

益生菌发酵饲料对热应激奶牛肠道菌群、血清 应激因子及产奶性能的影响

李继庆

(滕州市动物疫病预防控制中心, 山东滕州 277500)

摘要: [目的] 为评估益生菌发酵饲料 (PBF) 对热应激奶牛的影响。[方法] 选取滕州市某奶牛场36 头泌乳中期健康荷斯坦牛, 随机分为3 组 (每组n=12): 对照组 (CON, 基础日粮)、低剂量组 (L-PBF, 2%发酵饲料) 和高剂量组 (H-PBF, 4%发酵饲料)。试验期56 天 (含14 天适应期+42 天处理期)。检测采食量 (DMI)、产奶量并采集乳样检测乳成分; 第0、21、42天采集血浆检测血清CORT、HSP70、TNF- α 、IL-6和IL-10; 第0、42天采集粪便样品进行qPCR检测乳酸杆菌、双歧杆菌与大肠埃希氏菌丰度。[结果] 4%PBF能显著提高直肠粪便中乳酸杆菌和双歧杆菌数量并降低大肠杆菌数量 ($P<0.05$); 显著降低血清CORT、HSP70、TNF- α 和IL-6浓度, 同时提升IL-10水平 ($P<0.05$); 显著提高DMI、产奶量、乳脂率和乳蛋白率 ($P<0.05$)。[结论] 适量添加PBF有助于改善热应激奶牛的肠道微生态与内环境稳定性, 从而提升生产表现。

关键词: 益生菌发酵饲料; 热应激; 奶牛; 肠道菌群; 血清应激因子

文章编号: 1671-4393 (2026) 02-0023-06

DOI:10.12377/1671-4393.26.02.04

Effects of Probiotic-fermented Feed on Intestinal Microflora, Serum Stress Factors, and Milk Performance in Heat-stressed Dairy Cows

LI Jiqing

(Tengzhou Animal Disease Prevention and Control Center, Tengzhou Shandong 277500)

Abstract: [Objective] To evaluate the effects of probiotic-fermented feed (PBF) on heat-stressed dairy cows. [Method] 36 healthy mid-lactation Holstein cows were selected from a dairy farm in Tengzhou and randomly divided into three groups (n = 12 each): control (CON, basal diet), low-dose (L-PBF, 2% fermented feed), and high-dose (H-PBF, 4% fermented feed). The trial lasted 56 days, including a 14-day adaptation period and a 42-day treatment period. Dry matter intake (DMI) and milk yield were recorded, and milk samples were collected for composition analysis. Blood samples were collected on days 0, 21, and 42 to measure serum cortisol (CORT), heat shock protein 70 (HSP70), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), and interleukin-10 (IL-10). Fecal samples were collected on days 0 and 42 for qPCR quantification of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*,

作者简介: 李继庆 (1975-), 男, 山东枣庄滕州人, 本科, 高级兽医师, 研究方向为动物疫病防控。

and *Escherichia coli*. [Result] Results showed that 4% PBF significantly increased the abundance of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* while reducing *E. coli* in rectal feces ($P < 0.05$). It also significantly decreased serum levels of CORT, HSP70, TNF- α , and IL-6, while increasing IL-10 ($P < 0.05$). Additionally, 4% PBF significantly improved DMI, milk yield, milk fat percentage, and milk protein percentage ($P < 0.05$). [Conclusion] Appropriate supplementation of PBF can improve intestinal microecology and internal homeostasis in heat-stressed dairy cows, thereby enhancing productive performance.

