doi:10.3969/j.issn.1006-267x.2021.03.036

慢性热应激期营养调控对放牧妊娠牛生殖激素 含量、免疫功能及抗氧化能力的作用

武思同¹ 敖日格乐^{1*} 王纯洁² 斯木吉德¹ 陈 浩¹ 张 晨¹ 曹家铭¹ 徐 萍¹ 刘飞鸿¹

(1.内蒙古农业大学动物科学学院,呼和浩特 010018;2.内蒙古农业大学兽医学院,呼和浩特 010018)

要: 本试验旨在研究营养调控对慢性热应激状态下的放牧妊娠牛生殖激素含量、免疫功能 以及抗氧化能力的作用。试验选取夏季持续热应激期天然草场放牧的妊娠牛18头,随机分为 试验组(营养调控)和对照组(仅放牧),每组9头。对照组妊娠牛每天自然放牧,试验组妊娠牛 在此基础上归牧后进行补充饲喂精料 2.5 kg/d。预试期 10 d,试验期 60 d。每天记录草场温湿 指数,在试验期第1、30和60天早晨空腹进行颈静脉采集血液样本,测定其生殖相关激素含量、 免疫功能及抗氧化能力相关指标,比较研究试验组和对照组间妊娠牛的各项血清指标的差异, 及在试验组和对照组组内组间(不同时间点)的差异。结果表明:试验动物长期处于气温日较差 较大的热应激环境,在试验第60天,试验组血清孕酮(PROG)、雌二醇(E2)含量显著高于对照 组(P<0.05)。试验组组内组间血清催乳素(PRL)、三碘甲状腺原氨酸(T。)含量增加显著(P< 0.05)。妊娠牛血清促卵泡素(FSH)含量在试验组组内组间均无显著差异(P>0.05)。在试验第 60 天,试验组血清白细胞介素-2(IL-2)和白细胞介素-4(IL-4)含量显著高于对照组(P< 0.05),试验组组内组间血清免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 M(IgM)和免疫球蛋白 G(IgG)含 量均有显著提高(P<0.05),2组血清溶菌酶(LZ)含量均无显著差异(P>0.05)。试验组组内组 间血清谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性和总抗氧化能力(T-AOC)显著增加(P<0.05),且试 验组血清 GSH-Px 活性显著高于对照组(P<0.05)。2 组血清超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙 二醛(MDA)含量组内组间均无显著差异(P>0.05),但试验组血清 SOD 活性有高于对照组的趋 势。综上所述,营养补饲有效地提高了放牧条件下妊娠牛的免疫功能和抗氧化能力,缓解了热 应激对肉牛健康的危害,且显著提高了妊娠牛血清繁殖激素含量,对母牛繁殖性能的发挥具有 积极作用。

关键词: 妊娠牛;热应激;生殖激素;免疫功能;抗氧化能力;营养调控

中图分类号:S823

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2021)03-1545-10

动物应激一直是制约我国畜牧产业发展的重要因素之一,许多因素可以导致动物应激。根据应激源的不同分为热应激、冷应激、束缚应激、运输应激等^[1]。由高温刺激引起的热应激根据应激持续时间可分为急性热应激和慢性热应激。根据

畜牧养殖业的实际情况,家畜热应激主要是由于季节变化导致饲养环境温度高于最适体温引起的,并且都有较长的持续时间,属慢性热应激。近些年来,随着全球气温普遍升高,气候变化导致的动物热应激逐渐威胁着世界生态系统和畜牧生产

收稿日期:2020-08-01

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFD0501703);国家自然科学基金项目(31772650,31660677);内蒙古自治区草原英才工程项目;农业部政府购买服务项目(16200157-8)

作者简介: 武思同(1996—), 女, 山东日照人, 硕士研究生, 从事放牧肉牛热应激营养调控研究。E-mail: 873353761@qq.com

^{*}通信作者:敖日格乐,教授,博士生导师,E-mail: aori6009@163.com

系统的可持续性[2]。热应激可引起畜禽体温调节 及生理机能紊乱等一系列异常反应,甚至死亡[3]。 国外几项研究报告表明,夏季高温会导致母牛妊 娠率显著下降[4-5]。我国也有许多研究证实,热应 激可以导致母畜繁殖性能下降[6-7]。生产性能和 繁殖性能的提高是畜牧业可持续发展的重要前 提。因此,热应激限制了我国畜牧业的发展,造成 了巨大经济损失。Silanikove 等[8] 预测,由于全球 变暖的进展,在不久的将来动物热应激问题会日 益严峻。在我国肉牛养殖产业中,繁殖母牛的健 康状况是影响肉牛业经济效益的最重要因素。有 研究表明,奶牛处于热应激状态时采食量降低,生 产性能下降[9]。热应激会引起母牛体内激素分泌 失调、代谢紊乱以及胚胎早死等疾病,还会影响母 牛的受胎率及流产率增加、新生犊牛死亡率增 加[10]。而我国内蒙古地区多以粗放的饲养模式为 主,夏季草原没有舍饲降温防控热应激的条件,这 导致了放牧牲畜长时间处于慢性热应激的状态。 国外有研究表明,增强营养干预可能会改善热应 激期间动物的耐受性和生产性能[11-12]。因此,通 过营养调控手段缓解热应激对草原放牧牲畜造成 的负面影响是目前最有效的方式之一。而国内对 热应激放牧牛营养调控方面缺乏相关的试验数 据,为了更好地指导放牧肉牛产业的健康发展,本 试验选用妊娠5个月左右的西门塔尔牛,研究热 应激放牧妊娠牛营养调控对其生殖激素含量、免 疫功能及抗氧化能力的影响,旨在为我国放牧的 饲养模式下肉牛养殖业缓解热应激提供科学 参考。

