

# 金银花提取物对热应激奶牛生产性能、血清生化指标和免疫功能的影响

马峰涛 单强 金宇航 李洪洋 高铎 孙鹏\*

(中国农业科学院北京畜牧兽医研究所,动物营养学国家重点实验室,北京 100193)

**摘要:** 本试验旨在研究饲料添加金银花提取物(LJE)对热应激奶牛生产性能、血清生化指标和免疫功能的影响,以探究金银花提取物有效缓解奶牛热应激的适宜添加量。试验选取20头产奶量、胎次、泌乳日龄相近的健康中国荷斯坦奶牛,随机分为4组,每组5头。对照组(CON组)饲喂基础饲料,试验组分别在基础饲料中添加14(LJE-14组)、28(LJE-28组)、56 g/d(LJE-56组)的金银花提取物。预试期2周,正试期8周。结果表明:1)饲料添加金银花提取物可显著降低热应激奶牛直肠温度( $P<0.05$ ),而对呼吸频率无显著影响( $P>0.05$ )。2)饲料添加金银花提取物对热应激奶牛干物质采食量、产奶量、乳蛋白率、乳脂率、乳糖率、非脂乳固形物含量和总固形物含量无显著影响( $P>0.05$ )。3)饲料添加金银花提取物可显著降低热应激奶牛血清肌酐含量( $P<0.05$ ),对热应激奶牛血清尿酸、尿素、总蛋白、白蛋白和葡萄糖含量无显著影响( $P>0.05$ )。随着金银花提取物添加量的增加,血清葡萄糖含量呈二次升高趋势( $P=0.072$ )。4) LJE-28组热应激奶牛血清免疫球蛋白G和白细胞介素-4含量显著高于CON组( $P<0.05$ )。饲料添加金银花提取物对热应激奶牛血清免疫球蛋白A、免疫球蛋白M、白细胞介素-1 $\beta$ 和白细胞介素-2含量无显著影响( $P>0.05$ ),有降低热应激奶牛血清热休克蛋白-72含量的趋势( $P=0.084$ )。综上所述,饲料添加金银花提取物对热应激奶牛生产性能无显著影响,可提高热应激奶牛免疫应答,有助于缓解奶牛热应激。本试验条件下,有效缓解奶牛热应激的金银花提取物适宜添加量为28 g/d。

**关键词:** 金银花提取物;热应激;奶牛;生产性能;血液生化指标;免疫功能

**中图分类号:** S823

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1006-267X(2020)05-2209-09

由于夏季高温天气影响,热应激已成为阻碍奶牛养殖业前进的重要因素之一。奶牛热应激是指奶牛机体受到超过自身调节能力的高温刺激而产生的一系列非特异性防御反应<sup>[1]</sup>。奶牛为耐寒怕热体质,成年奶牛的适宜环境温度为5~25℃<sup>[2]</sup>。当环境温湿度指数(temperature and humidity index, THI)>68时,奶牛便有可能产生热应激;当THI>72时,则认为该环境为热应激环境,奶牛处于此环境下,便会产生热应激<sup>[3]</sup>。热应激会

对泌乳期奶牛的各项生理机能产生不良影响,造成奶牛食欲下降,采食量、产奶量和乳品质下降<sup>[4-6]</sup>,免疫功能减弱,繁殖机能下降等<sup>[7-9]</sup>。热应激不仅会缩短奶牛使用年限,还会影响其经济价值的发挥,因而已成为奶牛养殖业亟待解决的重要产业问题。

金银花属忍冬科、忍冬属植物,在中国、波兰、俄罗斯<sup>[10]</sup>和日本<sup>[11]</sup>等地均有种植,兼有药用和营养双重作用。金银花富含多种化学成分,主要为

收稿日期:2019-11-24

基金项目:国家重点研发计划(2016YFD0500507);中国农业科学院科技创新工程(ASTIP-IAS07)

作者简介:马峰涛(1992—),男,河北石家庄人,硕士研究生,从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: fengtaoma@qq.com

\*通信作者:孙鹏,研究员,博士生导师,E-mail: sunpeng02@caas.cn

有机酸类化合物,如绿原酸、异绿原酸、隐绿原酸、棕榈酸及咖啡酸<sup>[12]</sup>。金银花具有多种药理学作用。雷玲等<sup>[13]</sup>通过对金银花解热、抗炎作用的研究发现,金银花提取物(*Lonicera japonica* extract, LJE)浓度为 10 mg/mL 时,可缓解大鼠的发热情况;皮建辉等<sup>[14]</sup>研究发现,金银花提取物对小鼠有免疫调节作用,可有效调节小鼠血清免疫酶的活性,提高淋巴器官的抗氧化能力,具有良好的免疫调节作用。在热应激肉牛饲料中添加金银花提取物可有效缓解肉牛热应激,增强抗氧化性能,促进骨骼肌纤维损伤的修复<sup>[15-16]</sup>;在围产期奶牛饲料中添加金银花提取物可提高围产期奶牛抗炎和抗氧化能力,改善生产性能,缓解围产期奶牛能量负平衡<sup>[17-18]</sup>。金银花提取物应用于热应激肉牛和围产期奶牛均有积极影响,而现有研究对金银花提取物应用于热应激奶牛的试验却鲜有报道。因此,本试验旨在研究饲料添加金银花提取物对热应激奶牛生产性能、血清生化指标和免疫功能的影响,以探究金银花提取物有效缓解奶牛热应激的适宜添加量。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验时间与地点