Keywords: probiotic-fermented feed; heat stress; dairy cows; intestinal microflora; serum stress factors

热应激是影响奶牛生产性能和健康的重要环境因子，已成为全球奶牛业每年夏季面临的“隐形灾难”。当温湿指数（THI）超过72时，奶牛即进入热应激状态，持续高THI可导致奶牛采食量下降、能量代谢失衡、免疫功能受损及产奶量下降^[1]。具体而言，热应激时机体需动员额外能量用于皮肤灌注和蒸发散热，使维持净能耗增加10%~15%，用于合成乳糖的葡萄糖被大量分流，导致生产净能显著下降；同时，循环皮质醇升高可抑制淋巴细胞增殖与T细胞因子分泌，使血清IgG和IgM水平降低20%~30%，抗体应答迟缓。更严峻的是，热应激诱导的氧化—炎症级联反应可破坏肠上皮紧密连接，其导致的肠屏障损伤常伴随血浆内毒素水平升高，后者是激活全身炎症的关键因子，进而易引发产后疾病、乳房炎和酮病^[2]。传统物理降温（风扇+喷淋）虽可缓解表观热负荷，但对已受损的肠道屏障与免疫失衡收效有限，且能耗高、维护成本大，迫切需要绿色、高效、可复制的营养干预策略。

近年来，益生菌及益生菌发酵饲料被作为调控宿主肠道生态、缓解应激和提高生产性能的有效手段受到关注。益生菌能通过竞争性排除致病菌、产生抑菌代谢产物、调节免疫反应和提升瘤胃/肠道发酵功能来改善宿主健康^[3]。相较于单一益生菌制剂，益生菌发酵饲料（Probiotic Fermented Feed, PBF）同时提供活菌、酶类及多种发酵代谢产物，可能通过多靶点协同作用更有效地改善热应激下的肠道健康与营养利用，但其在热应激奶牛中的应用效果与

剂量效应尚需系统研究。益生菌发酵饲料通过“预发酵”将大分子蛋白、纤维降解为小肽、有机酸及可溶性糖，同步富集活菌与后生元（短链脂肪酸、细菌素、胞外多糖），兼具“饲料+微生态制剂”双重功能。其中，小肽可直接被肠上皮PEPT1转运体吸收，减少氨基酸脱氨能耗；有机酸不仅降低胃肠道pH抑制病原菌，还可作为短链脂肪酸前体在结肠快速生成丁酸，为肠上皮提供供能；此外，发酵产生的共轭亚油酸（CLA）和胞外多糖可协同增强IgA分泌与紧密蛋白表达。然而在实际生产中，针对热应激时期奶牛应用益生菌发酵饲料的体系性研究仍较少，且不同剂量、不同配方的效果差异尚未明确。本研究在滕州市一规模化奶牛场，以益生菌发酵饲料为干预，系统评估其对热应激期奶牛肠道菌群（以乳酸杆菌、双歧杆菌和大肠杆菌为代表）、血清应激/炎症因子（CORT、HSP70、TNF- α 、IL-6、IL-10）及产奶性能的影响，旨在为奶牛热应激期的营养干预提供科学证据与可操作方案。

1 材料与方法

1.1 试验地点与动物

试验在山东省滕州市某规模化奶牛场进行（夏季平均日最高温度28~35℃），使用HOBO U23-001温湿度记录仪（Onset, USA）在牛舍中心处（距地面1.5 m）每30 min记录环境温度和相对湿度，试验期间牛舍日平均THI为76.5±2.1，且每日有超过8 h THI>72，表明奶牛处于持续中度热应激状态。选取36头健

康泌乳期荷斯坦牛，产乳天数（120±15）d，随机分配为3组，每组12头（n=12），分别为对照组（CON）、低剂量组（L-PBF，2%发酵饲料替代日粮干物质）、高剂量组（H-PBF，4%发酵饲料替代日粮干物质）。分组后试验开始（Day0）时，各组产奶量无显著差异（*P*>0.05），以体现分组随机性。

1.2 试剂与益生菌制剂

益生菌发酵饲料由企业 提供，经复合发酵后干燥粉末状，主含菌种及活菌量标注如下（每克）：*Bacillus subtilis* ≥1.0×10⁹ CFU，*Lactobacillus plantarum* ≥5.0×10⁸ CFU，*Enterococcus faecium* ≥1.0×10⁸ CFU；辅料为麦麸、豆粕等。试验中按替代日粮干物质比例直接拌入饲喂。