1 材料与方法

1.1 试验时间与地点

本试验于2019年7月在内蒙古赤峰市阿鲁科尔沁巴彦温都尔草原进行。该地区是科尔沁草原和锡林郭勒草原的交错地带,牲畜资源丰富,且有天然河流经过,便于牲畜自由饮水,适合开展试验研究。

1.2 试验设计及饲粮

试验随机选择妊娠5个月左右、健康、体重和体况相近的西门塔尔母牛18头,随机分为对照组(仅放牧)和试验组(营养调控),每组9头。天然牧场没有遮阴树木或人工遮阴棚等避暑措施,有天然河流经过,放牧试验牛全天自由采食牧草和

自由饮水。试验开始前采集试验地草场的牧草样本,用概略养分分析法测定牧草养分,放牧草场牧草概略养分见表 1。根据我国《肉牛饲养标准》(NY/T 815—2004),在试验地牧草营养成分以及采食量的基础上,精准调配补饲料进行营养调控,补饲精料的组成及营养水平见表 2。对照组全天放牧不进行补饲,试验组每天归牧后进行补充饲喂精料,每头 2.5 kg/d。预试期 10 d,试验期 60 d。

表 1 放牧草场牧草概略养分(干物质基础)

Table 1 General nutrient of grazing pasture (DM basis)

| 项目 Items | 含量 Content |
|------------|------------|
| 干物质 DM | 41.33 |
| 粗蛋白质 CP | 10.29 |
| 粗脂肪 EE | 2.87 |
| 酸性洗涤纤维 ADF | 32.57 |

中性洗涤纤维 NDF

粗灰分 Ash

表 2 补充精料的组成及营养水平(干物质基础)

Table 2 Composition and nutrient levels of the

concentrate (DM basis)

07

47.38

9.66

%

| 项目 Items | 含量 Content |
|--------------------------------|------------|
| 原料 Ingredients | |
| 玉米 Corn | 47.35 |
| 小麦麸 Wheat bran | 25.15 |
| 豆粕 Soybean meal | 21.00 |
| 石粉 Limestone | 2.00 |
| 磷酸氢钙 CaHPO ₄ | 1.00 |
| 氯化钠 NaCl | 1.00 |
| 预混料 Premix ¹⁾ | 2.50 |
| 合计 Total | 100.00 |
| 营养水平 Nutrient levels2) | |
| 综合净能 NE _{mf} /(MJ/kg) | 5.03 |
| 干物质 DM | 91.36 |
| 粗蛋白质 CP | 18.22 |
| 粗脂肪 EE | 3.04 |
| 钙 Ca | 1.34 |
| 磷 P | 0.81 |

- 1) 预混料为每千克精料提供 The premix provided the following per kg of the concentrate: VA 160 000 IU, VD₃ 22 000 IU, VE 1 200 IU, 生物素 biotin 0.15 mg, 烟酸 nicotinic acid 10 mg, Cu 0.8 g, Fe 0.8 g, Mn 0.96 g, Zn 3 g, I 20 mg, Se 8 mg, Co 8 mg。
- 2)综合净能为计算值 $^{[14]}$,其他为实测值。 NE_{mf} was a calculated value $^{[14]}$, while the others were measured values.

1.3 放牧妊娠牛干物质采食量(DMI)的测定

采用內外源指示剂结合法测定放牧牛的DMI,选取体况相近的放牧妊娠牛5头,每天08:30和18:30以胶囊形式喂服三氧化二铬(Cr₂O₃)各1次,每头牛每次12g。预试期3d,正试期7d。正试期每天定时采集粪便200g,将每头牛每天的粪样混合均匀阴干保存,用以测定粪中的Cr₂O₃含量,采用72-1分光光度计比色法测定^[13]。采用人工模拟采样法采集牧草,现场跟群观察放牧牛采食牧草的种类和部位,连续7d每天采集牧草2000g,混匀,保存于-20℃冰箱备用。牧草、粪样中的盐酸不溶灰分(AIA)含量采用4mol/LAIA法测定。根据放牧牛采食牧草中干物质AIA含量、粪样中干物质含量及粪中干物质AIA含量按以下公式计算出放牧牛DMI:

$DMI = F \times a/b_{\odot}$

式中: DMI 为干物质采食量; F 为粪样中干物质含量; a 为粪中干物质 AIA 含量; b 为采食牧草中干物质 AIA 含量。

1.4 牧草和精料营养成分的测定

牧草和精料营养成分的测定指标包括干物质、粗蛋白质、粗灰分、粗纤维、粗脂肪含量和综合净能,参照陈浩等^[15]的方法进行测定。

1.5 环境温湿度的测定

由于试验是以在天然草场进行全年放牧的肉牛为研究对象,因此所测的环境指标均为自然环境下的温度和相对湿度。试验期间,记录草场温度和相对湿度,统计每天最高气温和最低气温并计算平均温度,环境温湿度指数(THI)的计算方法公式如下:

