism and vaginal temperature regulation in Girolando cows under heat stress conditions in a climatic chamber [J]. *Tropical animal health and production*, 2020, 52(4):1661-1668.
- [8] WU G Y. Important roles of dietary taurine, creatine, carnosine, anserine and 4-hydroxyproline in human nutrition and health [J]. *Amino acids*, 2020, 52(3):329-360.
- [9] YU M F, ZHAO X M, CAI H, et al. Dihydropyridine enhances the antioxidant capacities of lactating dairy cows under heat stress condition [J/OL]. *Animals: an open access journal from MDPI*, 2020, 10(10):1812 [2022-11-24]. <https://doi.org/10.3390/ani10101812>.
- [10] 高景, 赵传超, 李晗, 等. 酵母铬和二氢吡啶对热应激奶牛营养物质消化率及血液生理生化指标的影响 [J]. *动物营养学报*, 2019, 31(12):5719-5729. GAO J, ZHAO C C, LI H, et al. Effects of yeast chromium and diludin on nutrient digestibility and blood physiological and biochemical indicators of heat stressed dairy cows [J]. *Chinese journal of animal nutrition*, 2019, 31(12):5719-5729 (in Chinese).
- [11] 赵新茂, 隋晨, 王肆玖, 等. 不同热应激条件下添加二氢吡啶对奶牛瘤胃发酵功能的影响 [J]. *中国牛业科学*, 2012, 38(3):27-32. ZHAO X M, SUI C, WANG S J, et al. Influence of DHP on the rumen fermentation of dairy cows in different heat stress levels [J]. *China cattle science*, 2012, 38(3):27-32 (in Chinese).
- [12] MAUST L E, MCDOWELL R E, HOOVEN N W. Effect of summer weather on performance of Holstein cows in three stages of lactation [J]. *Journal of dairy science*, 1972, 55(8):1133-1139.
- [13] WHEELOCK J B, RHOADS R P, VANBAALE M J, et al. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows 1 [J]. *Journal of dairy science*, 2010, 93(2):644-655.
- [14] 张会会, 李孟伟, 唐振华, 等. 夏季补饲半胱胺和烟酸铬对水牛泌乳性能、抗氧化性能、瘤胃发酵参数和微生物多样性的影响 [J]. *动物营养学报*, 2020, 32(12):5760-5777. ZHANG H H, LI M W, TANG Z H, et al. Effects of supplemental feeding of cysteamine and chromium nicotinate on lactation performance, antioxidant performance, rumen fermentation parameters and microbial diversity of buffalo in summer [J]. *Chinese journal of animal nutrition*, 2020, 32(12):5760-5777 (in Chinese with English abstract).
- [15] KUMAR M, KAUR H, DEKA R S, et al. Dietary inorganic chromium in summer-exposed buffalo calves (*Bubalus bubalis*): effects on biomarkers of heat stress, immune status, and endocrine variables [J]. *Biological trace element research*, 2015, 167(1):18-27.
- [16] 廖晓霞, 叶均安. 泌乳奶牛热应激研究进展 [J]. *中国饲料*, 2005(19):21-23. LIAO X X, YE J A. Recent advances of heat stress in lactating cow [J]. *China feed*, 2005(19):21-23

