

DOI: 10.11686/cyxb2018349

<http://cyxb.magtech.com.cn>

李小铃, 关皓, 帅杨, 等. 单一和复合乳酸菌添加剂对扁穗牛鞭草青贮品质的影响. 草业学报, 2019, 28(6): 119—127.

Li X L, Guan H, Shuai Y, *et al.* Effects of single and multiple inoculants on *Hemarthria compressa* silage quality. Acta Prataculturae Sinica, 2019, 28(6): 119—127.

单一和复合乳酸菌添加剂对扁穗牛鞭草青贮品质的影响

李小铃^{**}, 关皓^{**}, 帅杨, 李小梅, 彭安琪, 李昌华, 蒲棋, 闫艳红^{*}, 张新全

(四川农业大学动物科技学院, 四川 温江 611130)

摘要: 利用实验室前期筛出的 3 株耐高温乳酸菌作为添加剂, 探究单一和复合乳酸菌添加剂对高温高湿地区扁穗牛鞭草青贮品质的影响, 进一步筛选出最佳的乳酸菌添加配比。试验设 8 个处理, 分别为: 1) 戊糖片球菌(PP04); 2) 食蜜魏斯氏菌(WC10); 3) 植物乳杆菌(LP694); 4) M-1(PP04 : WC10 = 2 : 1); 5) M-2(PP04 : LP694 = 1 : 2); 6) M-3(WC10 : LP694 = 2 : 1); 7) M-4(PP04 : WC10 : LP694 = 2 : 1 : 1); 8) CK(对照, 无乳酸菌添加)。青贮 60 d 后, 测定其发酵品质、营养成分及微生物组成, 结果表明: 1) 处理组的 $\text{NH}_3\text{-N/TN}$ 显著低于对照组 ($P < 0.05$); 2) 处理组的乳酸、干物质含量和干物质回收率都显著高于对照组 ($P < 0.05$); 3) 处理组的 pH 值都小于 4.2, 其中, M-4 处理组的 pH 值最低, 为 3.86; 4) M-4 处理组的微生物菌群组成和感官品质优于其他处理, 乳酸含量最高, $\text{NH}_3\text{-N/TN}$ 最低。因此, 在扁穗牛鞭草青贮中添加单一或者复合乳酸菌均有利于调制出优质的扁穗牛鞭草青贮饲料, 3 种乳酸菌复合添加的 M-4 处理组改善青贮饲料的青贮品质的效果最佳, 在生产实践中具有推广利用的潜质。

关键词: 青贮; 乳酸菌添加剂; 扁穗牛鞭草; 发酵品质; 营养成分

Effects of single and multiple inoculants on *Hemarthria compressa* silage quality

LI Xiao-ling^{**}, GUAN Hao^{**}, SHUAI Yang, LI Xiao-mei, PENG An-qi, LI Chang-hua, PU Qi, YAN Yan-hong^{*}, ZHANG Xin-quan

Department of Grassland Science, College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Wenjiang 611130, China

Abstract: In order to improve the silage quality of *Hemarthria compressa* in hot and humid areas, three selected lactic acid bacteria strains [*Pediococcus pentosaceus* (PP04), *Weissella cibaria* (WC10) and *Lactobacillus plantarum* (LP694)] were used as single or multiple additives during *H. compressa* silage preparation. The treatments tested were as follows: 1) PP04 (*Pediococcus pentosaceus*); 2) WC10 (*Weissella cibaria*); 3) LP694 (*Lactobacillus plantarum*); 4) M-1 [PP04 (*Pediococcus pentosaceus*) : WC10 (*Weissella cibaria*) = 2 : 1]; 5) M-2 [PP04 (*Pediococcus pentosaceus*) : LP694 (*Lactobacillus plantarum*) = 1 : 2]; 6) M-3 [WC10 (*Weissella cibaria*) : LP694 (*Lactobacillus plantarum*) = 2 : 1]; 7) M-4 [PP04 (*Pediococcus pentosaceus*) : WC10 (*Weissella cibaria*) : LP694 (*Lactobacillus plantarum*) = 2 : 1 : 1]; 8) CK (uninoculated control). The ratio of $\text{NH}_3\text{-N/TN}$ in the inoculant treated groups was significantly lower than in the control group ($P < 0.05$), while lactic acid bacteria (LAB) treated silages had higher lactic acid content, dry matter content and

收稿日期: 2018-05-28; 改回日期: 2018-10-25

基金项目: 四川省科技厅应用基础重点项目(2016JY0031)和国家自然科学基金面上项目(31271668)资助。

作者简介: 李小铃(1995-), 女, 重庆潼南人, 在读硕士。E-mail: 1320321885@qq.com; 关皓(1991-), 女, 四川成都人, 在读博士。E-mail: guan0427@foxmail.com。* * 共同第一作者 These authors contributed equally to this work.

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: yanyanhong3588284@126.com

recovery of dry matter than the uninoculated control ($P < 0.05$). The pH value of all treated groups was less than 4.2, and the lowest pH value (3.86) was observed in the M-4 treatment formulation. Furthermore, the M-4 treatment group had the highest lactic acid content and lowest $\text{NH}_3\text{-N}/\text{TN}$ ratio ($P < 0.05$). Generally, inoculation with one or multiple strains of lactic acid bacteria was beneficial and enhanced the quality of *H. compressa* silage. The optimal formulation among those tested, for preparing *H. compressa* silage, was M-4 (PP04 : WC10 : LP694 = 2 : 1 : 1).

