

DOI: 10.11686/cyxb2017145

http://cyxb.lzu.edu.cn

雷赵民, 王建福, 吴建平, 何轶群, 吴润, 姜辉, 万学瑞. 5 株优良抑菌活性乳酸菌对全株玉米青贮品质的影响. 草业学报, 2017, 26(11): 77-84.
LEI Zhao-Min, WANG Jian-Fu, WU Jian-Ping, HE Yi-Qun, WU Run, JIANG Hui, WAN Xue-Rui. Effect of 5 strains of Lactic acid bacteria with antibacterial activity on the corn silage quality. Acta Prataculturae Sinica, 2017, 26(11): 77-84.

5 株优良抑菌活性乳酸菌对全株玉米青贮品质的影响

雷赵民¹, 王建福¹, 吴建平¹, 何轶群², 吴润², 姜辉¹, 万学瑞^{2*}

(1. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃农业大学动物医学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要:为了探讨具有优良抑菌活性的乳酸菌对全株玉米青贮过程不同时期营养品质的影响,进一步验证并筛选出可提高玉米秸秆青贮品质的乳酸菌接种剂,将实验室前期从甘肃各地玉米秸秆青贮饲料中分离筛选获得的 5 株产酸快、多,且具有抑菌活性的优良乳酸菌分别添加到全株玉米秸秆中进行青贮,共设置 6 个试验组,分别在青贮第 3、7、15、30 天测定产物的干物质(DM)、粗蛋白(CP)、可溶性碳水化合物(WSC)、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)和氨态氮(NH₃-N)含量及第 30 天乳酸(LA)、乙酸(AA)、丙酸(PA)和丁酸(BA)含量。结果显示,发酵 30 d 后,5 个处理组的 DM、CP、ADF 和 LA 含量显著高于对照组($P < 0.05$),NH₃-N 和 WSC 含量显著低于对照组($P < 0.05$),B3-1 组 NDF 显著高于对照组($P < 0.05$),但与其他处理组差异不显著($P > 0.05$),B3-1 和 B5-2 组 AA 含量显著高于对照组($P < 0.05$),但与其他处理组差异不显著($P > 0.05$);各组 DM、CP、WSC 含量均随发酵时间延长而降低,而 ADF、NDF 和 NH₃-N 含量均随发酵时间的延长而升高;B3-1 组在玉米秸秆全株青贮发酵各期的发酵品质和营养品质最优。以上结果表明 5 株乳酸菌均能显著改善青贮饲料发酵品质,其中植物乳杆菌 B3-1 的效果最好。

关键词:全株玉米;营养品质;植物乳杆菌 B3-1;发酵品质

Effect of 5 strains of Lactic acid bacteria with antibacterial activity on the corn silage quality

LEI Zhao-Min¹, WANG Jian-Fu¹, WU Jian-Ping¹, HE Yi-Qun², WU Run², JIANG Hui¹, WAN Xue-Rui^{2*}

1. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2. College of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

Abstract: To investigate the effect of lactic acid bacteria (LAB) with antibacterial activity on the quality of corn silage during ensiling, and screen LAB inoculant that could improve the quality of silage, 5 strains of LAB (B1-7, B2-3, B3-1, B5-2, E2-3) isolated from corn silage across Gansu province were added to make corn silage, the contents of dry matter (DM), crude protein (CP), water soluble carbohydrates (WSC), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), ammonia nitrogen (NH₃-N), lactic acid (LA), acetic acid (AA), propionic acid (PA) and butyric acid (BA) were analyzed. Results showed that for silage at 30 days, the content of DM, CP, ADF and LA was significantly increased in 5 LAB strains treatment groups compared with the control group, and the content of NH₃-N and WSC was decreased. The NDF content in silage inoculated with the B3-1 LAB strain was significantly higher than the control ($P < 0.05$), with the other 4 LAB strains being

收稿日期:2017-03-28;改回日期:2017-05-31

基金项目:甘肃省农业生物技术研究与开发项目(GNSW. 2012-25),农业部公益性行业科研专项(20130305907),兰州市科技局科技计划项目(农业科技攻关;2012-2-159),农业部公益性行业科研专项(201503134),甘肃省科技重大专项(143NKDC017),甘肃省农牧厅秸秆饲料化利用研究专项([2016]269号)和甘肃省科技重大专项“肉牛高效生态营养技术体系研究与示范”(17ZD2NC020)资助。