试验于 2018 年 6—9 月在河北省新乐市君源牧业有限公司进行。

### 1.2 试验材料

试验使用的金银花提取物购于陕西中鑫生物技术有限公司,主要成分为绿原酸,含量为 10%。

### 1.3 试验动物与试验设计

试验选取体况评分(2.5±0.3)分、产奶量(30±1) kg/d、泌乳天数(105±5) d 的健康荷斯坦奶牛 20 头,随机分为 4 组,每组 5 头。对照组(CON 组)饲喂基础饲料,试验组分别在基础饲料中添加 14(LJE-14 组)、28(LJE-28 组)、56 g/d(LJE-56 组)的金银花提取物。试验期 10 周,其中预试期 2 周,正试期 8 周。

### 1.4 试验饲料与饲养管理

试验牛采用散栏式饲养方式,每天饲喂 3 次(06:30、13:30、20:30),挤奶 3 次(05:30、12:30、19:30),自由饮水。根据 NRC(2001)<sup>[19]</sup> 配制饲料,以全混合日粮(total mixed ration, TMR)形式饲喂,满足奶牛营养需要。基础饲料组成及营养水平见表 1。

表 1 基础饲料组成及营养水平(干物质基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (DM basis)		%
项目 Items	含量 Content	
原料 Ingredients		
苜蓿 Alfalfa hay	11.33	
燕麦 Oats	4.37	
青贮 Silage	33.76	
糖蜜 Syrup	1.33	
玉米 Corn	18.82	
豆粕 Soybean meal	11.43	
酒糟 Distiller's grains	0.44	
压片玉米 Flaked corn	4.07	
甜菜粕 Sugar beet pulp	0.67	
棉籽粕 Cottonseed meal	7.04	
酵母培养物 Yeast culture	0.70	
碳酸氢钠 NaHCO <sub>3</sub>	0.79	
石粉 Limestone	1.16	
食盐 NaCl	0.50	
氧化镁 MgO	0.14	
碳酸钾 K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.19	
磷酸氢钙 CaHPO <sub>4</sub>	0.51	
脂肪粉 Fat powder	1.27	
预混料 Premix <sup>1)</sup>	1.48	
合计 Total	100.00	
营养水平 Nutrient levels <sup>2)</sup>		
泌乳净能 NE <sub>L</sub> /(MJ/kg)	6.52	
粗蛋白质 CP	16.93	
粗脂肪 EE	5.10	
粗灰分 Ash	8.20	
中性洗涤纤维 NDF	28.42	
酸性洗涤纤维 ADF	14.54	
钙 Ca	0.82	
磷 P	0.27	

1) 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of the diet: VA 200 000 IU, VD 40 000 IU, VE 5 000 IU, Mg 95 200 mg, Zn 1 000 mg, Co 50 mg。

2) 泌乳净能为计算值,参考 NRC(2001)<sup>[19]</sup>,其余为实测值。NE<sub>L</sub> was a calculated value according to NRC(2001)<sup>[19]</sup>, while the others were measured values.

### 1.5 样品采集与指标测定

#### 1.5.1 温度、相对湿度的记录与 THI 计算

试验期间每天 06:00、14:00、22:00 记录牛舍温度、相对湿度,将温湿度计挂于离地 1.5 m 处测定牛舍内的温度和相对湿度,并换算成为 THI,换算公式为:

$$THI = (1.8 \times T + 32) - [(0.55 - 0.005 \times$$

$\text{RH}) \times (1.8 \times T - 26)]^{[20]}$ 。

式中:  $T$  是牛舍温度( $^{\circ}\text{C}$ );  $\text{RH}$  是牛舍相对湿度( $\%$ )。

### 1.5.2 直肠温度(RT)和呼吸频率(RR)的测定

试验期间,每周连续 2 d 测定每头牛的直肠温度和呼吸频率。直肠温度和呼吸频率测定的具体时间为 10:00—11:30 和 16:00—17:30。利用普通电子体温计测定并记录直肠温度。呼吸频率根据目测胸腹部的起伏动作测定,1 min 的呼吸总次数作为呼吸频率。

### 1.5.3 饲料及剩料样品采集与测定

正试期每周连续 3 d 测定采食量,并采用四分法采集饲料样,测定干物质(DM)含量,从而计算每头牛每天的干物质采食量(DMI)。同时测定粗蛋白质(CP)[AOAC(2000),方法 976.05]、粗脂肪(EE)[AOAC(2003),方法 4.5.05]和粗灰分(Ash)[GB/T 6438—1992]含量,中性洗涤纤维(NDF)和酸性洗涤纤维(ADF)含量参照 Van Soest 等<sup>[21]</sup>描述的方法进行测定。