Key words: silage; inoculants; *Hemarthria compressa*; fermentation quality; nutritional components

‘雅安’扁穗牛鞭草(*Hemarthria compressa* cv. Ya'an)为禾本科多年生优质牧草,鲜干草产量高,品质优良,再生力与适应性强,南方地区种植面积较大,牛、羊、兔、鱼等均喜食,刈割放牧皆可,应用范围广^[1]。扁穗牛鞭草在夏季生长旺盛,鲜草往往过剩,由于南方地区夏季往往多雨潮湿,干草调制不易成功,而青贮受气候因素影响小,其不仅可以保留牧草的营养成分,还能提高适口性和利用率,是解决饲草生产季节性不平衡的有效手段^[2]。传统的青贮发酵方法由于营养损失高和饲喂价值低等问题使得优质青贮饲草料的供应日趋紧张,不能满足我国草食家畜业快速发展的需求^[3]。因此,多元化地开发适口性高,营养丰富的优质青贮饲草料,对于缓解冬季饲草短缺,优质青贮饲草料缺乏等问题具有重要意义。

有研究表明,饲草表面附着有害微生物的种类和数量远远大于乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB),如让其自然发酵,青贮效果往往不理想^[4]。乳酸菌添加剂的使用是现在国际上主流的一种调制青贮的方法,添加乳酸菌能促进牧草良好的发酵且青贮中的乳酸菌种类与最终发酵品质存在一定关联^[5-6]。但并非所有的商业乳酸菌添加剂都适用于任何一种情况下的青贮。Ando 等^[7]表明,通过实验筛选出的鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus* NGRI 0110)相比于商业植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)能更加有效地提高羊草(*Leymus chinensis*)青贮品质。而另一项研究发现,尽管由植物乳杆菌和屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)组成的商业乳酸菌添加剂和由植物乳杆菌、深红沙雷氏菌(*Serratia rubidaea*)、戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*)以及枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)组成的商业乳酸菌添加剂均能改善全株高粱(*Sorghum bicolor*)青贮发酵,但2种添加剂对高粱青贮有氧稳定性的影响是不同的^[8]。因此,筛选适合用于特定地区或材料青贮的乳酸菌成了目前研究的热点。Avila 等^[9]将从甘蔗(*Saccharum officinarum*)青贮中筛选出的植物乳杆菌、副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*)、短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*)和布氏乳杆菌(*Lactobacillus buchneri*)添加到甘蔗中评价其青贮效果,最终发现它们都提高了甘蔗青贮中乳酸菌的数量并减少了乙醇的产生。Zhang 等^[10]将从羊草青贮中筛选出的植物乳杆菌(*L. plantarum* NG2)添加到羊草中检验其效果,结果表明,它可以增加乳酸的含量并降低 pH 值、丁酸、氨态氮以及酵母菌和霉菌的数量,从而提高羊草发酵品质。

此外,不同乳酸菌具有不同的功能。当不同类型乳酸菌按照一定比例复配在一起时,其协同作用也各不相同。在 Filya^[11]的研究中,单独添加布氏乳杆菌或将其与植物乳杆菌结合,均改善了低干物质含量条件下玉米(*Zea mays*)和高粱青贮的有氧稳定性,但相比于单一布氏乳杆菌,复配组合还能降低氨态氮含量和发酵损失。而 Arriola 等^[12]的研究表明,单独添加 4×10^5 CFU \cdot g⁻¹ 布氏乳杆菌 40788(*L. buchneri* 40788)比添加 1×10^5 CFU \cdot g⁻¹ 的戊糖片球菌 12455(*P. pentosaceus* 12455)和 4×10^5 CFU \cdot g⁻¹ 的布氏乳杆菌 40788(*L. buchneri* 40788)的复合菌剂更能提高玉米青贮品质。Cai 等^[13]的研究也表明, 7×10^4 CFU \cdot g⁻¹ 的副干酪乳杆菌(*L. paracasei*)和 3×10^4 CFU \cdot g⁻¹ 乳酸链球菌(*Streptococcus lactis*)复合添加剂的作用效果不如单独添加 1×10^5 CFU \cdot g⁻¹ 的副干酪乳杆菌(*L. paracasei*)。这表明单一和复合乳酸菌添加剂的作用效果尚无明确判定,且不同乳酸菌种类及复配比例下的复合乳酸菌添加剂作用与效果也不同。

因此,本试验研究由实验室前期筛选出的3株耐高温乳酸菌“戊糖片球菌(*P. pentosaceus*, PP04)”“食蜜魏斯氏菌(*Weissella cibaria*, WC10)”和“植物乳杆菌(*L. plantarum*, LP694)”组成的单一和复合乳酸菌添加剂对‘雅安’扁穗牛鞭草青贮的影响,筛选出最适合牛鞭草青贮的乳酸菌添加剂,为南方高温高湿地区调制优质牛鞭草青贮饲料提供理论依据与技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