作者简介:雷赵民(1967-),男,甘肃正宁人,教授。E-mail:leizm@gsau.edu.cn

* 通信作者 Corresponding author. E-mail:383921499@qq.com

intermediate, while the content of AA in B3-1 and B5-2 treated silages was significantly higher than the control but not the other 3 treatment groups. Along with the fermentation time the content of dry matter, crude protein, water soluble carbohydrates in silages of each group was decreased and the content of ADF, NDF and $\text{NH}_3\text{-N}$ increased. Overall, the silages inoculated with the B3-1 strain showed best fermentation quality and nutritive value characteristics. These results indicated that all added LAB strains improved the quality of silage, with *Lactobacillus plantarum* B3-1 being the most effective.

Key words: whole corn; silage quality; *Lactobacillus plantarum* B3-1; ferment quality

青贮过程是一个复杂的微生物发酵体系,如何快速的让乳酸菌迅速地成为优势菌群主导发酵过程是提高青贮质量,减少干物质和能量损失的核心问题,为弥补发酵底物中乳酸菌数量的不足,添加优良乳酸菌以调控该微生物发酵体系是一个行之有效的方法,已经有许多成功的例子^[1-2]。如在意大利黑麦草(*Lolium multiflorum*)中添加乳酸菌使 pH 值及挥发性氮与全氮比值降低,提高了 L(+)乳酸的生成比率,改善了青贮饲料发酵品质^[3]。一般认为,同型发酵乳酸菌因乳酸产率高,能迅速降低青贮饲料的 pH 值而抑制有害微生物的活动,从而能改善青贮饲料的发酵品质;异型发酵乳酸菌虽然累积乳酸的能力不如同型发酵乳酸菌,但其除了能产生乳酸外,还可产生能有效抑制需氧性微生物如酵母菌和霉菌的乙酸,从而抑制青贮开封后的二次发酵,提高有氧稳定性,减少取用和饲喂过程中的营养损耗^[4-7]。目前,已报道能提高青贮饲料有氧稳定性的乳酸菌主要是布氏乳杆菌(*Lactobacillus buchneri*),如全株玉米(*Zea mays*)中添加布氏乳杆菌进行青贮,可降低青贮饲料的乳酸浓度,提高乙酸浓度,降低酵母菌数量,提高青贮饲料的有氧稳定性^[8]。目前,国内外已有许多生物添加剂成功应用于饲料青贮,但由于这种生物添加剂受环境影响较大,出现了一些不同的研究结果^[9]。因此,筛选更多的能促进青贮发酵、改善青贮饲料品质并具有抑制青贮饲料二次发酵潜力的优势乳酸菌势在必行。

作为青贮添加剂的优良乳酸菌必须具有较强的附着能力和生长能力^[10],而从青贮原料或青贮饲料中分离筛选乳酸菌最容易满足以上要求。虽然关于玉米青贮的乳酸菌已有较多报道^[11-12],但还没有适合甘肃地区全株玉米青贮的乳酸菌接种剂,本实验室前期从甘肃各地玉米秸秆青贮饲料中分离筛选获得 5 株青贮用优良乳酸菌,其中植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)B3-1 产酸较快、较多,且其培养上清液对供试的金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌、沙门菌、大肠杆菌和酵母菌均具有较强的抑菌活性,肠膜明串珠菌肠膜亚种(*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*)B1-7、戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*)B2-3、屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)B5-2、发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)E2-3 分别在分离的同类型乳酸菌中产酸和抑菌特性均最优^[13]。分别将以上 5 株乳酸菌作为接种剂,在实验室条件下开展全株玉米青贮试验。结果发现,在青贮过程和在有氧暴露后,分别添加 5 种筛选乳酸菌的各处理组乳酸菌总数均显著高于对照组,而好氧细菌、酵母菌和霉菌数量均显著低于对照组,pH 亦低于对照组,其中植物乳杆菌 B3-1 处理组差异最为显著,表明这 5 株乳酸菌尤其植物乳杆菌 B3-1 具有提高青贮饲料品质和抑制二次发酵的潜力^[14]。为验证其对全株玉米青贮发酵过程营养和发酵品质的影响,本研究通过跟踪分析青贮过程不同阶段青贮饲料的营养成分、有机酸和氨态氮的动态变化,综合评价接种的乳酸菌对全株玉米青贮的调控效果,进一步验证和筛选在青贮发酵过程不同阶段起主要作用的优良乳酸菌,为进一步组合制备更适合甘肃地区全株玉米青贮用复合乳酸菌接种剂提供依据。