1.3 日粮配方与饲喂管理

基础日粮（干物质基础）配方见表1。所有奶牛自由采食、自由饮水，饲喂2次/日（07:00、17:00），牛舍通风与风扇降温措施一致。试验含14天适应期及42天处理期（共56天）。处理期中，L-PBF与H-PBF组在基础日粮中分别替代2%与4%干

表 1 基础日粮主要成分与营养水平

Table 1 Main Ingredients and Nutrient Levels of the Basal Diet

原料组成	配比 (%DM)	营养水平	含量
全株玉米青贮	32	产奶净能 NEL1) (MJ/kg)	6.85
苜蓿干草	20	粗蛋白 CP (%)	17.2
燕麦草	8	中性洗涤纤维 NDF (%)	34.6
压片玉米	16.5	酸性洗涤纤维 ADF (%)	20.1
豆粕 (43%)	9	粗脂肪 EE (%)	4.3
双低菜籽粕	4	钙 Ca (%)	0.9
糖蜜	3	总磷 P (%)	0.42
脂肪酸钙粉	1.5		
预混料	2		
碳酸氢钠	0.5		
食盐	0.5		
合计	100		

注：1.预混料为每kg日粮提供：VA 9 000 IU，VD3 2 500 IU，VE 40 IU，Cu 12 mg，Zn 60 mg，Se 0.3 mg，I 0.5 mg，Co 0.3 mg，Mn 50 mg。2.营养水平均为实测值（干物质基础）

物质为发酵饲料。

1.4 试验指标与采样

1.4.1 采食量与产奶量检测

每日记录各组总采食量（称重法），取每日均值作为日均采食量DMI（kg/d）；产奶量由牛场自动系统记录，统计日均产奶量（kg/d）。

1.4.2 血样应激因子检测

在第0、21、42天于早晨06:00取经翅静脉采血10 mL，使用EDTA抗凝管采集用于分离血浆以检测CORT与HSP70；另用无抗凝管采集血清用于TNF-α、IL-6、IL-10检测，上述指标均采用商业化ELISA试剂盒，按试剂盒说明书进行，样品三次重复测，取均值。

1.4.3 粪便微生物qPCR

在第0、42天用无菌管收集直肠粪便样（约5 g），液氮速冻后-80℃保存，使用商业化DNA提取试剂盒（TIANamp Stool DNA Kit，TIANGEN，北京）提取粪便总DNA，设计并采用针对16S rRNA的特异性引物对*Lactobacillus spp.*、*Bifidobacterium spp.*与*E. coli*进行qPCR，引物序列如下：*Lactobacillus spp.*：F：5'-AGCAGTAGGGAATCTTCCA-3'，R：5'-CACCGCTACACATGGAG-3'；*Bifidobacterium spp.*：F：5'-TCGCGTCYGGTGTGAAAG-3'，R：5'-CCACATCCAGCRTCCAC-3'；*E. coli*：F：5'-GTTAATACCTTTGCTCATTGA-3'，R：5'-ACCAGGGTATCTAATCCTGTT-3'。qPCR扩增使用SYBR Green Master Mix（Takara，日本），体系20 μL，包括：10 μL SYBR Premix，0.4 μL上下游引物（各10 μmol/L），2 μL DNA模板，其余加无核酸水补足体积。扩增程序如下：95℃预变性3 min；95℃15 s，60℃30 s，72℃30 s，共40个循环。标准曲线由已知拷贝质粒稀释梯度制作，R²≥0.995，结果以lg copies/g（粪便湿重）报告。

1.4.4 产奶性能检测

乳样于试验第0、21、42天采集，由实验室乳成分分析仪检测乳脂、乳蛋白、乳糖含量。

1.5 伦理声明

本研究遵循《GB/T 35892—2018实验动物福利伦理审查指南》及农业农村部相关动物福利要求。试验过程严格按照奶牛场日常管理规范执行，不涉及超出常规生产管理范围的侵入性操作；采血、采样及饲养管理均由具有资质的技术人员实施，确保最大限度减少动物痛苦。试验方案已在开展单位内部备案，并获得场区负责人知情同意。