THI= $(1.8 \times Td + 32) - (0.55 - 0.55 \times RH \times 0.01) \times (1.8 \times Tw - 26)_{\odot}$

式中: Td 为干球温度(\mathbb{C}); RH 为相对湿度; Tw 为湿球温度(\mathbb{C})。

1.6 样品采集

分别于试验期第 1、30 和 60 天早晨空腹进行颈静脉采血,每头牛 10 mL,血样静置 0.5 h后,用离心机 999×g 离心 15 min,收集血清于离心管中,记录相关日期及编号后液氮储存,将样品送至实验室保存至超低温冰箱中,以待检验。

1.7 测定指标

血清激素:三碘甲状腺原氨酸 (T_3) 、催乳素 (PRL)、促卵泡素(FSH)、孕酮(PROG)、雌二醇

(E2)含量。

免疫指标:免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 M(IgM)、免疫球蛋白 G(IgG)、白细胞介素 -2 (IL-2)、白细胞介素 -4(IL-4) 含量及溶菌酶(LZ) 活性。

抗氧化指标:超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性、丙二醛(MDA)含量、总抗氧化能力(T-AOC)。

以上指标均采用酶联免疫吸附测定(ELISA) 法进行测定,利用 GYI-LRH-400-D 生化培养箱 和 BIO-RAD680 型酶标仪检测上述指标,检测所 需 ELISA 试剂盒购于江苏酶免实业有限公司,试 验操作步骤详见试剂盒说明书。

1.8 数据处理

用 Excel 2016 整理试验数据,采用 SPSS 9.0 软件对数据进行统计分析。2 组间数据比较采用 单因素方差分析 (one-way ANOVA),组内组间 (第 1、30 和 60 天间)数据比较采用独立样本 t 检验。结果以平均值±标准差表示,以 P<0.05 为差异显著性水平。

2 结 果

2.1 热应激与环境温度情况

热应激的程度分为:轻度热应激(72<THI<78)、中度热应激(78<THI<88)和严重热应激(THI>88)。表3为3次采样当天和整个试验期的平均温湿度及THI指数的测定情况。图1所示为试验期间牧场THI变化趋势,结果显示在整个60d的试验期间,有41d处于轻度热应激状态,有3d处于中度热应激状态。这表明草原放牧的试验牛群长期处于热应激环境。图2为试验期间牧场环境温度的变化趋势,结果显示夏季放牧草场昼夜温差大,试验期间最高气温41.2℃,夜间最低气温10.2℃,日最大温差可达到25.5℃。这表明放牧肉牛不仅受到高温热应激的侵害,还处于气温日较差大的恶劣环境中。

2.2 营养调控对慢性热应激期放牧妊娠牛血清 生殖激素含量的影响

由表 4 可知,在试验第 60 天,试验组妊娠牛血清 PROG 含量显著高于对照组(P<0.05),同时试验组妊娠牛血清 E2 含量显著高于对照组(P<0.05)。而在整个试验期间,试验组组内组间妊娠牛血清 PRL 含量增加显著(P<0.05),试验第 60

天显著高于第1天(P<0.05)。试验组妊娠牛血清 T_3 含量随着试验的进行有了显著的提高,在试验 第60天显著高于第1天(P<0.05)。2组妊娠牛

血清 FSH 含量在组内组间无显著差异(P>0.05)。

表 3 试验期天然草场平均温湿度及温湿指数

Table 3 Average temperature and humidity and THI of natural grazing during test period

| 项目 | 第1天 | 第 30 天 | 第 60 天 | 整个试验期间 |
|--------------------------|-------|--------|--------|-------------------|
| Items | Day 1 | Day 30 | Day 60 | Whole test period |
| 温度 Temperature/℃ | 37.50 | 24.75 | 24.70 | 24.62±2.48 |
| 相对湿度 Relative humidity/% | 47.00 | 77.02 | 73.10 | 70.32 ± 12.48 |
| 温湿指数 THI | 71.78 | 74.20 | 73.73 | 73.19 ± 3.46 |

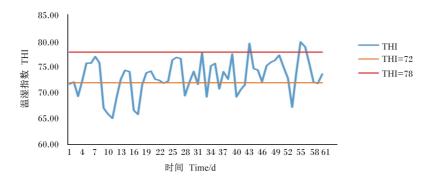


图 1 试验期间天然牧场温湿度指数折线图

Fig.1 Temperature humidity index line chart of natural grazing during test period

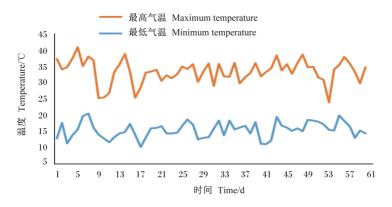


图 2 试验期间天然牧场温度折线图

Fig.2 Temperature line chart of natural grazing during test period

表 4 营养调控对慢性热应激放牧妊娠牛血清生殖激素含量的影响

Table 4 Effects of nutritional regulation on serum reproductive hormone contents of grazing pregnant cattle under chronic heat stress

| 项目 Items | 时间 Time | 试验组 Experiment group | 对照组 Control group | P 值 P-value |
|--------------------|---------------|-------------------------------|----------------------|----------------|
| 原 到 丰 | 第1天 Day 1 | 543.12±47.60 ^B | 534.38±47.16 | 0.822 3 |
| 催乳素 PRL/(mIU/L) | 第 30 天 Day 30 | 609.87±76.80 | 584.70 ± 42.95 | $0.646\ 2$ |
| r KL/ (IIIIO/ L) | 第 60 天 Day 60 | $682.32 \pm 14.24^{\text{A}}$ | 601.12 ± 74.26 | $0.136\ 4$ |