1 材料与方 法

1.1 菌种与仪器

供试乳酸菌包括:肠膜明串珠菌肠膜亚种 B1-7、戊糖片球菌 B2-3、植物乳杆菌 B3-1、屎肠球菌 B5-2、发酵乳杆菌 E2-3 均由本实验室分离鉴定并保存。

仪器:723N 可见分光光度计(上海科恒事业发展有限公司)、DZ-300A 多功能真空封口机(温州卓越机电有限公司)、22 cm×28 cm 聚乙烯包装袋(东旭化工塑料有限公司)、茂福炉(天津天有利电炉有限公司)、蛋白消煮炉(北京恒奥德仪器仪表有限公司)、DHG-9000A 立式电热鼓风干燥箱(上海和呈仪器制造有限公司)、E2695 高效液相色谱仪(Waters 公司)。

1.2 青贮饲料的调制

2012 年 9 月,自甘肃农业大学动物科学技术学院产学研基地(甘肃省临洮县)采集蜡熟期青贮用全株玉米,经切割机切成 1~2 cm 左右混匀即为青贮原料,用微波炉进行快速干燥,以掌握含水量,当萎蔫至含水量达到 70%左右(过夜)进行青贮。各供试乳酸菌用 MRS(deMan-Rogosa-Sharp)液体培养基培养至对数生长期,调浓度为 1×10^9 cfu/mL,按 5 mL/kg 青贮原料添加,即 5×10^6 cfu/g。试验设 6 个处理:肠膜明串珠菌肠膜亚种 B1-7 组(B1-7);戊糖片球菌 B2-3 组(B2-3);植物乳杆菌 B3-1 组(B3-1);屎肠球菌 B5-2 组(B5-2);发酵乳杆菌 E2-3 组(E2-3);不添加乳酸菌的液体 MRS 培养基为对照组(CK)。

将菌液用灭菌喷壶均匀喷洒于切碎的玉米秸秆上混匀。按 500 g/袋装入聚乙烯包装袋中,按紧、压实,利用真空封口机抽气封口,每个处理 30 个重复。于恒温环境(20 °C)中进行发酵,分别在青贮第 3、7、15、30 天取样,每处理每次随机取 3 袋,测定相关指标。

1.3 营养成分分析

采集的青贮样品于 65 °C 烘干后粉碎过 0.425 mm(40 目)筛,干物质(dry matter,DM)、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)、酸性洗涤纤维(acid detergent fiber,ADF)等的分析按照《动物营养学实验教程》中的方法进行^[15]。

1.4 发酵品质分析

乳酸(lactic acid,LA)、乙酸(acetic acid,AA)、丙酸(propionic acid,PA)和丁酸(butyric acid,BA)的含量分析采用液相色谱法^[5],在兰州大学化学测试中心进行;氨态氮(ammonia nitrogen,NH₃-N)含量测定采用苯酚一次氯酸钠比色法进行^[16],以 NH₃-N 占总氮(total nitrogen,TN)的百分比表示^[16]。

1.5 统计分析

用 SPSS 19.0 软件对试验数据进行方差分析和多重比较,试验结果采用平均值±标准差表示, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 玉米青贮原料营养成分

青贮前全株玉米粉碎后测定的营养成分结果如表 1 所示,原料的含糖量和含水量符合青贮饲料调制要求。

2.2 不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 DM 的影响

不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 DM 的影响见表 2,各处理组和对照组的 DM 含量随发酵进行逐渐减小,青贮前 7 d 各处理组 DM 含量与对照组差异不显著;从第 15 天开始有差异,到第 30 天时各处理组的 DM 含量与对照组相比均差异显著($P < 0.05$),其中 B3-1 处理组的 DM 含量最高,青贮过程中 DM 损失最少,为 2.22%,而对照组的损失为 4.15%。