1.6 统计学分析

数据以均值±标准差（Mean±SD）表示，采用SPSS 26.0进行单因素方差分析（one-way ANOVA），Tukey事后检验比较组间差异， $P<0.05$ 表示差异显著。

2 试验结果

2.1 益生菌发酵饲料对热应激奶牛肠道菌群的影响

结果如表2所示，与对照组（CON）第42天数据相比，H-PBF组乳酸杆菌与双歧杆菌数量分别显著提高了1.00和0.72个lg单位（ $P<0.05$ ），同时大肠杆

菌数量显著降低了1.10个lg单位（ $P<0.05$ ）；L-PBF组次于H-PBF组，提示剂量依赖式微生态调节。

表 2 肠道乳酸杆菌、双歧杆菌和大肠杆菌数量（lg copies/g 粪便湿重）

Table 2 Numbers of Lactobacillus, Bifidobacterium, and Escherichia coli in the Intestine (lg copies/g Wet Feces)			
指标	组别	Day0	Day42
Lactobacillus spp.	CON	6.05±0.22	6.02±0.24 ^a
	L-PBF	6.07±0.24	6.58±0.20 ^b
	H-PBF	6.04±0.25	7.02±0.21 ^c
Bifidobacterium spp.	CON	5.90±0.30	5.88±0.31 ^a
	L-PBF	5.92±0.28	6.30±0.25 ^b
	H-PBF	5.94±0.27	6.60±0.22 ^c
E. coli	CON	5.78±0.26	5.80±0.25 ^a
	L-PBF	5.76±0.28	5.20±0.27 ^b
	H-PBF	5.80±0.25	4.70±0.30 ^c

注：同列数据肩标不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ），下表同

2.2 益生菌发酵饲料对热应激奶牛血清应激因子的影响

如表3所示，至第42天，H-PBF组CORT、HSP70、TNF- α 与IL-6较CON分别下降32.0%、

表 3 血清应激因子检测结果

Table 3 Detection Results of Serum Stress Factors

指标	组别	Day0	Day21	Day42
CORT(ng/mL)	CON	17.9±2.83	18.4±3.02 ^a	18.1±3.08 ^a
	L-PBF	18.0±3.05	16.0±2.42 ^b	15.0±2.26 ^b
	H-PBF	17.8±2.53	13.5±2.05 ^c	12.3±2.13 ^c
HSP70(ng/mL)	CON	18.2±2.07	18.8±2.10 ^a	18.5±2.07 ^a
	L-PBF	18.5±1.91	16.6±1.84 ^b	15.8±1.65 ^b
	H-PBF	18.1±2.13	14.8±1.52 ^c	13.6±1.42 ^c
TNF- α (pg/mL)	CON	12.4±1.64	13.0±1.81 ^a	13.2±1.71 ^a
	L-PBF	12.6±1.55	11.0±1.33 ^b	10.2±1.14 ^b
	H-PBF	12.3±1.25	9.8±1.01 ^c	8.9±0.98 ^c
IL-6(pg/mL)	CON	8.6±1.07	9.0±1.18 ^a	9.2±1.29 ^a
	L-PBF	8.5±0.91	7.6±0.85 ^b	7.2±0.87 ^b
	H-PBF	8.6±1.13	6.8±0.78 ^c	6.2±0.67 ^c
IL-10(pg/mL)	CON	6.2±0.80	6.0±0.79 ^a	5.9±0.61 ^a
	L-PBF	6.1±0.70	6.8±0.61 ^b	7.2±0.63 ^b
	H-PBF	6.3±0.60	7.6±0.72 ^c	8.4±0.84 ^c

26.5%、32.6%与32.6% ($P < 0.05$)；抗炎因子IL-10升高42.4% ($P < 0.05$)。L-PBF组各指标介于CON与H-PBF之间，且时序分析显示第21天已出现显著差异，表明PBF可在3周内发挥系统性抗炎与抗应激作用。