### 1.5.4 牛奶样品的采集与测定

试验期间每天准确记录试验牛产奶量并每 10 d 采集 1 次奶样,按早、中、晚=4:3:3 的比例采集 50 mL 奶样,采用乳成分分析仪(MilkoScanTM FT6000)测定奶样的乳脂率(milk fat rate)、乳蛋白率(milk protein rate)、乳糖率(lactose rate)、非脂乳固形物(non-fat solid)含量和总固形物(total solid)含量。

### 1.5.5 血清样品的采集与测定

试验牛于试验结束当天晨饲前进行尾根静脉采血,室温静置 30 min 后,3 000×g、4 $^{\circ}\text{C}$  离心

15 min 制备血清样品,于-20 $^{\circ}\text{C}$  冰箱内保存备用。血清肌酐(creatinine, CREA)、尿酸(uric acid, UA)、尿素(urea, UREA)、总蛋白(total protein, TP)、白蛋白(albumen, ALB)和葡萄糖(glucose, GLU)含量采用日立全自动生化仪(HITACH-17080)测定。血清免疫球蛋白 A(immunoglobulin A, IgA)、免疫球蛋白 G(immunoglobulin G, IgG)和免疫球蛋白 M(immunoglobulin M, IgM)含量采用酶联免疫吸附测定(ELISA)法,试剂盒购于美国 Bethyl 公司;血清白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)、白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)和热休克蛋白-72(heat shock proteins-72, HSP-72)含量采用美国 MyBioSource 公司的试剂盒进行测定。

## 1.6 数据统计分析

试验数据采用 SAS 9.4 软件中的 MIXED 模块进行统计学检验。统计模型中,试验牛为随机因素,试验处理为固定因素。采用 Turkey's 法进行多重比较;采用线性和二次多重比较评价金银花提取物添加量的影响。 $P < 0.05$  表示差异显著,  $0.05 \leq P < 0.10$  表示有差异显著趋势。

## 2 结果

### 2.1 夏季高温条件下牛舍的 THI

由表 2 和图 1 可知,试验期间,牛舍全天平均温度为 26.9~33.6 $^{\circ}\text{C}$ ,平均相对湿度为 55.47%~77.43%,THI 为 77.64~84.04。试验期间牛舍早、中、晚的平均 THI>72,试验期第 11~25 天以及第 30~56 天的平均 THI>78,所以奶牛所处环境为热应激环境,且大部分时间处于中度热应激环境范围。

表 2 牛舍温度和相对湿度

Table 2 Temperature and relative humidity of cattle house

时间 Time	平均温度 Average temperature/ $^{\circ}\text{C}$	平均相对湿度 Average relative humidity/ $\%$	温湿度指数 Temperature and humidity index
06:00	26.9	77.43	77.64
14:00	33.6	55.47	84.04
22:00	29.0	69.02	79.74

### 2.2 金银花提取物对热应激奶牛直肠温度和呼吸频率的影响

由表 3 可知,饲料添加金银花提取物可显著

降低热应激奶牛直肠温度( $P < 0.05$ ),而对呼吸频率无显著影响( $P > 0.05$ )。

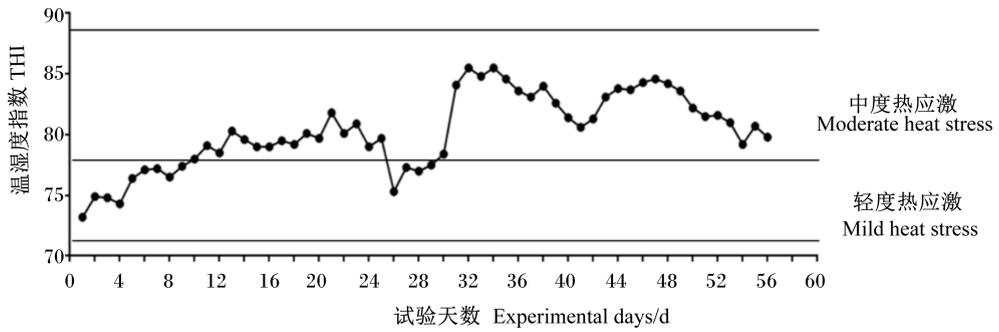


图1 牛舍温湿度指数变化曲线

Fig.1 Temperature and humidity index curve of cattle house

表3 金银花提取物对热应激奶牛直肠温度和呼吸频率的影响

Table 3 Effects of *Lonicera japonica* extract on RT and RR of heat-stressed dairy cows

项目 Items	组别 Groups				SEM	P 值 P-value		
	CON	LJE-14	LJE-28	LJE-56		处理 Treatment	线性 Linear	二次 Quadratic
直肠温度 RT/°C	38.41 <sup>a</sup>	38.16 <sup>b</sup>	38.01 <sup>b</sup>	38.03 <sup>b</sup>	0.05	<0.001	<0.001	0.021
呼吸频率 RR/(次/min)	82.00	81.27	79.93	80.80	2.02	0.910	0.659	0.604