2.3 不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 WSC 的影响

不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 WSC 的影响见表 3,随着青贮时间延长,各处理组和对照组的 WSC 含量均逐渐降低,前 7 d 下降较快,之后下降速度减慢,且对照组的 WSC 含量始终高于各处理组。青贮初期,B1-7 处理组和 B5-2 处理的 WSC 含量显著低于其他处理组和对照组,从第 15 天开始,B3-1 处理组的 WSC 含量最低,与对照组差异显著($P < 0.05$),但与其他处理组差异不显著。

2.4 不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 CP 的影响

不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 CP 的影响见表 4,各处理组和对照组的 CP 含量随青贮时间延长均逐

表 1 全株玉米青贮前营养成分

Table 1 The chemical compositions of whole crop corn before ensiling

主要营养成分 Main nutritional compositions	含量 Content
干物质 DM (% ,FM)	28.86±0.07
粗蛋白 CP (% ,DM)	7.73±0.11
可溶性碳水化合物 WSC (% ,DM)	14.92±0.03
中性洗涤纤维 NDF (% ,DM)	52.17±0.09
酸性洗涤纤维 ADF (% ,DM)	26.13±0.28

FM: Fresh weight; DM: Dry matter; CP: Crude protein; WSC: Water soluble carbohydrates; NDF: Neutral detergent fiber; ADF: Acid detergent fiber. 下同 The same below.

渐缓慢降低,青贮最初 7 d,各处理组和对照组的 CP 含量无显著差异,从第 15 天开始,对照组的 CP 含量显著低于各处理组;第 30 天时对照组的 CP 含量是原料的 91.0%,相对下降最多,而 B3-1 处理组变化最小,依然含有原料的 96.2%。

表 2 不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 DM 的影响

Table 2 Effect of different strains of lactic acid bacteria on DM in whole corn silage process % , FM

青贮时间 Silage time	B1-7	B2-3	B3-1	B5-2	E2-3	CK
3 d	28.19±0.35a	28.06±0.46a	27.99±0.51a	28.26±0.34a	27.17±0.46b	28.33±0.11a
7 d	27.22±0.40a	27.21±0.80a	27.28±0.45a	27.51±0.38a	27.12±0.44a	27.55±0.11a
15 d	26.33±0.48a	26.17±0.56a	26.57±0.39a	26.08±0.87ab	25.84±0.44ab	25.44±0.11b
30 d	25.20±0.09ab	25.44±0.29a	25.77±0.42a	25.21±0.78ab	25.07±0.27b	24.18±0.10c

注:同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),下同。

Note: The different letters in the same row mean significant differences at $P<0.05$, the same below.

表 3 不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 WSC 的影响

Table 3 Effect of different strains of lactic acid bacteria on WSC in whole corn silage process % , DM

青贮时间 Silage time	B1-7	B2-3	B3-1	B5-2	E2-3	CK
3 d	14.14±0.09bc	14.37±0.16b	14.53±0.10ab	13.94±0.07c	14.80±0.12a	14.89±0.07a
7 d	9.27±0.14b	9.68±0.18ab	9.49±0.35ab	9.41±0.16ab	9.45±0.13ab	9.81±0.20a
15 d	7.38±0.06ab	7.43±0.13ab	7.17±0.12b	7.51±0.12ab	7.51±0.14ab	7.88±0.06a
30 d	5.72±0.18b	5.65±0.12b	5.53±0.12b	5.74±0.12b	5.64±0.06b	6.44±0.07a

表 4 不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 CP 的影响

Table 4 Effect of different strains of lactic acid bacteria on CP in whole corn silage process % , DM

青贮时间 Silage time	B1-7	B2-3	B3-1	B5-2	E2-3	CK
3 d	7.57±0.11a	7.54±0.11a	7.55±0.08a	7.55±0.10a	7.54±0.11a	7.55±0.08a
7 d	7.45±0.02a	7.45±0.03a	7.44±0.04a	7.54±0.03a	7.45±0.03a	7.39±0.07a
15 d	7.35±0.03a	7.35±0.04a	7.41±0.06a	7.35±0.08a	7.25±0.06ab	7.15±0.03b
30 d	7.14±0.03a	7.19±0.05a	7.26±0.03a	7.15±0.03a	7.14±0.02a	6.87±0.05b