青贮原料为四川农业大学崇州基地(N 30°33', E 103°38')种植的‘雅安’扁穗牛鞭草。戊糖片球菌、食窦卫斯氏菌和植物乳杆菌为实验室从中国西南高温高湿地区青贮中筛选得到。所述戊糖片球菌保藏编号为 CGMCC No. 15074;食窦魏斯氏菌保藏编号为 CGMCC No. 15075;植物乳杆菌保藏编号为 CGMCC No. 15073,均保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 试验采用单因素设计,8 个处理,分别为:1)PP04;2)WC10;3)LP694;4)M-1(PP04 : WC10=2 : 1);5)M-2(PP04 : LP694=1 : 2);6)M-3(WC10 : LP694=2 : 1);7)M-4(PP04 : WC10 : LP694=2 : 1 : 1);8)CK(对照,无乳酸菌添加)。于 2017 年 8 月 20 日‘雅安’扁穗牛鞭草拔节期时刈割,将其切割成 2~3 cm,在阴凉处凋萎至干物质含量为 30%时再进行上述处理。用灭菌蒸馏水将每种乳酸菌添加剂稀释至 1.0×10^6 CFU · g⁻¹ FW(CFU, colony-forming units; FW, fresh weight),并用喷壶分别喷洒在原料上,混合均匀,以等体积无菌蒸馏水作为对照。每种处理重复 3 次,每个重复 300 g。将混合后的样品装入尼龙—聚乙烯袋(25 cm×35 cm;奥居德,中国),并用真空密封器(Evox-30, Orved, 意大利)抽真空密封,在室温(15~30 °C)中发酵 60 d。

1.2.2 青贮发酵品质及营养成分分析 开袋后,先利用德国农业协会(Deutsche Landwirtschafts Gesellschaft, DLG)方法^[14]评估不同处理下扁穗牛鞭草青贮饲料的感官品质。每种处理取 20 g 样品加入 180 mL 蒸馏水在小型榨汁机中搅拌 1 min,然后用 8 层纱布过滤,滤液用于测定各处理的 pH 值、乳酸含量、乙酸含量、丙酸含量、丁酸和氨态氮含量。将杀青后的新鲜原料和青贮饲料放到 60 °C 的烘箱中干燥 72 h,测定其干物质含量,通过计算青贮后与青贮前干物质含量的比值来确定干物质回收率。用研磨机粉碎青贮前后样品,过 0.425 mm 筛,用于测定粗蛋白(crude protein, CP)、可溶性碳水化合物(water soluble carbohydrates, WSC)、中性洗涤纤维(neutral detergent fiber, NDF)和酸性洗涤纤维(acid detergent fiber, ADF),而相对饲用价值由公式 $[(88.9 - 0.779 \times ADF) \times (120/NDF)]/1.29$ 计算所得。

有机酸采用安捷伦-1260 高效液相色谱仪(HPLC)(Shimadzu Co. Ltd., Kyoto, Japan)分析,检测器为 SPD-10A VP,波长为 210 nm。NH₃-N 含量依据 Broderick 等^[15]的方法分析。粗蛋白和可溶性碳水化合物分别用凯氏定氮法和硫酸蒽酮比色法测定^[16],聚酯滤袋法测定中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维^[17]。

1.2.3 微生物种群数量测定 青贮前后扁穗牛鞭草上微生物数量通过以下方法测定:称取 20 g 样品于 180 mL 无菌生理盐水(0.85% NaCl)中完全浸没,并在 4 °C 下振荡 1 h。用该溶液制备系列梯度稀释液($10^0 \sim 10^{-7}$),并涂布于 MRS 琼脂培养基(Difco, 陆桥, 中国北京, 主要成分为蛋白胨、牛肉粉、酵母粉和葡萄糖等),于 37 °C 下厌氧(用封口膜密封培养皿)培养 48 h 后统计乳酸菌的菌落数。在马铃薯葡萄糖琼脂培养基(Difco, 陆桥, 中国北京, 主要成分为马铃薯浸粉、葡萄糖和琼脂)上涂布稀释液,于 25 °C 下有氧培养 4 d,用于酵母和霉菌计数。在结晶紫中性红胆盐琼脂培养基(Difco, 陆桥, 中国北京, 主要成分为蛋白胨、乳糖、酵母粉和氯化钠等)上涂布稀释液,于 37 °C 下有氧培养 24 h,用于肠杆菌计数。

1.3 数据统计分析

用 Excel 表格和 SPSS 19 软件对试验数据进行方差分析和多重比较,试验结果以 $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 青贮前‘雅安’扁穗牛鞭草的营养成分

青贮前‘雅安’扁穗牛鞭草营养成分如表 1 所示,干物质、粗蛋白、可溶性碳水化合物、中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维分别为 30.47% FW、13.26% DM、7.02% DM、62.68% DM 和 28.91% DM。

2.2 扁穗牛鞭草青贮前后的微生物计数

由表 2 可知,扁穗牛鞭草青贮后各处理的乳酸菌数量显著高于青贮前($P < 0.05$)。青贮前扁穗牛鞭草原料中乳酸菌数量最少,仅为 $2.23 \log_{10}$ CFU · g⁻¹;青贮后,PP04、LP694、M-1 和 M-4 处理组乳酸菌数量显著高于其

他处理组($P<0.05$),最高的乳酸菌数量出现在 LP694 处理组中,为 $6.48 \log_{10} \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 。此外,PP04、M-2、M-3 和 M-4 处理组没有检测到酵母菌,而对照组在青贮后酵母菌数量反而多于青贮前。肠杆菌只有在青贮前有检测到,青贮后各处理均无肠杆菌,且青贮前后都无霉菌。综上,青贮后,M-4 处理组无酵母菌、肠杆菌和霉菌,乳酸菌数量较多,其微生物菌群最优。