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 相同或无字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ )。下表同。

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

### 2.3 金银花提取物对热应激奶牛生产性能和乳成分的影响

激奶牛干物质采食量、产奶量、乳蛋白率、乳脂率、乳糖率、非脂乳固形物含量和总固形物含量均无显著影响 ( $P > 0.05$ )。

由表4可知, 饲料添加金银花提取物对热应

表4 金银花提取物对热应激奶牛生产性能和乳成分的影响

Table 4 Effects of *Lonicera japonica* extract on performance and milk composition of heat-stressed dairy cows

项目 Items	组别 Groups				SEM	P 值 P-value		
	CON	LJE-14	LJE-28	LJE-56		处理 Treatment	线性 Linear	二次 Quadratic
干物质采食量 DMI/(kg/d)	11.65	11.38	11.91	11.89	0.37	0.784	0.413	0.626
产奶量 Milk yield/(kg/d)	26.64	28.59	28.73	28.47	0.99	0.430	0.301	0.237
乳脂率 Milk fat rate/%	5.30	4.98	5.29	4.77	0.19	0.191	0.124	0.607
乳蛋白率 Milk protein rate/%	3.46	3.17	3.36	3.09	0.13	0.167	0.103	0.951
乳糖率 Lactose rate/%	4.58	4.63	4.63	4.71	0.10	0.852	0.398	0.977
非脂乳固形物含量 Non-fat solid content/%	8.76	8.82	8.51	8.51	0.13	0.247	0.103	0.755
总固形物含量 Total solid content/%	16.42	15.22	14.55	15.17	0.62	0.227	0.213	0.096

## 2.4 金银花提取物对热应激奶牛血清生化指标的影响

由表 5 可知, 饲料添加金银花提取物可显著降低热应激奶牛血清肌酐含量 ( $P < 0.05$ ), 对热应

激奶牛血清尿酸、尿素、总蛋白、白蛋白和葡萄糖含量无显著影响 ( $P > 0.05$ )。随着金银花提取物添加量的增加, 血清葡萄糖含量呈二次升高趋势 ( $P = 0.072$ ), 其中 LJE-28 组血清葡萄糖含量最高。

表 5 金银花提取物对热应激奶牛血清生化指标的影响

Table 5 Effects of *Lonicera japonica* extract on serum biochemical indexes of heat-stressed dairy cows

项目 Items	组别 Groups				SEM	P 值 P-value		
	CON	LJE-14	LJE-28	LJE-56		处理 Treatment	线性 Linear	二次 Quadratic
肌酐 CREA/( $\mu\text{mol/L}$ )	127.58 <sup>a</sup>	75.85 <sup>b</sup>	77.80 <sup>b</sup>	80.34 <sup>b</sup>	7.38	<0.001	<0.001	<0.001
尿酸 UA/( $\mu\text{mol/L}$ )	69.84	72.36	62.79	71.42	6.08	0.683	0.996	0.483
尿素 UREA/( $\text{mmol/L}$ )	2.55	1.81	2.80	2.51	0.41	0.393	0.673	0.883
总蛋白 TP/( $\text{g/L}$ )	75.89	69.48	72.27	70.87	4.04	0.711	0.549	0.556
白蛋白 ALB/( $\text{g/L}$ )	34.11	34.23	30.90	31.12	1.77	0.392	0.165	0.645
葡萄糖 GLU/( $\text{mmol/L}$ )	3.10	3.36	3.66	3.40	0.17	0.165	0.234	0.072

## 2.5 金银花提取物对热应激奶牛血清免疫指标的影响

由表 6 可知, LJE-28 组热应激奶牛血清 IgG 含量显著高于 CON 组 ( $P < 0.05$ ); 饲料添加金银花提取物对热应激奶牛血清 IgA 和 IgM 含量无显著

影响 ( $P > 0.05$ )。LJE-28 组热应激奶牛血清 IL-4 含量显著高于 CON 组 ( $P < 0.05$ ), 饲料添加金银花提取物对热应激奶牛血清 IL-1 $\beta$  和 IL-2 含量无显著影响 ( $P > 0.05$ )。饲料添加金银花提取物有降低热应激奶牛血清 HSP-72 含量的趋势 ( $P = 0.084$ )。

表 6 金银花提取物对热应激奶牛血清免疫指标的影响

Table 6 Effects of *Lonicera japonica* extract on serum immune indexes of heat-stressed dairy cows