2.5 不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 NDF 的影响

由表 5 可见,在青贮过程中,随着发酵的进行各处理组和对照组的 NDF 含量均逐渐增加,最初 7 d,变化幅度较小,且各组间无显著差异;从第 15 天开始,变化幅度明显增加,其中 B3-1 处理组变化最大,显著高于对照组($P<0.05$),但与其他各处理组差异不显著($P>0.05$)。

表 5 不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 NDF 的影响

Table 5 Effect of different strains of lactic acid bacteria on NDF in whole corn silage process % , DM

青贮时间 Silage time	B1-7	B2-3	B3-1	B5-2	E2-3	CK
3 d	52.39±0.26a	52.39±0.46a	52.52±0.38a	52.70±0.32a	52.53±0.11a	52.49±0.08a
7 d	52.62±0.21a	52.70±0.19a	52.74±0.08a	52.85±0.39a	52.65±0.40a	52.68±0.22a
15 d	53.18±0.39ab	53.33±0.34a	53.75±0.11a	53.51±0.39a	53.02±0.62ab	52.88±0.10b
30 d	54.18±0.61ab	54.34±0.65ab	54.85±0.07a	54.18±0.33ab	54.36±0.18ab	53.97±0.12b

2.6 不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 ADF 的影响

由表 6 可见,在青贮过程中,随着发酵的进行各处理组和对照组的 ADF 含量均逐渐增加,青贮初期各组间无显著差异;从第 15 天开始,B3-1 处理组的 ADF 含量显著高于其他处理组和对照组($P < 0.05$),但其他处理组间及其与对照组差异不显著。

表 6 不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 ADF 的影响

Table 6 Effect of different strains of lactic acid bacteria on ADF in whole corn silage process % , DM

青贮时间 Silage time	B1-7	B2-3	B3-1	B5-2	E2-3	CK
3 d	26.39±0.26a	26.58±0.35a	26.55±0.33a	26.51±0.33a	26.32±0.20a	26.35±0.08a
7 d	27.06±0.04ab	27.04±0.14ab	27.48±0.24a	26.98±0.83ab	27.12±0.10ab	26.49±0.10b
15 d	27.38±0.04b	27.52±0.38b	28.11±0.23a	27.22±0.40b	27.26±0.54b	27.14±0.11b
30 d	28.16±0.26b	28.22±0.37b	29.11±0.23a	28.25±0.40b	28.26±0.81b	27.81±0.04c

2.7 不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 NH₃-N 的影响

不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 NH₃-N 的影响见表 7,青贮期各处理组和对照组的 NH₃-N 含量均逐渐增加,且对照组始终最高,与各处理组差异显著($P < 0.05$),B3-1 处理组始终较低。

表 7 不同乳酸菌对全株玉米青贮不同阶段 NH₃-N 的影响

Table 7 Effect of different strains of lactic acid bacteria on NH₃-N in whole corn silage process % , TN

青贮时间 Silage time	B1-7	B2-3	B3-1	B5-2	E2-3	CK
3 d	2.52±0.08b	2.64±0.08ab	2.66±0.11ab	2.77±0.03ab	2.85±0.08a	2.87±0.04a
7 d	4.67±0.15b	4.66±0.08bc	4.53±0.02c	4.63±0.01bc	4.64±0.08bc	4.87±0.05a
15 d	5.33±0.11c	5.43±0.09c	5.07±0.12d	5.44±0.12c	5.70±0.10b	6.07±0.05a
30 d	6.18±0.16bc	6.39±0.16bc	6.05±0.04c	6.25±0.04bc	6.60±0.51b	7.02±0.09a