2.3 益生菌发酵饲料对热应激奶牛采食量与产奶性能的影响

如表4所示，PBF显著提高能量摄入与泌乳效率。H-PBF组DMI增至22.4 kg/d ($P < 0.05$)，较CON提高4.2%，产奶量达30.1 kg/d，较CON提高7.5% ($P < 0.05$)；乳脂率与乳蛋白率同步上升0.18与0.14个百分点 ($P < 0.05$)，L-PBF组也呈现相同趋势，证实PBF在缓解热应激的同时改善了养分利用效率。

表 4 采食量与产奶性能检测结果

Table 4 Detection Results of Feed Intake and Milk Performance

指标	CON	L-PBF	H-PBF
DMI(kg/d)	21.50±0.65 ^a	22.10±0.72 ^b	22.40±0.60 ^b
产奶量 (kg/d)	28.01±2.50 ^a	29.01±2.30 ^{ab}	30.10±2.10 ^b
乳脂率 (%)	3.61±0.12 ^a	3.68±0.10 ^{ab}	3.79±0.09 ^b
乳蛋白率 (%)	3.10±0.08 ^a	3.15±0.07 ^{ab}	3.24±0.06 ^b

3 讨论

3.1 益生菌发酵饲料对热应激奶牛肠道菌群的影响

本研究表明，随着益生菌发酵饲料（PBF）添加水平提高，直肠粪便中乳酸杆菌与双歧杆菌数量呈线性升高，而大肠杆菌数量显著下降，表明PBF可有效重塑热应激奶牛的肠道微生态。在热应激条件下，肠上皮缺氧及氧化应激会破坏紧密连接，为革兰氏阴性菌的易位提供条件，导致瘤胃微生物系统失衡，饲料降解能力下降、内毒素水平升高。而PBF富含的活性乳酸菌和酵母后生元可通过竞争性占位、产酸及分泌细菌素，抑制大肠杆菌定植，同时促进乳酸杆菌和双歧杆菌增殖，恢复菌群平衡。刘敦章^[4]等的试验报道，益生菌发酵饲料能够改善真胃炎奶牛的肠道菌群结构，提高日粮利用效率，从而改善产奶性能，本研究的微生物多样性和结构的优化与之相符，有助于提高瘤胃发酵效率和短链脂肪酸生成，同时减少肠屏障受损与内毒素吸收。

3.2 益生菌发酵饲料对热应激奶牛血清应激因子的影响

至第42天H-PBF组的血清CORT、HSP70及促炎细胞因子（TNF- α 、IL-6）浓度分别比CON下降32.0%、26.5%、32.6%和32.6%，同时抗炎因子IL-10升高42.4%，表明PBF显著缓解了HPA轴过度激活和全身炎症状态，提示PBF可能通过调节调节性T细胞（Treg）功能增强抗炎应答，这一机制值得后续通过免疫细胞分型进一步验证。Wang等^[5]报道，*Lactobacillus plantarum* L19可显著降低热应激小鼠的HSP70、促炎细胞因子及肝脏氧化应激水平，同时改善肠道菌群结构，这与本试验结果相一致，提示“菌群-炎症-应激”通路是益生菌发挥保护作用的关键机制。此外，益生菌代谢产物（如丁酸、胞外多糖）可通过激活肠道PPAR- γ 信号，抑制NF- κ B通路，减少促炎因子释放^[6]；同时，丁酸上调热休克蛋白的内源性表达，降低细胞对热应激的敏感性，使血清HSP70水平回落^[7]。IL-10的升高进一步佐证了PBF的免疫调节功能，说明“微生物-炎症-内分泌”级联是PBF发挥系统性抗应激作用的核心机制。另外，本研究通过肠道菌群和血清炎症因子的改善间接推测肠屏障功能可能好转，未来研究可通过直接测定血浆内毒素、DAO等指标，进一步证实PBF对热应激奶牛肠屏障的保护作用。