项目 Items	组别 Groups				SEM	P 值 P-value		
	CON	LJE-14	LJE-28	LJE-56		处理 Treatment	线性 Linear	二次 Quadratic
免疫球蛋白 G IgG/( $\text{mg/mL}$ )	76.41 <sup>b</sup>	86.85 <sup>ab</sup>	89.40 <sup>a</sup>	81.50 <sup>ab</sup>	2.96	0.032	0.440	0.013
免疫球蛋白 A IgA/( $\text{mg/mL}$ )	0.30	0.41	0.50	0.41	0.07	0.291	0.322	0.104
免疫球蛋白 M IgM/( $\text{mg/mL}$ )	3.56	4.70	3.85	3.89	0.51	0.464	0.981	0.412
白细胞介素-1 $\beta$ IL-1 $\beta$ /( $\text{pg/mL}$ )	46.65	37.94	44.53	46.68	3.48	0.277	0.563	0.247
白细胞介素-2 IL-2/( $\text{ng/mL}$ )	4.55	4.31	3.91	2.78	0.87	0.508	0.144	0.800
白细胞介素-4 IL-4/( $\text{ng/mL}$ )	7.60 <sup>b</sup>	8.10 <sup>ab</sup>	9.87 <sup>a</sup>	8.34 <sup>ab</sup>	0.53	0.046	0.257	0.025
热休克蛋白-72 HSP-72/( $\text{ng/mL}$ )	8.66	7.40	8.12	8.18	0.30	0.084	0.782	0.103

### 3 讨论

#### 3.1 金银花提取物对热应激奶牛直肠温度和呼吸频率的影响

通常情况下,奶牛直肠温度保持在 38.3~39.1℃,热应激状态下的奶牛直肠温度会明显升高,当直肠温度达到 42~45℃时便会出现致死情况<sup>[22]</sup>。现代药理学研究发现,金银花提取物具有清热解毒的作用<sup>[13]</sup>。本试验中,饲料添加金银花提取物可显著降低热应激奶牛直肠温度,表明金银花提取物有助于缓解奶牛热应激。

#### 3.2 金银花提取物对热应激奶牛生产性能和乳成分的影响

奶牛处于热应激状态时,主要表现为以减少干物质采食量来最大限度地降低热总负荷,加快激活散热机制,引起连锁生理调节,使维持能量增加,生产能量减少<sup>[22-23]</sup>。当 THI>72 时,THI 每升高 1,奶牛产奶量降低 0.2 kg<sup>[24]</sup>;当最大 THI 达到 77 时,奶牛产奶量和干物质采食量均显著降低,THI 和干物质采食量呈显著负相关<sup>[25]</sup>,发生热应激时,各泌乳阶段奶牛的乳蛋白率、乳脂肪率和非脂乳固形物含量均有下降趋势<sup>[26]</sup>。本试验结果显示,饲料添加金银花提取物对热应激奶牛干物质采食量无显著影响,但同对照组相比,金银花提取物添加组干物质采食量均有所提高,表明金银花提取物对热应激奶牛的干物质采食量无负面影响<sup>[27]</sup>。由于奶牛的产奶量主要受其干物质采食量和饲料中粗蛋白质含量的影响,而金银花提取物添加组干物质采食量无显著变化,奶牛产奶量和乳成分亦无显著变化,但金银花提取物添加组产奶量与对照组相比在数值上均有所提高,表明金银花提取物对热应激奶牛产奶量和乳品质无负面影响。

#### 3.3 金银花提取物对热应激奶牛血清生化指标的影响

肌酐是反映肾脏功能的重要指标。在热应激条件下,奶牛血清肌酐含量会升高<sup>[28]</sup>,这可能与热应激导致奶牛汗腺分泌增强、呼吸加快、排尿减少有关<sup>[29]</sup>。本试验中,饲料添加金银花提取物可显著降低热应激奶牛血清肌酐含量。Tzeng 等<sup>[30]</sup>将金银花提取物用于治疗糖尿病大鼠,8 周之后大鼠的肌酐清除率明显增加,与本试验结果一致。由此推断金银花提取物在一定程度上缓解了热应激

对泌乳奶牛造成的危害。

葡萄糖是重要的营养性单糖,可为动物的代谢活动提供快速且有效的营养素。热应激条件下,奶牛采食量下降,造成奶牛能量负平衡,使得血清中葡萄糖含量减少<sup>[31]</sup>。Wheelock 等<sup>[32]</sup>、Rhoads 等<sup>[33]</sup>和权素玉<sup>[34]</sup>通过葡萄糖耐受试验、肾上腺素激发试验和同位素标记试验证实,热应激条件下肝脏葡萄糖生成并未减少,而是全身组织器官葡萄糖消耗率显著升高,导致乳腺可利用的葡萄糖减少,造成牛奶中乳糖率下降。本试验中,血清葡萄糖含量呈二次升高趋势,并且金银花提取物添加组的乳糖率高于对照组。叶清华<sup>[35]</sup>研究发现,金银花提取物对大鼠的糖代谢具有改善作用,与本试验结果一致。葡萄糖是乳糖合成的前体物,1 分子乳糖的合成需要消耗至少 1 分子葡萄糖和 1 分子半乳糖<sup>[36]</sup>。因此可以推断,金银花提取物可改善热应激奶牛葡萄糖代谢,促进了机体葡萄糖向乳糖的转化。