2.8 不同乳酸菌对全株玉米青贮饲料有机酸的影响

青贮发酵第 30 天产物中有机酸含量结果见表 8,各处理组及对照组均未检测到丙酸和丁酸,B3-1、B2-3 和 B5-2 组的 LA 含量最高,显著高于对照组和其他两组($P < 0.05$),B3-1 和 B5-2 组 AA 含量最高,显著高于对照组($P < 0.05$),但与其他 3 个处理组差异不显著($P > 0.05$)。B3-1 组 LA+AA 的含量最高,对照组最低,B2-3 组的 LA/AA 最高,B1-7 组 LA/AA 最低。

表 8 不同乳酸菌对全株玉米青贮饲料有机酸的影响

Table 8 Effect of different strains of lactic acid bacteria on organic acid in whole corn silage

项目 Items	B1-7	B2-3	B3-1	B5-2	E2-3	CK
乳酸 Lactic acid (LA, mg/mL)	2.22±0.08c	3.31±0.06a	3.43±0.09a	3.34±0.06a	2.51±0.06b	1.80±0.08d
乙酸 Acetic acid (AA, mg/mL)	1.18±0.07ab	1.19±0.06ab	1.44±0.05a	1.31±0.06a	1.10±0.07ab	0.87±0.05b
丙酸 Propionic acid (PA, mg/mL)	—	—	—	—	—	—
丁酸 Butyric acid (BA, mg/mL)	—	—	—	—	—	—
乳酸/乙酸 LA/AA	1.88	2.78	2.38	2.55	2.28	2.07
乳酸+乙酸 LA+AA	3.40	4.50	4.87	4.65	3.61	2.67

注:“—”表示未检出。

Note: “—” means organic acid was undetected.

3 讨论

青贮发酵能否成功取决于以下 3 个必要条件^[10]:适合的微生物菌群结构,即青贮原料中的有益微生物如乳酸菌需达到一定数量,若能达到 10^5 cfu/g 则有希望获得品质优良的青贮饲料^[17],而有害微生物如腐败菌、酵母菌和霉菌等的数量应相对较低;充足的可溶性碳水化合物,提供乳酸菌发酵产酸所需的底物;适当的物理-化学环境,即通过规范的青贮技术和有益微生物的活动创造厌氧和酸性环境。本试验所使用的全株玉米收获切割后萎蔫至含水量为 71.14%,可溶性碳水化合物含量为干物质的 14.92%,可满足秸秆类作物表面附生的乳酸菌及添加的乳酸菌生长繁殖的需要;中性洗涤纤维含量比较高,为干物质的 52.17%,这一部分是秸秆类饲料利用率的瓶颈,若青贮添加剂中含有分解这类纤维类物质的酶或产酶微生物,不仅有利于乳酸菌的发酵,还能提高青贮饲料的营养价值。

全株玉米是制作青贮饲料的主要原料,只要掌握好合适的水分含量,青贮就容易成功,但其自身的乳酸菌数量往往较低,不能在较短的时间内快速成为优势菌群,从而造成青贮原料营养和能量的损失,且开窖后容易发生二次发酵,引起青贮饲料营养和能量的进一步损失,甚至腐烂变质。在青贮过程中加入乳酸菌制剂可以提高其青贮发酵品质^[18],添加植物乳杆菌能显著降低青贮饲料的 pH 值并提高乳酸含量^[19],本试验结果表明,在青贮第 30 天,添加乳酸菌各处理组的 LA 和 AA 含量均显著高于对照组 ($P < 0.05$),表明添加的各乳酸菌均能很好的定植,并能在青贮发酵过程中起到重要的作用;其中同型发酵乳酸菌 B3-1、B2-3、B5-2 处理组的 LA 含量相近,显著高于异型发酵乳酸菌 B1-7 和 E2-3 处理组,B3-1 处理组最高,这主要是因为同型发酵乳酸菌在青贮发酵过程中的主要产物是乳酸。另外,以上 3 个同型发酵乳酸菌处理组的 AA 含量也较高,可能与青贮原料上本来附着的乳酸菌的类型和数量有关,推测原料中附着的乳酸菌可能以异型发酵乳酸菌为主。因原料中附着的乳酸菌数量较大,达到 8.61×10^5 cfu/g,与添加的乳酸菌数量相当,因此添加的同型乳酸菌快速产酸,抑制了有害微生物的繁殖,同时有利于附着异型发酵乳酸菌的繁殖,导致 LA 和 AA 含量均升高。有研究报道同型乳酸菌发酵能提高青贮饲料品质,但是在青贮窖打开后的有氧稳定性降低了^[20-21],是因为乙酸的产量较低,降低了其抑制霉菌等有害菌的能力,故在青贮发酵试验中乙酸的产量增加也不能片面地认为青贮品质降低。