续表 4

| 项目 | 时间 | 试验组 | 对照组 | P 值 |
|--------------------------------------|---------------|-------------------------|----------------------|------------|
| Items | Time | Experiment group | Control group | P-value |
| 加加 基 | 第1天 Day 1 | 5.93±0.96 | 5.57±0.71 | 0.623 1 |
| 促卵泡素 ESH//mH//mL) | 第 30 天 Day 30 | 6.21 ± 1.00 | 5.68 ± 0.54 | $0.427\ 8$ |
| FSH/(mIU/mL) | 第 60 天 Day 60 | 5.89 ± 1.76 | 5.18 ± 0.25 | $0.525\ 0$ |
| 77 777 | 第1天 Day 1 | 18.01 ± 4.21 | 15.27 ± 2.86 | 0.403 7 |
| 孕酮 PPOG/(ng/mL) | 第 30 天 Day 30 | 20.71 ± 3.15 | 17.92 ± 3.74 | 0.380 5 |
| PROG/(ng/mL) | 第 60 天 Day 60 | 25.42±3.34 ^a | 18.21 ± 2.13^{b} | $0.034\ 5$ |
| ##: —→ # == | 第1天 Day 1 | 46.16±2.59 | 46.29 ± 3.95 | 0.963 1 |
| 雌二醇 E2/(pg/mL) | 第 30 天 Day 30 | 47.61 ± 4.59 | 42.12±6.66 | 0.304 9 |
| | 第 60 天 Day 60 | 53.06±2.55ª | 44.41 ± 1.63^{b} | 0.007 8 |
| 三碘甲状腺原氨酸 T ₃ /(nmol/L) | 第1天 Day 1 | 6.19 ± 0.72^{B} | 5.71 ± 0.37 | 0.359 8 |
| | 第 30 天 Day 30 | 6.96 ± 0.74 | 7.10 ± 0.85 | 0.834 6 |
| | 第 60 天 Day 60 | 8.58 ± 1.06^{A} | 7.42 ± 0.80 | $0.203\ 6$ |

同行数据肩标不同小写字母表示组间差异显著(P<0.05);同列数据肩标不同大写字母表示组内组间差异显著(P<0.05)。下表同。

In the same row, values with different small letter superscript mean significant difference between groups (P<0.05); in the same column, values with different capital letter superscripts mean significant difference between groups within group (P<0.05). The same as below.

2.3 营养调控对慢性热应激期放牧妊娠牛血清 免疫功能相关指标的影响

由表 5 可知,在试验第 60 天,试验组妊娠牛血清 IL-2 和 IL-4 含量显著高于对照组(P<0.05),随着营养调控的持续进行,试验组组内妊娠牛血清 IgA、IgM和IgG含量均有显著提高,其中IgA和

IgM 含量在试验第 60 天较第 1 天有显著提高(P<0.05), IgG 含量在试验第 30 天和第 60 天较第 1 天有显著提高(P<0.05)。而在营养调控的过程中,2 组妊娠牛血清 LZ 活性在组内和组内组间均无显著差异(P>0.05)。

表 5 营养调控对慢性热应激放牧妊娠牛血清免疫功能相关指标的影响

Table 5 Effects of nutrition regulation on serum immune function related indexes of grazing pregnant cattle under chronic heat stress

| | 时间 | 试验组 | | |
|-------------------------|--------|----------------------------|------------------|------------|
| 次日 Items | Time/d | Experiment group | Control group | P-value |
| 在 点 社 死 凸 A | 1 | 2.49±0.08 ^B | 2.39±0.10 | 0.250 2 |
| 免疫球蛋白 A IgA/(mg/mL) | 30 | 2.74 ± 0.17 | 2.63 ± 0.38 | $0.673\ 1$ |
| igA/ (ilig/ iliL) | 60 | 2.91 ± 0.14^{A} | 2.70 ± 0.05 | 0.075 7 |
| A. 冷水平 4. M | 1 | 1.59 ± 0.22^{B} | 1.55 ± 0.20 | 0.850 3 |
| 免疫球蛋白 M IgM/(mg/mL) | 30 | 1.98 ± 0.20 | 1.92 ± 0.19 | $0.733\ 5$ |
| | 60 | 2.04 ± 0.12^{A} | 1.92 ± 0.15 | $0.342\ 5$ |
| 免疫球蛋白 G IgG/(mg/mL) | 1 | 4.61 ± 0.53^{B} | 4.32 ± 0.94 | 0.823 6 |
| | 30 | $5.20 \pm 0.37^{\text{A}}$ | 4.92 ± 0.60 | $0.541\ 4$ |
| | 60 | 5.61 ± 0.20^{A} | 5.07 ± 0.40 | 0.103 7 |
| 溶菌酶 LZ/(ng/mL) | 1 | 13.14 ± 0.77 | 12.84 ± 0.57 | 0.614 5 |
| | 30 | 13.40±1.06 | 13.35 ± 0.77 | 0.942 0 |
| | 60 | 13.55 ± 0.22 | 13.37 ± 1.00 | 0.785 7 |