表 1 青贮前‘雅安’扁穗牛鞭草营养成分

Table 1 Nutritional components of *H. compressa* cv. Ya'an before ensiling

青贮材料	干物质	粗蛋白	可溶性碳水化合物	中性洗涤纤维	酸性洗涤纤维
Silage material	Dry matter	Crude protein	Water soluble carbohydrate	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber
	(% FW)	(% DM)	(% DM)	(% DM)	(% DM)
‘雅安’扁穗牛鞭草 <i>H. compressa</i> cv. Ya'an	30.47	13.26	7.02	62.68	28.91

注: % FW 和 % DM 分别代表各指标占鲜重和干物质的百分比。下同。
Note: % FW and % DM respectively represent the percentage of fresh weight and dry matter. The same below.

2.3 不同乳酸菌添加剂处理对扁穗牛鞭草感官品质的影响

由表 3 可知,添加了乳酸菌的牛鞭草青贮饲料无丁酸臭味或微弱丁酸臭味,茎叶结构保持较好,感官品质等级都高于没有添加乳酸菌的对照处理。单个乳酸菌的处理组中,LP694 处理组为 1 级优良,其感官品质优于 PP04 和 WC10 处理组。M-2、M-3 和 M-4 处理组为 1 级优良,M-1 为 2 级尚好,即 2 或 3 种乳酸菌混合添加的处理组的感官品质等级高于单个乳酸菌添加和无乳酸菌添加的对照组。

2.4 不同乳酸菌添加剂处理对扁穗牛鞭草发酵品质影响

由表 4 可知,添加乳酸菌处理组的发酵品质显著优于对照组($P<0.05$)。处理组的 pH 值均低于 4.2,其中,M-4 处理组的 pH 值最低,为 3.86;而对照组的 pH 值显著高于处理组($P<0.05$),为 4.79。处理组的 $\text{NH}_3\text{-N/TN}$ 百分比显著低于对照组($P<0.05$),而添加乳酸菌的不同处理组间的 $\text{NH}_3\text{-N/TN}$ 百分比没有显著差异($P>0.05$)。其中,M-4 处理组的乳酸含量最高,为 $72.32 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DM}$;对照组的乳酸含量最低($P<0.05$),为 $16.45 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DM}$ 。处理组的乙酸和丁酸都低于对照组,此外,在本研究中没有检测到丙酸。单独添加乳酸菌或者混合添加的不同处理间乙酸含量无显著差异($P>0.05$),其中单独添加的 WC10 处理组乙酸含量最高,为 $1.39 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DM}$,但均低于对照组乙酸含量。此外,LP694 和复合添加乳酸菌处理组丁酸含量显著低于其他处理组和对照组($P<0.05$),均未超过 $7 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DM}$,其中,M-2 处理的丁酸含量最低,为 $4.65 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DM}$ 。

2.5 不同乳酸菌添加剂处理对扁穗牛鞭草营养成分的影响

由表 5 可知,青贮后添加乳酸菌处理组的营养品质高于没有添加乳酸菌的对照组。青贮后,各处理间干物质

表 2 扁穗牛鞭草青贮前后的微生物计数

Table 2 The microbial counts of *H. compressa* before and after ensiling ($\log_{10} \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$)

时期	处理	乳酸菌	酵母菌	肠杆菌	霉菌
Period	Treatment	Lactic acid bacteria	Yeast	Coliform bacteria	Mold
青贮前 Before ensiling	—	2.23c	4.96	4.90	ND
青贮后 After ensiling	对照 CK	5.24b	5.10	ND	ND
	PP04	6.11a	ND	ND	ND
	WC10	5.12b	1.40	ND	ND
	LP694	6.48a	3.04	ND	ND
	M-1	6.27a	4.41	ND	ND
	M-2	5.22b	ND	ND	ND
	M-3	5.00b	ND	ND	ND
	M-4	6.41a	ND	ND	ND

注: $\log_{10} \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 代表以 10 为底的对数值表示每 g 样品中微生物群落的总数;ND 代表没有检测出。同列不同字母表示在 5% 水平上差异显著。下同。
Note: $\log_{10} \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ represents the total number of microbial communities per gram of sample in common logarithm values; ND stands for no detected. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at the 0.05 level. The same below.

含量差异较小,最低的干物质含量出现在对照组中,为 28.18%。就干物质回收率而言,处理组显著高于对照组($P<0.05$)。青贮后各处理组的粗蛋白含量较青贮前变化较小,同样,各处理组间粗蛋白含量差异也较小,其中,PP04 处理组的粗蛋白含量最低($P<0.05$),也略低于青贮前扁穗牛鞭草原料的粗蛋白含量。青贮后,各处理组可溶性碳水化合物含量较青贮前(7.02% DM)均降低,最低的可溶性碳水化合物含量出现在 PP04 和 WC10 处理组,为 3.76% DM。各处理组间的中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量无显著差异($P>0.05$),处理组青贮后的相对饲用价值高于对照组。

表 3 不同添加剂处理对扁穗牛鞭草感官品质的影响

Table 3 Effects of different additive treatments on the sensory quality of *H. compressa*