在青贮发酵初期,各添加乳酸菌的处理组 DM、CP、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 、NDF、ADF 和 WSC 的含量与对照组无显著差异,从青贮第 7 天开始有变化,到青贮第 30 天,各处理组的 DM、CP、NDF 和 ADF 含量显著高于对照组,而 WSC 和 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量显著低于对照组,B3-1 处理组差异最为显著,表明青贮发酵过程中添加的和附着的乳酸菌活动消耗了一定量的 WSC,同时产生的有机酸抑制了有害微生物活动,抑制了腐败微生物对含氮化合物的分解,从而减少了 DM 和 CP 损失^[22-23],增加了 NDF 和 ADF 在干物质中所占比率,其中 B3-1 处理组的 DM 损失仅为 2.22%,CP 损失为 3.8%, $\text{NH}_3\text{-N}$ 占总氮的 6.05%,小于 10%^[24],品质最优。

4 结论

添加乳酸菌能有效地增加全株玉米青贮过程中 LA、AA 的含量,减少 CP 损失,降低 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量,显著改善了青贮饲料发酵品质,其中植物乳杆菌 B3-1 的效果最好。

参考文献 References:

- [1] Stokes M R. Effects of an enzyme mixture, an inoculant, and their interaction on silage fermentation and dairy production. *Journal of Dairy Science*, 1992, 75(3): 764-773.
- [2] Liu H, Bu D P, Lü Z W, *et al.* Effects of wilting and additives on fermentation quality of alfalfa (*Medicago sativa*) silage. *Acta Prataculturae Sinica*, 2015, 24(5): 126-133.
刘辉, 卜登攀, 吕中旺, 等. 凋萎和不同添加剂对紫花苜蓿青贮品质的影响. *草业学报*, 2015, 24(5): 126-133.
- [3] Cai Y M, Kumai S, Liao Z, *et al.* Effect of lactic acid bacteria inoculants on fermentative quality of silage. *Scientia Agricultura Sinica*, 1995, 28(2): 73-82.
蔡义民, 熊井清雄, 廖芷, 等. 乳酸菌剂对青贮饲料发酵品质的改善效果. *中国农业科学*, 1995, 28(2): 73-82.