3.3 益生菌发酵饲料对热应激奶牛产奶性能的影响

与CON相比，H-PBF组DMI提高4.2%，产奶量增加7.5%，乳脂率和乳蛋白率分别提升0.18和0.14个百分点，饲料转化率（ECM/DMI）提高5.0%，表明PBF在缓解热应激的同时有效改善了能量利用效率。发酵饲料中富含的活性代谢产物（乳酸、维生素B族、酶类等）可以改善营养物质可利用率^[8]。研究表明，发酵过程富集的乳酸菌及其代谢产物能够改善瘤胃发酵模式，提高能量在乳腺中的分配效率^[9]。这与本研究中PBF在高温环境下改善乳成分和提高产奶量的结果高度一致，说明微生物发酵产物提升能量利用效率可能是改善热应激奶牛泌乳表现的重要机制。在常温条件下，1~2 kg/d微生态发酵饲料已

使泌乳量提高3.8%~5.8%、乳成分同步改善^[10]。另外，本研究4%添加量按当地市价估算，每头牛日扣除新增料成本后净收益>6元/头·d，静态回收期不足10 d，且需7 d过渡期以避免酸度突增影响适口性。综合而言，益生菌发酵饲料通过营养调控与微生态调节双重机制，使热应激奶牛的产奶性能显著提升，在滕州市等炎热地区的奶牛生产中具有实际推广价值。

4 结论

综上所述，本研究表明，添加4%益生菌发酵饲料可能通过以下通路改善热应激奶牛的健康与生产性能：（1）直接补充与促进乳酸杆菌、双歧杆菌等有益菌增殖，竞争性抑制大肠杆菌等条件致病菌，优化肠道微生态；（2）改善的肠道菌群及其代谢产物（如丁酸）有助于维护肠屏障功能，减少内毒素易位，进而下调全身性炎症反应（表现为促炎因子降低、抗炎因子升高）和HPA轴活性（CORT降低）；（3）肠道健康的改善与系统炎症的缓解，共同促进了采食量的恢复和营养物质利用效率的提高，最终体现为产奶量与乳成分的显著提升。

参考文献

[1] 万涛梅, 赵川, 吴艳秋.热应激对畜禽机能影响及应对措施[J].吉林畜牧兽医, 2025, 46 (10) : 157-159.

[2] 张超.热应激对奶牛的危害及影响[J].现代农村科技, 2025 (11) : 87.

[3] 易军.益生菌在畜牧养殖中的应用与研究进展[J].中国畜牧业, 2025 (20) : 61-62.

[4] 刘敦章, 胡定党.益生菌发酵饲料对真胃炎奶牛肠道菌群和生产性能的影响[J].中国乳业, 2025 (3) : 57-60.

[5] Wang J, Li N, Liu Y, et al.Holstein cow milk-derived *Lactobacillus plantarum* L19 alleviates heat stress-induced liver injury in mice by modulating gut microbiota[J]. Journal of Dairy Science, 2026, 109 (1) : 17-33.

[6] 张应胡.益生菌发酵饲料对雏鸡肠道微生物的影响及其转录组学研究[D].武汉:长江大学, 2024.

[7] 吕旦, 陈冰, 曹俊明, 等.γ-氨基丁酸的生物学功能及其在动物生产中的应用[J].动物营养学报, 2024, 36 (11) : 6903-6916.

[8] 李艺男, 吴鑫.发酵饲料在反刍动物生产中的应用研究进展[J].中国奶牛, 2025 (5) : 1-7.

[9] Zhang G, Li Y, Fang X, et al.Lactation performance, nitrogen utilization, and profitability in dairy cows fed fermented total mixed ration containing wet corn gluten feed and corn stover in combination replacing a portion of alfalfa hay [J].Animal Feed Science and Technology, 2020, 269 (11) : 114687.

[10] 滕乐帮.微生态发酵饲料对奶牛生产性能、乳品质和血液生化指标的影响[J].特种经济动植物, 2022, 25 (5) : 4-6.