续表5

| 项目 Items | 时间 Time/d | 试验组 Experiment group | 对照组 Control group | P值 P-value |
|-------------------------|--------------|---------------------------|------------------------|---------------|
| | 1 | 602.18±129.43 | 594.71±84.65 | 0.937 3 |
| 白细胞介素-2 IL-2/(pg/mL) | 30 | 576.91 ± 73.39 | 641.71 ± 95.92 | $0.405\ 3$ |
| | 60 | 711.55±85.58 ^a | 530.69 ± 44.84^{b} | $0.031\ 6$ |
| 白细胞介素-4 IL-4/(pg/mL) | 1 | 48.54±8.01 | 47.73 ± 4.59 | 0.886 9 |
| | 30 | 46.44 ± 6.43 | 49.78 ± 6.76 | 0.568 6 |
| | 60 | 60.14 ± 5.63^{a} | 45.39 ± 6.67^{b} | 0.046 5 |

2.4 营养调控对慢性热应激期放牧妊娠牛血清 抗氧化能力相关指标的影响

由表 6 可知,在整个试验期间,试验组组内妊娠牛血清 GSH-Px 活性和 T-AOC 显著增加(P<0.05),试验期第 30 天和第 60 天较第 1 天有显著

提高 (P<0.05),在试验第60天,试验组血清GSH-Px活性显著高于对照组(P<0.05)。而2组妊娠牛血清SOD活性和MDA含量组内组间均无显著差异(P>0.05),但试验组血清SOD活性有高于对照组的趋势。

表 6 营养调控对慢性热应激放牧妊娠牛血清抗氧化相关指标的影响

Table 6 Effects of nutritional regulation on serum antioxidant related indexes of grazing pregnant cattle under chronic heat stress

| 项目 | ————————————————————————————————————— | 试验组 | 对照组 | |
|-----------------------------|---------------------------------------|-------------------------|------------------------|------------|
| Items | Time/d | Experiment group | Control group | P-value |
| | 1 | 7.21±0.58 | 7.21±0.81 | 0.996 1 |
| 超氧化物歧化酶 | 30 | 8.05 ± 1.06 | 6.77 ± 0.07 | $0.104\ 5$ |
| SOD/(ng/mL) | 60 | 8.70 ± 1.00 | 7.51 ± 0.55 | $0.144\ 4$ |
| — | 1 | 6.56 ± 0.36 | 6.76 ± 0.44 | 0.565 5 |
| 丙二醛 MDA // nmol/mL) | 30 | 6.85±0.99 | 6.44 ± 0.39 | $0.543\ 4$ |
| MDA/(nmol/mL) | 60 | 6.15±0.88 | 6.20 ± 0.29 | 0.930 8 |
| 谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px/(ng/mL) | 1 | 572.10 ± 25.38^{B} | 577.06 ± 12.24 | 0.775 7 |
| | 30 | 648.27 ± 29.56^{B} | 634.61±9.57 | 0.488 8 |
| | 60 | 824.93 ± 58.27^{Aa} | 714.61 ± 25.73^{b} | 0.039 9 |
| 总抗氧化能力 T-AOC/(U/mL) | 1 | 40.13 ± 4.52^{B} | 39.74 ± 4.53 | 0.919 6 |
| | 30 | 43.39 ± 2.49^{B} | 43.35 ± 4.25 | 0.989 7 |
| | 60 | 52.20 ± 5.48^{A} | 46.21 ± 2.79 | 0.166 8 |

3 讨论

3.1 营养调控对慢性热应激期放牧妊娠牛血清 生殖激素含量的影响

动物的繁殖功能主要受到下丘脑-垂体-性腺轴的调控^[16]。高温刺激产生的非特异性生理反应会抑制下丘脑的活动,进而影响生殖相关激素的分泌。而 E2 是卵巢分泌的重要性激素,对于维持妊娠与 PROG 起协同作用。PROG 可抑制子宫肌收缩,维持妊娠,有保胎作用。有研究表明,妊娠

母牛遭受热应激时,体内 PROG 和 E2 含量降低^[17]。在本研究中,试验组妊娠牛血清 PROG 和 E2 含量显著高于对照组,表明营养调控对慢性热应激下妊娠牛 PROG 和 E2 的分泌有积极作用,在一定程度上可以保胎,降低流产风险。垂体分泌的 FSH 等促性腺激素的主要功能是控制卵巢的内分泌活动,间接对子宫内膜适应胚泡附植的各种变化产生影响。有研究证实,热应激会降低卵巢类固醇激素及促性腺激素的分泌^[18]。本试验中,2组牛血清 FSH 含量差异不显著,主要原因可能是由于妊娠期间卵巢内卵泡不再发育成熟,也无法