#### 3.4 金银花提取物对热应激奶牛免疫功能的影响

热应激通过内部和外部感受器同时刺激奶牛下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴引起皮质醇分泌增加<sup>[37]</sup>,皮质醇会抑制巨噬细胞的免疫功能,加速淋巴细胞凋亡,机体淋巴细胞数量减少,从而抑制机体免疫功能,导致发病率升高<sup>[38]</sup>。本试验中,饲料添加 28 g/d 金银花提取物可显著提高热应激奶牛血清 IgG 含量。IgG 是体液免疫的主要抗体,在血清中含量最多,并且是反映机体免疫应答的重要指标。崔晓燕<sup>[39]</sup>研究发现,金银花提取物对小鼠具有免疫调节作用,与本试验结果一致,表明金银花提取物可提高热应激奶牛免疫应答。

IL-4 是辅助型 T 细胞 2(Th2 细胞)分泌的细胞因子,能够促进嗜酸性粒细胞的激活和分化,在调节体液免疫和适应性免疫中起关键作用<sup>[40]</sup>。本试验中,饲料添加 28 g/d 金银花提取物可显著增加热应激奶牛血清 IL-4 含量。IL-4 可辅助 B 细胞并提高 IgG 亚型的产量,从而增加 IgG 的分泌量<sup>[41]</sup>,血清 IL-4 含量显著升高的同时 IgG 含量也有所升高,与本试验结果一致。由此可以推断,金银花提取物提高热应激奶牛的免疫应答可能与提高 IL-4 的分泌量有关。

HSP-72 是应激因素所诱导出的作用最为显著的蛋白质之一,除了具有作为分子伴侣的作用外,还会在各种应激后的蛋白质异常折叠、突变过程

中发挥细胞内保护作用<sup>[42]</sup>。正常情况下,*HSP-72* 的表达量极低,而奶牛处于热应激环境当中时,*HSP-72* 的表达量会急剧升高<sup>[43]</sup>。本试验中,饲料添加金银花提取物有降低热应激奶牛血清 *HSP-72* 含量的趋势,与 Sun 等<sup>[44]</sup> 研究结果一致,表明饲料添加金银花提取物有助于缓解奶牛热应激。

## 4 结 论

① 饲料添加金银花提取物对热应激奶牛生产性能及呼吸频率无显著影响,但显著降低了直肠温度。

② 饲料添加金银花提取物可提高热应激奶牛免疫应答,有助于缓解奶牛热应激。

③ 本试验条件下,饲料添加 28 g/d 金银花提取物为有效缓解奶牛热应激的适宜添加量。

## 参考文献:

- [ 1 ] 唐俊英.热应激对奶牛生产力的影响[J].中国奶牛,2000(2):27-28.
- [ 2 ] 张玉生,柳巨雄,刘娜.动物生理学[M].长春:吉林人民出版社,2000:167-176.
- [ 3 ] ARMSTRONG D V.Heat stress interaction with shade and cooling [ J ]. Journal of Dairy Science, 1994, 77 ( 7 ): 2044-2050.
- [ 4 ] 韩佳良,刘建新,刘红云.热应激对奶牛泌乳性能的影响及其机制[J].中国农业科学,2018,51(16):3159-3170.
- [ 5 ] UMPAPOL H, JITRAJAK T, SONGWICHA C, et al. Effect of the different feed formulas on physiological changes and milk production performance of Holstein-Friesian crossbred dairy cows [ J ]. Pakistan Journal of Nutrition, 2010, 9 ( 6 ): 567-573.
- [ 6 ] 程建波,王伟宇,郑楠,等.自然生产条件下热应激周期变化揭示泌乳中期奶牛出现“热应激乳蛋白降低征”[J].中国畜牧兽医,2014,41(10):73-84.
- [ 7 ] POLITIS I, THEODOROU G, LAMPIDONIS A D, et al. Short communication: oxidative status and incidence of mastitis relative to blood  $\alpha$ -tocopherol concentrations in the postpartum period in dairy cows [ J ]. Journal of Dairy Science, 2012, 95 ( 12 ): 7331-7335.
- [ 8 ] CHENG J Z, SHARMA R, YANG Y, et al. Accelerated metabolism and exclusion of 4-hydroxynonenal through Induction of RLIP76 and hGst5.8 is an early adaptive response of cells to heat and oxidative stress [ J ]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276 ( 44 ): 41213-41223.
- [ 9 ] TURK R, PODPEČAN O, MRKUN J, et al. The effect of seasonal thermal stress on lipid mobilisation, antioxidant status and reproductive performance in dairy cows [ J ]. Reproduction in Domestic Animals, 2015, 50 ( 4 ): 595-603.
- [ 10 ] FREJNAGEL S, WROBLEWSKA M. Comparative effect of green tea, chokeberry and honeysuckle polyphenols on nutrients and mineral absorption and digestibility in rats [ J ]. Annals of Nutrition & Metabolism, 2010, 56 ( 3 ): 163-169.
- [ 11 ] JANG A, LIU X D, SHIN M H, et al. Antioxidative potential of raw breast meat from broiler chicks fed a dietary medicinal herb extract mix [ J ]. Poultry Science, 2008, 87 ( 11 ): 2382-2389.
- [ 12 ] 李娜,阮文辉,杨莹莹,等.金银花成分分析研究进展[J].科技情报开发与经济,2011,21(18):178-181.
- [ 13 ] 雷玲,李兴平,白筱璐,等.金银花抗内毒素、解热、抗炎作用研究[J].中药药理与临床,2012,28(1):115-117.
- [ 14 ] 皮建辉,谭娟,胡朝瞰,等.金银花黄酮对小鼠免疫调节作用的研究[J].中国应用生理学杂志,2015,31(1):89-92.
- [ 15 ] 黄涛.金银花提取物对夏季高温条件下肉牛骨骼肌纤维形态和肌肉品质的影响[D].硕士学位论文.南昌:江西农业大学,2015..
- [ 16 ] 符运斌,瞿明仁,宋小珍,北京.热应激条件下金银花提取物对肉牛生理生化指标及骨骼肌纤维结构的影响[C]//中国畜牧兽医学会动物营养学分会第十二次动物营养学术研讨会论文集.北京:中国畜牧兽医学会动物营养学分会,2016.
- [ 17 ] 唐志文,蒋林树,杨亮,等.金银花提取物在围产期奶牛氧化应激及炎症中的应用前景[J].动物营养学报,2018,30(10):3843-3849.
- [ 18 ] 唐志文,蒋林树,杨亮,等.金银花提取物对瘤胃体外发酵参数及产气量的影响[J].动物营养学报,2018,30(2):790-796.
- [ 19 ] NRC. Nutrient requirements of dairy cattle [ S ]. Washington, D. C. : National Academy of Press, 2001.
- [ 20 ] ROWSELL H C. A guide to environmental research on animals [ J ]. The Canadian Veterinary Journal, 1972, 13 ( 8 ): 196.
- [ 21 ] VAN SOEST P J, ROBERTSON J B, LEWIS B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition [ J ]. Journal of Dairy Science, 1991, 74 ( 10 ): 3583-3597.