- [4] Taylor C C, Ranjit N J, Mills J A, *et al.* The effect of treating whole-plant barley with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2002, 85(7): 1793-1800.
- [5] Liu Q H, Zhang J G, Lu X L. The effects of lactic acid bacteria inoculation on the fermentation quality and aerobic stability of king grass silage. *Acta Prataculturae Sinica*, 2009, 18(4): 131-137.
刘秦华, 张建国, 卢小良. 乳酸菌添加剂对王草青贮发酵品质及有氧稳定性的影响. *草业学报*, 2009, 18(4): 131-137.
- [6] Lü W L, Diao Q Y, Yan G L. Effect of *Lactobacillus buchneri* on the quality and aerobic stability of green corn-stalk silages. *Acta Prataculturae Sinica*, 2011, 20(3): 143-148.
吕文龙, 刁其玉, 闫贵龙. 布氏乳杆菌对青玉米秸青贮发酵品质和有氧稳定性的影响. *草业学报*, 2011, 20(3): 143-148.
- [7] Kung L J, Schimidt R J, Ebling T E, *et al.* The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of ground and whole high-moisture corn. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90(5): 2309-2314.
- [8] Filya I, Sucu E, Karabulut A. The effect of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of maize silage. *Journal of Applied Microbiology*, 2006, 101(6): 1216-1223.
- [9] Xing L, Han L J, Liu X, *et al.* Effects of lactobacillus and cellulose on the fermentation characteristics and microorganism of whole-plant corn silage. *Journal of China Agricultural University*, 2004, 9(5): 38-41.
兴丽, 韩鲁佳, 刘贤, 等. 乳酸菌和纤维素酶对全株玉米青贮发酵品质和微生物菌落的影响. *中国农业大学学报*, 2004, 9(5): 38-41.
- [10] Wang X L, Zhang H J, Sun Q Z, *et al.* Research progress of lactic acid bacteria and its additives in forage grass silage system. *Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine*, 2012, 6: 20-23.
王晓力, 张慧杰, 孙启忠, 等. 饲草青贮系统中乳酸菌及其添加剂研究进展. *中兽医医药杂志*, 2012, 6: 20-23.
- [11] Ma D, Liang H H, Shao W Q, *et al.* Fermentation product and aerobic stability of whole crop corn and wilted Italian ryegrass silage inoculated without and with different lactic acid bacteria. *Acta Agrestia Sinica*, 2014, 6: 1365-1370.
马迪, 梁慧慧, 邵文强, 等. 不同乳酸菌添加剂对青贮黑麦草和青贮玉米发酵产物和有氧稳定性的影响. *草地学报*, 2014, 6: 1365-1370.
- [12] Chen L, Yuan X J, Guo G, *et al.* The effects of lactic acid bacteria and propionic acid on the fermentation quality and aerobic stability of total mixed ration silages prepared with whole-crop corn in Tibet. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2015, 46(1): 104-111.
陈雷, 原现军, 郭刚, 等. 添加乳酸菌制剂和丙酸对全株玉米全混合日粮青贮发酵品质和有氧稳定性的影响. *畜牧兽医学报*, 2015, 46(1): 104-111.
- [13] He Y Q, Wan X R, Wu R, *et al.* Isolation and identification of excellent lactic acid bacteria from silage and its biological characteristics research. *Biotechnology Bulletin*, 2013, (5): 177-183.
何轶群, 万学瑞, 吴润, 等. 青贮饲料中优良乳酸菌的分离鉴定及其生物学特性研究. *生物技术通报*, 2013, (5): 177-183.
- [14] 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.
- [15] Yuan Y. The Experiment of Animal Nutrition Tutorial[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2006: 29-46.
袁纓. 动物营养学实验教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2006: 29-46.
- [16] 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.
- [17] Lin C, Bolsen K K, Brent B E, *et al.* Epiphytic lactic acid bacteria succession during the pre-ensiling and ensiling periods of alfalfa and maize. *Journal of Applied Bacteriology*, 1992, 73(5): 375-387.
- [18] Tabacco E, Piano S, Revello-Chion A, *et al.* Effect of *Lactobacillus buchneri* LN4637 and *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability, fermentation products, and microbial populations of corn silage under farm conditions. *Journal of Dairy Science*, 2011, 94(11): 5589-5598.
- [19] Aksu T, Baytok E D. Effects of a bacterial silage inoculant on corn silage fermentation and nutrient digestibility. *Small Ruminant Research*, 2004, 55(3): 249-252.
- [20] Weinberg Z G, Ashbell G, Hen Y. The effect of applying lactic acid bacteria at ensiling on the aerobic stability of silages. *Journal of Applied Bacteriology*, 1993, 75: 512-518.
- [21] Kung L J, Tung R S, Maciorowski K. Effect of a microbial inoculant (Ecosy) and/or a glycopeptide antibiotic (vancomycin) on fermentation and aerobic stability of wilted alfalfa silage. *Animal Feed Science and Technology*, 1991, 35(2): 37-48.

- [22] Cai Y. The role of lactic acid bacteria in the preparation of high fermentation quality. *Grassland Science*, 2001, 47: 527-533.
- [23] Cai Y, Fujita Y, Murai M, *et al.* Application of lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum* Chikuso-1) for silage preparation forage paddy rice. *Journal of Japanese Society of Grassland Science*, 2003, 49: 477-485.
- [24] Liu H, Bu D P, Lü Z W, *et al.* Effect of lactic acid bacteria or chemical preservative on the quality and aerobic stability of alfalfa silage produced in farm-scale silos. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2015, 46(5): 784-791.
- 刘辉, 卜登攀, 吕中旺, 等. 乳酸菌和化学保存剂对窖贮紫花苜蓿青贮品质和有氧稳定性的影响. *畜牧兽医学报*, 2015, 46(5): 784-791.