排卵,所以血清 FSH 含量没有显著增加。在妊娠 期间体内 PRL 含量会随孕期进展而逐渐升高,而 在热应激情况下,促肾上腺皮质激素(ACTH)大量 分泌会干扰垂体前叶分泌 PRL 等激素[19]。营养 摄入不足时,神经-内分泌系统导致催乳素抑制因 子(PIF)增加,催乳素释放因子(PRF)减少,最终 引起 PRL 的分泌减少,试验组组内妊娠牛血清 PRL 含量有显著提高,通过营养调控可以改善热 应激期妊娠牛的 PRL 分泌状况。甲状腺素是调节 机体代谢的重要激素,热应激时肉牛甲状腺机能 减弱,代谢率降低,产热减少,以增加机体对炎热 环境的适应,血清 T₃ 含量会明显降低^[20],母牛妊 娠期机体内 E2 含量增加, E2 可以引起肝脏甲状 腺素结合球蛋白(TBG)的合成增加,TBG与甲状 腺素的结合力提高^[21],也会导致血清中游离 T₃含 量的降低。李妍等[22]研究表明, T3、甲状腺素 (T₄)含量随着饲粮营养水平的提高而增加,与本 研究结果一致。提高营养水平会提高妊娠牛机体 内 T。含量,改善热应激状态下的甲状腺机能。

3.2 营养调控对慢性热应激期放牧妊娠牛血清 免疫功能相关指标的影响

免疫球蛋白主要参与体内体液免疫,负责机 体保护性的免疫应答和自身的稳定,其在血清中 水平的高低是评估免疫状况的重要指标,血清中 球蛋白含量体现了机体免疫功能强弱[23]。本研究 中的试验动物长期生存在热应激环境,有报道证 实热应激会导致牛免疫功能下降[10],且试验所选 取的天然牧场每日较大的温差还可能产生温差应 激反应,出现神经系统、内分泌系统、免疫系统等 生理紊乱,抵抗力下降,影响生产效益[24]。在本研 究中,试验组组内妊娠牛血清 IgA、IgM 和 IgG 含 量显著升高。由于 PRL 不仅可以促进乳腺发育和 泌乳,还可以促进 IgA 的分泌;E2 可以促进 IgA 和 IgG 的分泌,妊娠期间随着母牛体内 PRL 和 E2 分 泌的增加可提高机体免疫功能。白细胞介素(IL) 主要由T细胞产生,能调控免疫细胞。据报道,奶 牛遭受热应激侵袭时,机体内淋巴细胞功能受到 抑制,免疫因子含量降低,进而降低奶牛免疫功 能[25]。本研究中通过营养调控显著提高了慢性热 应激妊娠牛血清 IL-2 和 IL-4 含量,在一定程度上 增强免疫机能,减轻热应激对机体造成的损害。

3.3 营养调控对慢性热应激期放牧妊娠牛血清 抗氧化能力相关指标的影响

当动物体处于热应激状态时,机体代谢水平 提高,细胞产生过量且无法被及时清除的活性氧 (ROS)自由基过多[26],损伤机体的正常生理机 能。有研究表明,妊娠期胚胎-胎盘-母体间的血 液循环完全建立以后,胎盘内的氧浓度迅速增 加[27]。随着胎儿的生长,所需要的营养物质增多, 通过胎盘排泄的代谢物增多,母体的各个系统、器 官的代谢负荷加重,细胞活动所产生的 ROS 也不 断增加[28]。有试验证明在热应激条件下,肉牛血 清中的 T-AOC、SOD 和 GSH-Px 活性较非热应激 条件明显降低, 使机体抗氧化能力减弱[29]。饲粮 营养、生理阶段、生长环境等有可能导致机体自由 基水平变化的因素都能导致机体抗氧化物质含量 变化。而饲粮营养水平对机体抗氧化的影响研究 报道较少,本试验的营养调控主要是在牧草的基 础上补充了蛋白质、矿物质以及维生素(维生素 A、维生素 D 和维生 E),对慢性热应激状态下的妊 娠母牛机体清除自由基有积极作用,减少氧化物 的生成,可以增强抗氧化防御系统的能力。

4 结 论

夏季天然草场放牧的妊娠牛长时间处于昼夜 温差较大的热应激状态,在本试验条件下,通过营 养补饲有效地提高了放牧条件下妊娠牛的免疫功 能和抗氧化能力,缓解了热应激对肉牛健康的危 害,且显著提高了妊娠牛血清繁殖激素含量,对母 牛繁殖性能的发挥具有积极作用。

参考文献:

- [1] 李文杰,连帅,王立鹏.代谢组学在动物应激研究中的应用[J].中国生物制品学杂志,2019,32(4):482-484,488.
 - LI W J, LIAN S, WANG L P, et al. Application of metabolomics in research on animal stress [J]. Chinese Journal of Biologicals, 2019, 32 (4): 482 484, 488. (in Chinese)
- [2] DAS R, SAILO L, VERMA N, et al. Impact of heat stress on health and performance of dairy animals; a review [J]. Veterinary World, 2016, 9(3): 260-268.
- [3] ALLAKHVERDIEV S I, KRESLAVSKI V D, KLI-MOV V V, et al. Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis [J]. Photosynthesis Re-

[6]

- search, 2008, 98(1/2/3):541-550.
- [4] DE VRIES A, RISCO C A. Trends and seasonality of reproductive performance in Florida and Georgia dairy herds from 1976 to 2002 [J]. Journal of Dairy Science, 2005, 88(9); 3155–3165.
- [5] SARTORI R, SARTOR-BERGFELT R, MERTENS S A, et al. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter [J]. Journal of Dairy Science, 2002, 35(11):2803-2812.

赵娟娟,冯曼,孙新胜,等.河北省舍饲绵羊的热应激

- 评价及温湿参数与羊生理指标的相关性研究[J]. 畜牧兽医学报,2020,51(6):1342-1353.