- [22] 徐玉薇,王剑,吴亚琳,等.热应激对不同胎次高产泌乳牛生理指标的影响[J].中国畜牧杂志,2019,55(5):129-133.
- [23] FERRAZZA R D A, GARCIA H D M, ARISTIZÁBAL V H V, et al. Thermoregulatory responses of Holstein cows exposed to experimentally induced heat stress[J]. Journal of Thermal Biology, 2017, 66: 68-80.
- [24] WEST J W, MULLINIX B G, BERNARD J K. Effects of hot, humid weather on milk temperature, dry matter intake, and milk yield of lactating dairy cows[J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86(1): 232-242.
- [25] HOLTER J B, WEST J W, MCGILLIARD M L, et al. Predicting ad libitum dry matter intake and yields of Jersey cows[J]. Journal of Dairy Science, 1996, 79(5): 912-921.
- [26] BAHASHWAN S. Effect of cold and hot seasons on fat, protein and lactose of Dhofari cow's milk[J]. Net Journal of Agricultural Science, 2014, 2(1): 47-49.
- [27] 邵丽炜,李林,刘建成,等.全株青贮张杂谷替代不同比例全株青贮玉米对奶牛产奶量和乳品质的影响[J].饲料工业,2019,40(3):49-53.
- [28] COWLEY F C, BARBER D G, HOULIHAN A V, et al. Immediate and residual effects of heat stress and restricted intake on milk protein and casein composition and energy metabolism[J]. Journal of Dairy Science, 2015, 98(4): 2356-2368.
- [29] 侯引绪,张凡建,魏朝利.中度热应激对荷斯坦牛部分血液生化指标的影响[C]//首届全国奶牛精细化管理高峰论坛暨奶牛精细化饲养关键技术与设施设备研讨会论文集.北京:奶牛产业技术体系北京市创新团队,2013:37-40.
- [30] TZENG T F, LIOU S S, CHANG C, et al. The ethanol extract of *Lonicera japonica* (Japanese Honeysuckle) attenuates diabetic nephropathy by inhibiting p-38 MAPK activity in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Planta Medica, 2014, 80(2/3): 121-129.
- [31] DE RENSI F, SCARAMUZZI R J. The heat stress and seasonal effects on reproduction in dairy cows[J]. Theriogenology, 2000, 20(6): 83-92.
- [32] WHEELLOCK J B, RHOADS R P, VANBAALE M J, et al. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows[J]. Journal of Dairy Science, 2010, 93(2): 644-655.
- [33] RHOADS M L, RHOADS R P, VANBAALE M J, et al. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin[J]. Journal of Dairy Science, 2009, 92(5): 1986-1997.
- [34] 权素玉.热应激对荷斯坦奶牛乳糖合成的影响及其机制[D].硕士学位论文.南京:南京农业大学,2016:23-42.
- [35] 叶清华.中药金银花提取物降糖作用实验研究[J].中医临床研究,2018,10(19):4-7.
- [36] KRONFELD D S. Major metabolic determinants of milk volume, mammary efficiency, and spontaneous ketosis in dairy cows[J]. Journal of Dairy Science, 1982, 65(11): 2204-2212.
- [37] AMARAL B C D, CONNOR E E, TAO S, et al. Heat stress abatement during the dry period influences metabolic gene expression and improves immune status in the transition period of dairy cows[J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94(1): 86-96.
- [38] YERUHAM I, ELAD D, FRIEDMAN S, et al. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in Israeli dairy cattle[J]. Epidemiology and Infection, 2003, 131(2): 947-955.
- [39] 崔晓燕.金银花提取物的抗炎免疫作用研究[J].中国药业,2011,20(23):14-15.
- [40] MOTTRAM P L, HAN W R, PURCELL L J, et al. Increased expression of *IL-4* and *IL-10* and decreased expression of *IL-2* and interferon-gamma in long-surviving mouse heart allografts after brief CD4-monoclonal antibody therapy[J]. Transplantation, 1995, 59(4): 559-565.
- [41] YONG Y H, HUANG C J, WANG S C, et al. The ethyl acetate extract of alfalfa sprout ameliorates disease severity of autoimmune-prone MRL-*lpr/lpr* mice[J]. Lupus, 2009, 18(3): 206-215.
- [42] KRISTENSEN T N, LØVENDAHL P, BERG P, et al. HSP72 is present in plasma from Holstein-Friesian dairy cattle, and the concentration level is repeatable across days and age classes[J]. Cell Stress and Chaperones, 2004, 9(2): 143-149.
- [43] ASEA A. Stress proteins and initiation of immune response: chaperone activity of hsp72[J]. Exercise Immunology Review, 2005, 11: 34-45.
- [44] SUN Y H, LIU J, YE G P, et al. Protective effects of zymosan on heat stress-induced immunosuppression and apoptosis in dairy cows and peripheral blood mononuclear cells[J]. Cell Stress and Chaperones, 2018, 23(5): 1069-1078.