处理 Treatment	感官品质 Sensory quality				
	气味	结构	色泽	总分	等级
	Odor	Structure	Color	Total score	Level
对照 CK	7	2	1	10	3 级中等 Medium
PP04	10	2	1	13	2 级尚好 Acceptable
WC10	11	4	1	16	2 级尚好 Acceptable
LP694	13	4	1	18	1 级优良 Excellent
M-1	9	3	1	13	2 级尚好 Acceptable
M-2	14	4	1	19	1 级优良 Excellent
M-3	14	4	1	19	1 级优良 Excellent
M-4	14	3	1	18	1 级优良 Excellent

表 4 不同添加剂处理对扁穗牛鞭草发酵品质的影响

Table 4 Effects of different additive treatments on the fermentation quality of *H. compressa*

处理 Treatment	pH 值 pH value	NH ₃ -N/TN Ammonia nitrogen/ total nitrogen (%)	乳酸 Lactic acid (mg · g ⁻¹ DM)	乙酸 Acetic acid (mg · g ⁻¹ DM)	丙酸 Propionic acid (mg · g ⁻¹ DM)	丁酸 Butyric acid (mg · g ⁻¹ DM)
对照 CK	4.79a	2.45a	16.45c	1.62a	ND	46.56a
PP04	3.98bcd	1.49b	50.65ab	0.86ab	ND	19.20bc
WC10	3.90cd	0.93b	40.61b	1.39ab	ND	33.04ab
LP694	4.06b	1.08b	65.21ab	0.85ab	ND	6.02c
M-1	4.01bc	1.24b	43.89ab	0.86ab	ND	5.65c
M-2	4.05b	1.02b	43.97ab	0.84ab	ND	4.65c
M-3	4.02bc	0.73b	38.87b	0.73b	ND	5.40c
M-4	3.86d	0.89b	72.32a	1.11ab	ND	6.78c

注: NH₃-N/TN 代表氨态氮占总氮的百分比,DM 表示干物质,ND 表示没有检测出。
Note: NH₃-N/TN represents the percentage of ammonia nitrogen in total nitrogen, DM stands for dry matter, ND stands for no detected.

表 5 不同添加剂处理对扁穗牛鞭草营养成分的影响

Table 5 Effects of different additive treatments on the nutritional components of *H. compressa*

处理 Treatment	干物质 Dry matter (%)	干物质回收率 Dry matter recovery rate (%)	粗蛋白 Crude protein (% DM)	可溶性碳水化合物 Water soluble carbohydrate (% DM)	中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber (% DM)	酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber (% DM)	相对饲用价值 Relative feed value (%)
对照 CK	28.18b	88.87d	13.30abc	4.42ab	67.35a	31.86a	88.51
PP04	29.17ab	92.43c	12.88c	3.76c	64.59a	31.02a	93.23
WC10	29.52a	94.99abc	13.34ab	3.76c	65.09a	31.35a	92.15
LP694	29.89a	95.44ab	13.51a	4.71a	65.23a	33.28a	89.81
M-1	29.04ab	93.50bc	13.03bc	4.14abc	66.48a	32.28a	89.21
M-2	29.30ab	95.95ab	13.44ab	4.15abc	63.76a	29.99a	95.62
M-3	28.81ab	96.74a	13.22abc	3.91bc	64.94a	31.44a	92.26
M-4	29.29ab	94.76abc	13.28abc	4.05bc	67.46a	31.70a	88.54

3 讨论

3.1 乳酸菌添加剂对扁穗牛鞭草青贮前后微生物数量和感官品质的影响

牧草表面自然附着的乳酸菌数量会影响青贮料最终的发酵品质。当牧草表面附着的乳酸菌数量过低时,乳酸菌将无法形成优势菌群,最终导致青贮饲料发酵品质和营养价值降低^[18]。通过添加乳酸菌可使得牧草青贮时乳酸菌的数量增加,利于加快青贮发酵进程,抑制有害菌的生长,减少养分损耗,从而得到优质的牧草青贮饲料^[19]。本研究中,青贮前原料中乳酸菌数量很少,仅为 $2.23 \log_{10} \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$;青贮后,PP04、LP694、M-1 和 M-4 乳酸菌数量显著增加,最高的乳酸菌数量出现在 LP694 处理组中,为 $6.48 \log_{10} \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$,这表明添加的乳酸菌在青贮中大量繁殖,但不同类型,不同配比乳酸菌在牛鞭草青贮中增殖程度不一致,一般同型发酵乳酸菌在青贮中繁殖程度高于异型发酵乳酸菌^[11],此外,M-4 处理组中没有检测到酵母菌、肠杆菌和霉菌,乳酸菌的数量也高于对照组,参照 McDonald 等^[20]优质青贮的标准,M-4 组微生物组成最符合优质青贮的标准。该结果与 M-4 处理组的感官品质等级高于单一乳酸菌添加处理组和无乳酸菌添加的对照组相呼应。

添加乳酸菌处理组的感官品质等级高于对照组,可能是由于添加的乳酸菌能够大量产生乳酸,降低 pH 值,减缓和防止青贮过程中饲料腐败变质,而对照组因为原料所含酵母菌和肠杆菌较多,乳酸菌少,青贮前期有害菌繁殖较快,消耗了饲草的营养物质^[21],产生大量的丁酸,使青贮饲料芳香味变弱,具有酸臭味。但由于感官品质的评价主观性较强,所述结果还需要进一步分析与验证。