 ZHAO J J, FENG M, SUN X S, et al. Evaluation of heat stress of housed sheep and correlation between temperature-humidity parameter and physiological parameter of sheep in *Hebei* province[J]. Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences,2020,51(6): 1342-1353.(in Chinese)
- [7] 孔庆娟,郭丹丹,王铁岗.热应激对奶牛生长、繁殖性能及健康的研究进展[J].中国饲料,2020(8):5-8. KONG Q J,GUO D D,WANG T G, et al. Research progress of heat stress on growth, reproductive performance and health of dairy cows[J]. China Feed, 2020(8):5-8. (in Chinese)
- [8] SILANIKOVE N, KOLUMAN N. Impact of climate change on the dairy industry in temperate zones: predications on the overall negative impact and on the positive role of dairy goats in adaptation to earth warming [J]. Small Ruminant Research, 2015, 123(1):27-34.
- [9] KADOKAWA H, SAKATANI M, HANSEN P J. Perspectives on improvement of reproduction in cattle during heat stress in a future Japan [J]. Animal Science Journal, 2012, 33(6):439-445.
- [10] 彭孝坤,胡建宏,张恩平.热应激对肉牛和肉羊生理生化指标及外周血 miRNA 表达水平的影响[J].家畜生态学报,2018,39(3):1-7.
 - PENG X K, HU J H, ZHANG E P, et al. Effects of heat stress on physiological and biochemical indexes and expression levels of mirna in peripheral blood of beef cattle, sheep and goats [J]. Journal of Domestic Animal Ecology, 2018, 39(3):1–7. (in Chinese)
- [11] MIN L, LI D G, TONG X, et al. Nutritional strategies for alleviating the detrimental effects of heat stress in dairy cows: a review [J]. International Journal of Biometeorology, 2019, 63(9):1283-1302.
- [12] RHOADS R P, BAUMGARD L H, SUAGEE J K, et

- al. Nutritional interventions to alleviate the negative consequences of heat stress [J]. Advances in Nutrition, 2013, 4(3): 267-276.
- [13] 扎木嘎.不同营养水平日粮对母羊繁殖性能影响的研究[D].硕士学位论文.呼和浩特:内蒙古农业大学,2016;17-21.
 - ZHA M G. The study of effects of different nutrition levels diet on the reproductive performance of ewes [D]. Master's Thesis. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2016:17–21. (in Chinese)
- [14] 闫方权.热应激奶牛日粮适宜净能需要量的研究 [D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学,2015:15-16.
 - YAN F Q.Study on dietary optimum net energy level in dairy cows under heat stress [D]. Master's Thesis. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2015:15-16. (in Chinese)
- [15] 陈浩,王纯洁,斯木吉德,等.育成期补饲对放牧牛生长性能、体尺指标及血清抗氧化、生化指标的影响[J].动物营养学报,2020,32(11):5267-5274.

 CHEN H, WANG C J, SI M J D, et al. Effects of supplementary feeding on growth performance, body size indexes and serum antioxidant, biochemical indexes of grazing cows during growing period[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(11):5267-5274. (in Chinese)
- [16] ROSS J W, HALE B J, SEIBERT J T, et al. Molecular mechanisms through which heat stress compromises reproduction in pigs [J]. Journal of Animal Science, 2019,97 (Suppl.2);120.

[17] 罗玉江.北疆部分规模化牛场奶牛 BVD,IBR,BPI

- 和 Brucellosis 的流行病学调查[D].硕士学位论文. 石河子:石河子大学,2015;34-48. LUO Y J.Epidemiological investigation of BVD,IBR, BPI and brucellosis in part of scale dairy farms of the Northern *Xinjiang*[D]. Master's Thesis. Shihezi: Shihezi University,2015;34-48. (in Chinese)
- [18] 唐攀喜.叶黄素-中草药复方合剂对高温环境中蛋鸡生产性能和蛋品质的影响[D].硕士学位论文.湛江:广东海洋大学,2013:67-82.
 TANG P X.Influence of lutein-Chinese herbal mixture on performance and egg quality of Lohmann laying
 - on performance and egg quality of Lohmann laying hen during high environmental temperature [D]. Master's Thesis. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2013:67–82. (in Chinese)
- [19] 宋代军,何钦,姚焰础.热应激对不同泌乳阶段奶牛 生产性能和血清激素浓度的影响[J].动物营养学

Chinese)

报,2013,25(10):2294-2302.

SONG D J, HE Q, YAO Y C. Effects of heat stress on performance and serum hormone concentrations of dairy cows at different lactation stages [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2013, 25 (10): 2294 – 2302. (in Chinese)