- (in Chinese).
- [17] 张峰, 吴占军, 张新同, 等. 二氢吡啶对热应激奶牛产奶量以及奶牛体温、呼吸频率的影响[J]. 华北农学报, 2010, 25(S1): 270-273. ZHANG F, WU Z J, ZHANG X T, et al. Effects of 1, 4-dihydropyridine on milk yield, body temperature and respiration of lactating dairy cows in heat stress [J]. Acta agriculturae boreali-sinica, 2010, 25(S1): 270-273 (in Chinese with English abstract).
- [18] 刘嘉莉, 窦金焕, 胡丽蓉, 等. 热应激对奶牛生理和免疫功能的影响及其机理[J]. 中国畜牧兽医, 2018, 45(1): 263-270. LIU J L, DOU J H, HU L R, et al. Effects and mechanism of heat stress on physiological and immune system in dairy cows [J]. China animal husbandry & veterinary medicine, 2018, 45(1): 263-270 (in Chinese with English abstract).
- [19] 李娜. 添加烟酸铬对干奶期和泌乳早期奶牛生产性能和代谢参数的影响[D]. 保定: 河北农业大学, 2007. LI N. Effects of adding chromium nicotinate on performance and metabolic parameters of dairy cows in dry milk period and early lactation period [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2007 (in Chinese with English abstract).
- [20] 傅传鞭. 丙酸铬对围产期并岗奶牛繁殖性能和血液生化指标的影响及相关研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2020. FU C B. Effects of chromium propionate on reproductive performance and blood biochemical indexes of jinggang cows (perinatal cows) and related research [D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2020 (in Chinese with English abstract).
- [21] BELL A W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation [J]. Journal of animal science, 1995, 73(9): 2804-2819.
- [22] FENG W W, DING Y Y, ZHANG W J, et al. Chromium malate alleviates high-glucose and insulin resistance in L6 skeletal muscle cells by regulating glucose uptake and insulin sensitivity signaling pathways [J]. Biometals, 2018, 31(5): 891-908.
- [23] 郑晓中, 李克驴, 刘桂林, 等. 日粮中添加不同抗氧化剂对奶牛血液生化指标的影响[J]. 中国畜牧杂志, 1997, 33(1): 7-9. ZHENG X Z, LI K L, LIU G L, et al. Effect of adding different antioxidants in diets on the blood biochemical profiles of dairy cows [J]. Chinese journal of animal science, 1997, 33(1): 7-9 (in Chinese with English abstract).
- [24] 曹杰. 日粮中添加二氢吡啶对奶牛生产性能、抗氧化和抗热应激能力的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010. CAO J. Effects of dietary dihydropyridine on performance, antioxidant and thermal stress of dairy cows [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010 (in Chinese with English abstract).
- [25] 单强, 马峰涛, 金宇航, 等. 富铬酵母对热应激奶牛生产性能、血清指标及血浆和牛奶中微量元素含量的影响[J]. 动物营养学报, 2020, 32(5): 2198-2208. SHAN Q, MA F T, JIN Y H, et al. Effects of chromium yeast on performance, serum indexes and plasma and milk trace element contents of heat-stressed dairy cows [J]. Chinese journal of animal nutrition, 2020, 32(5): 2198-2208 (in Chinese with English abstract).
- [26] 刘影. 添加丙酸铬对奶牛产奶性能和血液指标及免疫功能的影响[D]. 银川: 宁夏大学, 2019. LIU Y. Effects of adding chromium propionate on milk production performance, blood indexes and immune function of dairy cows [D]. Yinchuan: Ningxia University, 2019 (in Chinese with English abstract).
- [27] DRACKLEY J K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? [J]. Journal of dairy science, 1999, 82(11): 2259-2273.
- [28] 赵程禹, 邓清华, 刘婷. 奶牛围产期脂肪肝的研究进展[J]. 中国奶牛, 2022(2): 23-27. ZHAO C Y, DENG Q H, LIU T. Domestic research progress of perinatal fatty liver disease in dairy cows [J]. China dairy cattle, 2022(2): 23-27 (in Chinese).
- [29] 隋晨. 黄冈市围产期奶牛添加锌锰硒和二氢吡啶的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013. SUI C. Study on adding zinc, manganese, selenium and dihydropyridine to perinatal cows in Huanggang City [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013 (in Chinese with English abstract).
- [30] 刘庆华, 王根林. 热应激对奶牛血液流变学指标及血清无机离子浓度和酶活性的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2007, 36(3): 284-287. LIU Q H, WANG G L. Effects of heat stress on hemorheology status and plasma inorganic ion concentration and plasma enzyme levels in dairy cows [J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (natural science edition), 2007, 36(3): 284-287 (in Chinese with English abstract).
- [31] 敖日格乐, 王纯洁, 吕晓伟, 等. 热应激对荷斯坦奶牛血清酶活力及其行为的影响[J]. 畜牧与兽医, 2008, 40(9): 62-64. Aorigele, WANG C J, LÜ X W, et al. Effect of heat stress on serum enzyme activity and behavior of Holstein dairy cows [J]. Animal husbandry & veterinary medicine, 2008, 40(9): 62-64 (in Chinese).
- [32] 何钦. 热应激对不同泌乳阶段奶牛生产性能及其营养代谢的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2012. HE Q. Effects of heat stress on production performance and nutritional metabolism of dairy cows at different lactation stages [D]. Chongqing: Southwest University, 2012 (in Chinese with English abstract).
- [33] MAYER M P, BUKAU B. Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism [J]. Cellular and molecular life sciences, 2005, 62(6): 670-684.
- [34] 王学清, 石少轻, 吴占军, 等. 二氢吡啶对中国荷斯坦牛表达的影响[J]. 湖北畜牧兽医, 2014, 35(10): 21-24. WANG X Q, SHI S Q, WU Z J, et al. Effect of dihydropyridine on the expression of China Holstein cattle [J]. Hubei journal of animal and veterinary sciences, 2014, 35(10): 21-24 (in Chinese).