3.2 乳酸菌添加剂处理对扁穗牛鞭草青贮发酵品质的影响

一般认为 pH 值小于 4.2 时,青贮中的有害菌才能受到抑制,进而保证青贮饲料具有良好的发酵品质^[22]。本试验中,添加单一或复合乳酸菌处理组的 pH 值都小于 4.2,其中,M-4 处理组的 pH 值最低(3.86),这表明实验室前期筛选出的 3 株乳酸菌无论是单一添加还是复合添加,均能有效降低牛鞭草青贮 pH 值,与舒思敏等^[3]的研究结果一致。本研究中,添加乳酸菌处理组的乳酸含量均高于对照组,表明添加乳酸菌使得青贮中乳酸菌数量大量增加,从而提高了其代谢产物乳酸的含量^[17]。在牧草青贮过程中,当干物质为 25%~35% 时乳酸含量应为 6%~10% DM^[23],因此本研究中 LP694 和 M-4 处理组的乳酸含量符合优质青贮标准。 $\text{NH}_3\text{-N}/\text{TN}$ 能反映出青贮饲料中蛋白质和氨基酸的分解程度^[24], $\text{NH}_3\text{-N}/\text{TN}$ 越小,说明分解程度越低。侯建建等^[25]将乳酸菌添加到苜蓿(*Medicago sativa*)中青贮,结果表明添加高浓度($7 \log_{10} \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$)的单一植物乳杆菌处理的苜蓿青贮发酵品质最好,而植物乳杆菌与干酪乳杆菌的复合菌能保护更多的真蛋白不被降解。在本研究中,添加戊糖片球菌、食蜜魏斯氏菌和植物乳杆菌复合菌的 M-4 处理组的发酵品质最好,蛋白质和氨基酸的分解程度最低,说明 3 种乳酸菌的配比能有效抑制真蛋白的降解,其原因一方面可能是添加 M-4 后,乳酸菌大量繁殖,进而抑制了霉菌、肠杆菌等有害微生物的生长繁殖,降低了有害微生物对青贮料中蛋白质和氨基酸的分解利用;另一方面,较低的 pH 抑制了植物蛋白酶的活性,降低了青贮料自身对蛋白质和氨基酸的损耗^[26-27]。

此外,同型发酵乳酸菌在青贮发酵时只产生乳酸,而异型发酵乳酸菌不仅能产生乳酸,还产生乙酸等有助于提高青贮饲料的有氧稳定性的有机酸,对减缓或防止青贮饲料二次发酵有明显作用^[19,28]。本试验中,添加异型发酵乳酸菌(WC10)处理组乙酸含量略高于添加同型发酵乳酸菌(PP04 或 PL694)处理组,无显著差异,但均低于对照,这可能是由于牛鞭草原料上本身就附着较多的异型发酵乳酸菌,导致对照组青贮过程中产生了更多的乙酸^[29],与此同时,乳酸产生不足同样导致对照组 pH 无法降低至 4.2 以下。3 种乳酸菌复合添加的 M-4 处理组的乳酸含量高于 2 种乳酸菌复合添加处理组和单一乳酸菌处理组,这表明不同发酵类型的乳酸菌按不同的方式混合添加,其协同作用各不相同^[14,30],但菌株之间是如何协同作用还需要更多研究证实。

3.3 乳酸菌添加剂处理对扁穗牛鞭草营养品质的影响

处理组的干物质含量和干物质回收率都高于对照组,可能是由于添加乳酸菌后,增加了乳酸菌含量,产酸速率快,能快速降低 pH 值抑制有害微生物的繁殖,降低牧草干物质的损耗^[31]。青贮后的粗蛋白和可溶性碳水化合物含量均下降,除 LP694 处理组外,其余添加乳酸菌处理组的 WSC 含量均低于对照组,可能是添加的乳酸菌利用 WSC 进行生长繁殖产生大量的乳酸,造成青贮后 WSC 含量下降^[32-33]。各处理组间的 NDF 和 ADF 无显

著差异,该变化与在苜蓿和玉米青贮中的发现相似,其含量均不受乳酸菌添加剂的影响^[34-35]。添加乳酸菌的处理组的相对饲用价值高于对照组,说明添加乳酸菌能够平衡青贮饲料的营养品质,提高其饲用价值,有利于畜牧的生产和发展。

4 结论

无论是单一添加还是复合添加戊糖片球菌(PP04)、食蜜魏斯氏菌(WC10)和植物乳杆菌(LP694)均有利于改善牛鞭草青贮发酵品质和营养成分,但同型发酵乳酸菌(PP04 或 LP694)单独添加于牛鞭草青贮中效果好于异型发酵乳酸菌(WC10)单独添加。乳酸菌两两复合添加的青贮效果各异,但均不如 3 种乳酸菌按比例复合添加。综上所述,戊糖片球菌 PP04 : 食蜜魏斯氏菌 WC10 : 植物乳杆菌 LP694 = 2 : 1 : 1 复合的处理 M-4 添加于牛鞭草青贮中效果最佳,具有推广利用的潜质,在生产实践上可深入研究。

参考文献 References:

- [1] Chen Y X, Zhang X Q, Yang C H, *et al.* Breeding and cultivation techniques of a new variety of *Hemarthria compressa* cv. Ya'an. Chinese Journal of Grassland, 2012, 34(3): 109-112.
陈永霞, 张新全, 杨春华, 等. 扁穗牛鞭草新品种选育及栽培技术. 中国草地学报, 2012, 34(3): 109-112.
- [2] Shu S M. Study on the forage supply system of *Hemarthria compressa* grassland in winter and spring. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2012.
舒思敏. 扁穗牛鞭草草地冬春季饲草供应系统研究. 雅安: 四川农业大学, 2012.
- [3] Shu S M, Yang C H, Tang Z S, *et al.* Effects of lactic bacteria as additives on the quality of whipgrass (*Hemarthria compressa*) silage. Chinese Journal of Grassland, 2011, 33(5): 67-71.
舒思敏, 杨春华, 唐智松, 等. 乳酸菌添加剂对扁穗牛鞭草青贮品质的影响. 中国草地学报, 2011, 33(5): 67-71.
- [4] Yahaya M S, Goto M, Yimiti W, *et al.* Evaluation of fermentation quality of a tropical and temperate forage crops ensiled with additives of fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria (FJLB). Asian Australasian Journal of Animal Sciences, 2004, 17(7): 942-946.
- [5] Cai Y, Benno Y, Ogawa M, *et al.* Influence of *Lactobacillus* spp. from an inoculant and of *Weissella* and *Leuconostoc* spp. from forage, crops on silage fermentation. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(8): 2982-2987.
- [6] Zhang Q, Li X J, Zhao M M, *et al.* Isolating and evaluating lactic acid bacteria strains for effectiveness of *Leymus chinensis* silage fermentation. Letters in Applied Microbiology, 2014, 59(4): 391-397.
- [7] Ando S, Ishida M, Oshio S, *et al.* Effects of isolated and commercial lactic acid bacteria on the silage quality, digestibility, voluntary intake and ruminal fluid characteristics. Asian Australasian Journal of Animal Sciences, 2006, 19(19): 386-389.
- [8] Guan W T, Ashbell G, Hen Y, *et al.* The effect of microbial inoculants applied at ensiling on sorghum silage characteristics and aerobic stability. Scientia Agricultura Sinica, 2002, 35(11): 1401-1405.
管武太, Ashbell G, Hen Y, 等. 微生物添加剂对青贮高粱发酵品质和稳定性的影响. 中国农业科学, 2002, 35(11): 1401-1405.
- [9] Ávila C L da S, Valeriano A R, Pinto J C, *et al.* Chemical and microbiological characteristics of sugar cane silages treated with microbial inoculants. Revista Brasileira De Zootecnia, 2010, 39(1): 25-32.
- [10] Zhang Q, Yu Z. Characterization, identification, and application of lactic acid bacteria isolated from *Leymus chinensis* silage. Grassland Science, 2017, 63(2): 111-117.
- [11] Filya I. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. Journal of Dairy Science, 2003, 86(11): 3575-3581.
- [12] Arriola K G, Kim S C, Adesogan A T. Effect of applying inoculants with heterolactic or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation and quality of corn silage. Journal of Dairy Science, 2011, 94(3): 1511-1516.
- [13] Cai Y M, Kumai S, Fukumi R. Effects of inoculation of lactic acid bacteria on the recovery of dry matter, distribution of isomers of lactic acid and nutritive value in silage. Society of Grassland Science, 1992, 37: 428-434.
- [14] Liang X Y, Ji Y, Yi J, *et al.* Effects of mixing ratio and additives on ensilage efficiency of mixed chicory and silage maize. Acta Prataculturae Sinica, 2018, 27(2): 173-181.
梁小玉, 季杨, 易军, 等. 混合比例和添加剂对菊苣与青贮玉米混合青贮品质的影响. 草业学报, 2018, 27(2): 173-181.
- [15] Broderick G A, Kang J H. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. Journal of Dairy Science, 1980, 63(1): 64-75.
- [16] AOAC. Official methods of analysis. Artington, Virginia, USA: Association of Official Analytical Chemists, 1990.