- [20] 李朝明.荷斯坦奶牛、娟姗牛和娟荷杂交牛热适应性的研究[D].硕士学位论文.重庆:西南大学,2013:45-62.
 - LI C M. Study on heat tolerance of Jersey, Holstein and Jersey X Holstein dairy cows [D]. Master's Thesis. Chongqing: Southwest University, 2013: 45 62. (in Chinese)
- [21] MANDEL S J, SPENCER C A, HOLLOWELL J G. Are detection and treatment of thyroid insufficiency in pregnancy feasible? [J]. Thyroid, 2005, 15(1):44-53.
- [22] 李妍,李晓蒙,李秋凤,等.不同营养水平日粮对奶公 牛直线育肥性能的影响[J].草业学报,2016,25 (1):273-279.
 - LI Y, LI X M, LI Q F, et al. Nutrition effects on growth of Holstein bulls [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2016, 25(1):273-279. (in Chinese)
- [23] 宋宏立,王清,林英庭.日粮中果寨糖对奶山羊血清 生化指标、抗氧化指标及免疫机能的影响[J].畜牧 与兽医,2019,51(8):41-46. SONG H L,WANG Q,LIN Y T.Effects of fructooli-
 - SONG H L, WANG Q, LIN Y T. Effects of fructooligosaccharide in diet on serum bichemical indices, antioxidant indices and immune function of dairy goat [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2019, 51(8):41–46. (in Chinese)
- [24] 烟玉华,韩秀欣.畜禽生产影响因素之温差[J].养殖与饲料,2014(7):20-21.
 - YAN Y H, HAN X X. Temperature difference of factors affecting livestock production [J]. Animals Breed-

- ing and Feed, 2014(7):20-21. (in Chinese)
- [25] 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
- [26] 石璐璐,王哲奇,徐元庆,等.热应激对绵羊血清免疫和抗氧化指标及相关基因相对表达量的影响[J]. 动物营养学报,2020,32(11):5275-5284.

 SHI L L,WANG Z Q,XU Y Q,et al. Effects of heat stress on serum immune and antioxidative indexes and relative expression of related genes in sheep[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(11):
- [27] JAUNIAUX E, WATSON A L, HEMPSTOCK J, et al. Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress: a possible factor in human early pregnancy failure [J]. The American Journal of Pathology, 2000, 157(6):2111-2122.

5275-5284. (in Chinese)

- [28] MYATT L, CUI X L. Oxidative stress in the placenta [J]. Histochemistry and Cell Biology, 2004, 122(4): 369-382.
- [29] 王玲,罗宗刚,蔡明成,等.热应激对肉牛血清离子、酶活性、抗氧化及免疫指标的影响[J].西南师范大学学报(自然科学版),2017,42(12):37-41.
 - WANG L, LUO Z G, CAI M C, et al. Effect of heat stress on serum ionic concentration, enzymatic activity, antioxidant and immune index in beef cattle [J]. Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition), 2017, 42(12):37-41. (in Chinese)

Effects of Nutritional Regulation on Reproductive Hormone Contents, Immune Function and Antioxidant Ability of Grazing Pregnant Cattle during Chronic Heat Stress Period

WU Sitong¹ Aorigrle^{1*} WANG Chunjie² Simujide¹ CHEN Hao¹ ZHANG Chen¹ CAO Jiaming¹ XU Ping¹ LIU Feihong¹

(1. College of Animal Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China; 2. College of Veterinary Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: The purpose of this experiment was to explore the effects of nutritional regulation on the reproductive hormone contents, immune function and antioxidant capacity of grazing pregnant cattle under chronic heat stress. The experiment selected 18 pregnant cows grazing on natural grassland with continuous high temperature in summer, and randomly divided them into a test group (nutrition regulation) and a control group (only grazing), each with 9 pregnant cows. The control group grazed naturally every day. On this basis, after grazing, the test group was fed 2.5 kg of concentrate every day. The pre-trial period was 10 days and the trial period was 60 days. The daily temperature and humidity index of the grassland were recorded. On days 1, 30 and 60 of the test period, blood was collected from the fasted jugular vein in the morning to determine the contents of reproductive hormones and related indicators of immunity and antioxidants, and to compare the difference in serum indexes between test group and control group and the difference between groups (different time points) within test group and control group. The results showed that the experimental animals were in a heat stress environment with a large daily temperature difference for a long time, and the serum progesterone (PROG) and estradiol (E2) contents in the test group were significantly higher than those in the control group on day 60 of test (P<0.05). Serum prolactin (PRL) and triiodothyronine (T3) contents in the test group were significantly increased (P<0.05). During the experiment period, there was no significant difference in serum follicle-stimulating hormone (FSH) content between groups within test group (P > 0.05). On day 60 of test, serum interleukin-2 (IL-2) and interleukin-4 (IL-4) contents in the test group were significantly higher than those in the control group (P<0.05), and serum immunoglobulin A (IgA), immunoglobulin M (IgM) and immunoglobulin G (IgG) contents in the test group were increased significantly between groups within test group (P< (0.05). There was no significant difference in serum lysozyme (LZ) content between groups (P > 0.05). The serum glutathion peroxidase (GSH-Px) activity and total antioxidant capacity (T-AOC) in the test group were significantly increased (P<0.05), and the GSH-Px activity in the test group was significantly higher than that in the control group (P<0.05). There was no significant difference in serum superoxide dismutase (SOD) activity and MDA content between groups within groups (P>0.05), but the SOD activity in the test group tended to be higher than that in the control group. It can be seen that nutritional supplementation effectively improves the immune function and antioxidant capacity of pregnant cows under grazing conditions, and alleviates the hazards of heat stress to the health of beef cattle, and significantly increases the serum reproductive hormone contents of pregnant cattle, which is beneficial to the reproduction performance of cows. [Chinese Journal of Animal Nutrition, 2021, 33(3):1545-1554

Key words: pregnant cattle; heat stress; reproductive hormones; immune function; antioxidant capacity; nutrition regulation