Effects of dietary supplementation of yeast chromium and dihydropyridine on physiological and biochemical indices and *HSP70* mRNA expression of periparturient dairy cows under heat stress

ZHANG Liwen¹, CHEN Huijun², WANG Chao¹, ZHANG Shaobo¹,
WANG Shengqi¹, ZHANG Bo¹, AO Yingnan¹, QI Zhili¹

1. College of Animal Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Institute of Finance and Economics, Wuhan City Polytechnic, Wuhan 430064, China

Abstract In order to investigate the effects of dietary supplementation of yeast chromium and dihydropyridine on physiological and biochemical indices and *HSP70* mRNA expression of periparturient dairy cows under heat stress, a total of 24 periparturient Holstein-Friesian cows with similar body weights and parity were randomly assigned to three groups. Cows were housed at high ambient temperature-humidity index (above 68) for 40 d, and the effects of yeast chromium and dihydropyridine on the heat stress response of perinatal dairy cows were observed during the experimental period. The control group was fed with basal diet, the chromium yeast group was fed with basal diet plus chromium 1‰ and the amount of chromium yeast was 8 g/d, and the dihydropyridine group was fed with basal diet plus dihydropyridine and the amount of chromium yeast was 3 g/d. The results showed as follows: ① Compared with the control group, there was no significant difference in respiratory rate of periparturient dairy cows in chromium yeast group and dihydropyridine group ($P>0.05$). ② Compared with the control group, there was no significant difference in serum blood glucose and cholesterol in yeast chromium group and dihydropyridine group on the 7th day before delivery and the 3rd day after delivery ($P>0.05$). Compared with the control group, the content of serum triglyceride decreased significantly in dihydropyridine group on the 7th day before delivery ($P<0.05$). ③ Compared with the control group, there was no significant differences in serum Na^+ , K^+ and Cl^- concentrations in chromium yeast group and dihydropyridine group before and after delivery ($P>0.05$), and the concentrations of serum alkaline phosphatase and creatine kinase did not change significantly in the two experimental groups before and after delivery ($P>0.05$). ④ There was no significant difference in the expression of heat shock protein 70 mRNA in serum between chromium yeast group, dihydropyridine group and control group ($P>0.05$). In conclusion, dietary supplementation of 8 g/d yeast chromium with 1‰ chromium and 3 g/d dihydropyridine had no significant effects on physiological and biochemical indices and *HSP70* mRNA expression of periparturient dairy cows under heat stress. These results indicated that supplementation of 8 g/d yeast chromium with 1‰ chromium and 3 g/d dihydropyridine had no significant effect on relieving heat stress of perinatal Holstein dairy cows.

Keywords heat stress; perinatal cows; chromium yeast; dihydropyridine; serum biochemical index

(责任编辑:边书京)