- [17] Wang L S, Qi Y L, Chen F, *et al.* Effects of different additives on quality and nutritional value of bamboo shoots silage. *Acta Pratacultura Sinica*, 2013, 22(5): 326—332.
王力生, 齐永玲, 陈芳, 等. 不同添加剂对笋壳青贮品质和营养价值的影响. *草业学报*, 2013, 22(5): 326—332.
- [18] Hou X D, Jia Y S, Bao J, *et al.* Additives on natural grass silage quality and *in vitro* digestion the influence of the research. *Prairie and Prataculture*, 2017, 29(4): 49—55.
侯鑫狄, 贾玉山, 包健, 等. 添加甲酸、乳酸菌对典型草原牧草青贮品质的影响研究. *草原与草业*, 2017, 29(4): 49—55.
- [19] Liu Z, Li S L, Yu X, *et al.* Effects of silage additives on aerobic stability of whole corn silage. *Chinese Dairy Cows*, 2012, (20): 26—29.
刘祯, 李胜利, 余雄, 等. 青贮添加剂对全株玉米青贮有氧稳定性的影响. *中国奶牛*, 2012, (20): 26—29.
- [20] McDonald P, Henderson A R, Heron S J E. *The biochemistry of silage*. Second Edition. Marlow, UK: Chalcombe Publications, 1991.
- [21] Tao Y, Li F, Gao F Q, *et al.* Fermentation quality and microbial characteristics of *Amaranthus hypochondriacus* corn mixed silage. *Acta Prataculturae Sinica*, 2016, 25(12): 119—129.
陶雅, 李峰, 高凤芹, 等. 籽粒苋与青贮玉米混贮品质及微生物特性研究. *草业学报*, 2016, 25(12): 119—129.
- [22] Xu N X, Ding C L, Gu H R, *et al.* Studies of rice straw, elephant grass and hybrid pennisetum silage. *Acta Agrestic Sinica*, 2011, 19(1): 142—146.
许能祥, 丁成龙, 顾洪如, 等. 稻秸、象草和杂交狼尾草青贮的研究. *草地学报*, 2011, 19(1): 142—146.
- [23] Kung L, Shaver R D, Grant R J, *et al.* Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(5): 4020—4033.
- [24] Jiang S S, Jin L N, Jing S Y, *et al.* Effect of herbal medicine residues addition on the sensory evaluation, fermentation quality, and nutritional composition of whole corn silage. *Pratacultural Science*, 2017, 34(9): 1947—1954.
蒋苏苏, 金丽娜, 敬淑燕, 等. 添加中药渣对全株玉米青贮感官和发酵品质及营养成分的影响. *草业科学*, 2017, 34(9): 1947—1954.
- [25] Hou J J, Bai C S, Zhang Q, *et al.* Effects of different additive amount of single and multiple lactic acid bacteria on the silage quality and protein fraction of alfalfa. *Pratacultural Science*, 2016, 33(10): 2119—2125.
侯建建, 白春生, 张庆, 等. 单一和复合乳酸菌添加水平对苜蓿青贮营养品质及蛋白组分的影响. *草业科学*, 2016, 33(10): 2119—2125.
- [26] Wang Q, Yu C Q, Li Z H, *et al.* Effect of adding coenzyme and lactic acid bacteria on fermentation quality of mixed silages of tall fescue (*Festuca arundinacea*) and common vetch (*Vicia sativa*) in Tibet. *Acta Prataculturae Sinica*, 2012, 21(4): 186—191.
王奇, 余成群, 李志华, 等. 添加酶和乳酸菌制剂对西藏苇状羊茅和箭筈豌豆混合青贮发酵品质的影响. *草业学报*, 2012, 21(4): 186—191.
- [27] Jia T T, Wu Z, Yu Z. Effect of different lactic acid bacteria additives on the fermentation quality and aerobic stability of oat silage. *Pratacultural Science*, 2018, 35(5): 1266—1272.
贾婷婷, 吴哲, 玉柱. 不同类型乳酸菌添加剂对燕麦青贮品质和有氧稳定性的影响. *草业科学*, 2018, 35(5): 1266—1272.
- [28] Miao F, Zhang F F, Tang K T, *et al.* Effects of the addition of homo-and hetero-fermentative lactic acid bacteria on the fermentation characteristics, nutritional quality, and aerobic stability of whole corn silage. *Acta Prataculturae Sinica*, 2017, 26(9): 167—175.
苗芳, 张凡凡, 唐开婷, 等. 同/异质型乳酸菌添加对全株玉米青贮发酵特性、营养品质及有氧稳定性的影响. *草业学报*, 2017, 26(9): 167—175.
- [29] Bao A A. Study on biodiversity and fermentation characteristics of lactic acid bacteria in *Elymus nutans* silage ensiled at different areas of the Qinghai-Tibetan Plateau. Lanzhou: Lanzhou University, 2016.
保安安. 青藏高原不同地区垂穗披碱草青贮饲料中乳酸菌多样性及优势菌种的发酵特性研究. 兰州: 兰州大学, 2016.
- [30] Wei F H, Fu H, Liao S C, *et al.* The effects of different lactic acid bacteria on the fermentation quality and nutrition value quality of whole corn silage. *Tillage and Cultivation*, 2017, (6): 8—10.
韦方鸿, 付浩, 廖胜昌, 等. 不同发酵类型乳酸菌对全株玉米青贮发酵品质及营养价值的影响. *耕作与栽培*, 2017, (6): 8—10.
- [31] Wan X R, Wu J P, Lei Z M, *et al.* Effect of lactic acid bacteria on corn silage quality and stability after aerobic exposure. *Acta Prataculturae Sinica*, 2016, 25(4): 204—211.
万学瑞, 吴建平, 雷赵民, 等. 优良抑菌活性乳酸菌对玉米青贮及有氧暴露期微生物数量和 pH 的影响. *草业学报*, 2016, 25(4): 204—211.
- [32] Fu T. The effects of microbial inoculants on the fermentation process and quality of corn silage. Beijing: Chinese Academy of

Agricultural Sciences, 2005.

傅彤. 微生物接种剂对玉米青贮饲料发酵进程及其品质的影响. 北京: 中国农业科学院, 2005.

- [33] Qin L P. Screening of lactic acid bacteria for low temperature fermentation from silage of *Elymus nutans* growing on the Tibetan Plateau and study on its fermentation properties. Lanzhou: Lanzhou University, 2014.
- 秦丽萍. 青藏高原垂穗披碱草青贮饲料中耐低温乳酸菌的筛选及其发酵性能研究. 兰州: 兰州大学, 2014.
- [34] Reich L J, Kung J. Effects of combining *Lactobacillus buchneri* 40788 with various lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Animal Feed Science & Technology*, 2010, 159: 105–109.
- [35] Contreras-Govea F E, Muck R E, Broderick G A, *et al.* *Lactobacillus plantarum* effects on silage fermentation and *in vitro* microbial yield. *Animal Feed Science & Technology*, 2013, 179: 61–68.