## Effects of *Lonicera japonica* Extract on Performance, Serum Biochemical Indexes and Immune Function of Heat-Stressed Dairy Cows

MA Fengtao SHAN Qiang JIN Yuhang LI Hongyang GAO Duo SUN Peng\*

(State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

**Abstract:** The objective of this study was to investigate the effects of *Lonicera japonica* extract (LJE) on performance, serum biochemical indexes and immune function of heat-stressed dairy cows, and to explore the optimum amount of LJE to effectively alleviate heat stress of dairy cows. Twenty healthy Chinese Holstein cows with similar milk yield, parity and lactation days were randomly assigned to 4 groups with 5 cows per group. Cows in the control group (CON group) were fed a basal diet, while other in experimental groups were fed basal diets supplemented with 14 (LJE-14 group), 28 (LJE-28 group) and 56 g/d (LJE-56 group) LJE, respectively. The pre-experimental period lasted for 2 weeks, and the experimental period lasted for 8 weeks. The results showed as follows: 1) dietary supplementation of LJE could significantly decreased the rectal temperature of heat-stressed dairy cows ( $P<0.05$ ), but had no significant effect on respiratory rate ( $P>0.05$ ). 2) Dietary supplementation of LJE had no significant effects on dry matter intake, milk yield, milk fat rate, milk protein rate, lactose rate, non-fat solid content and total solid content of heat-stressed dairy cows ( $P>0.05$ ). 3) Dietary supplementation of LJE could significantly decreased the serum creatinine content of heat-stressed dairy cows ( $P<0.05$ ), but had no significant effect on the contents of uric acid, urea, total protein, albumin and glucose in serum ( $P>0.05$ ). With the supplemental amount of LJE increased, the serum glucose content showed a quadratically increasing trend ( $P=0.072$ ). 4) The contents of immunoglobulin G and interleukin-4 in serum of heat-stressed dairy cows of LJE-28 group were significantly higher than those of the CON group ( $P<0.05$ ). Dietary supplementation of LJE had no significant effects on the contents of immunoglobulin A, immunoglobulin M, interleukin-1 $\beta$  and interleukin-2 in serum of heat-stressed dairy cows ( $P>0.05$ ), and showed a trend to reduce the serum heat shock protein-72 content of heat-stressed dairy cows ( $P=0.084$ ). In summary, dietary supplementation of LJE have no significant effect on the performance of heat-stressed dairy cows, can improve the immune response of heat-stressed dairy cows, and help to alleviate the heat stress of dairy cows. Under the condition of this experiment, the optimal amount for effectively alleviate heat stress of dairy cows is 28 g/d. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(5):2209-2217]

**Key words:** *Lonicera japonica* extract; heat stress; dairy cows; performance; serum biochemical indexes; immune function