

不同刈割高度王草中叶绿素和叶绿醇含量在青贮前后的变动

吕仁龙¹ 胡海超¹ 张兴波² 李 茂¹ 王定发¹ 周汉林^{1*}

(1.中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所,儋州 571737;2.海南大学热带农林学院,儋州 571700)

摘 要: 本试验旨在探究不同刈割高度王草 [*Pennisetum purpureum* Schumacher × *Pennisetum glaucum* (Linnaeus) R. Brown] 中叶绿素和叶绿醇含量在青贮前后的变动以及王草青贮中叶绿素和叶绿醇含量与发酵品质之间的关系。试验选定 4 个试验区,每个试验区有 4 个小分区,分别在草高 50~80 cm (T1)、80~120 cm (T2)、120~180 cm (T3) 和 180~220 cm (T4) 时对 4 个小分区中的 1 个进行刈割。将刈割的王草自然干燥至水分含量约为 80% 后,剪切至 2 cm 左右,制备青贮,发酵 60 d。青贮开封后,测定 pH 以及有机酸、常规营养成分、叶绿素和叶绿醇含量,并解析其青贮前后变动情况。结果显示:无论是在青贮前还是在青贮后,王草中叶绿素和叶绿醇含量均随着刈割高度的增加而显著降低 ($P < 0.05$)。在青贮后,王草中约有 74% 的叶绿素被分解,但叶绿醇的含量变化不大。尽管在不同刈割高度下王草青贮中有机酸含量表现出了显著差异 ($P < 0.05$),但并没有发现王草青贮中叶绿素、叶绿醇含量与发酵指标 (pH 以及乳酸、乙酸、丙酸、丁酸含量) 存在相关性。综上所述,王草中叶绿醇在青贮过程中可被良好保存,并且王草青贮中叶绿醇含量与发酵品质之间不存在相关性。

关键词: 王草;刈割高度;青贮;叶绿素;叶绿醇

中图分类号: S811.6

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2019)09-4208-10

随着人类对健康饮食的关注,消费者开始对富含生物活性化合物的畜产品越来越感兴趣^[1-3]。在反刍动物采食的青绿饲料中有一些化合物,如叶绿素、叶黄素、胡萝卜素和一些脂肪酸等,它们具有抗氧化功能^[4-5],不仅对动物机体健康产生积极作用,而且对畜产品(如牛奶或牛肉)中功能性物质(如植烷酸、 α -亚麻酸等)含量会产生直接影响^[6-7],进而提升畜产品价值。充分利用这些天然资源有助于提升粗饲料利用率,降低饲养成本。叶绿素分子由 2 部分组成,其核心部分是 1 个卟啉环,中心含有 1 个镁离子;另一部分是 1 个脂肪烃

侧链,称为叶绿醇基,其游离态分子被称之为叶绿醇^[8](图 1)。在饲喂反刍动物青绿饲料后,叶绿素分子中的叶绿醇基与瘤胃内微生物发生作用,代谢释放出植烷酸分子^[9]。植烷酸作为一种天然的配体,是过氧化物酶活性受体的激活物,它不仅具有调节肝脏脂肪酸氧化等功能,还可以降低某些类型癌症的发生几率^[10-11],同时还具有缓解脂肪肝、糖尿病等功效^[12]。在反刍动物产品中,植烷酸含量是判定功能性产品价值的重要指标^[13],因此,饲喂反刍动物叶绿素或叶绿醇含量较高的粗饲料将有助于生产出高品质畜产品^[14]。

收稿日期: 2019-03-13

基金项目: 国家重点研发计划项目“山羊规模化高效安全养殖关键技术集成与示范”(2018YFD0501903); 2019 年中央级公益性科研院所基
本科研业务费专项(1630032019027); 海南省重大科技计划项目(ZDKJ2016017-03)

作者简介: 吕仁龙(1988—),男,吉林长春人,助理研究员,博士,主要从事反刍动物营养与生理代谢研究。E-mail: lvrenlong@aliyun.com

* 通信作者: 周汉林,研究员, E-mail: zhouhanlin8@163.com

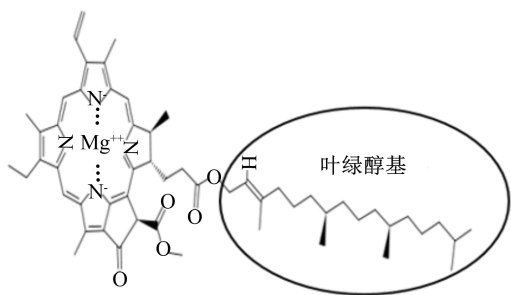


图1 叶绿素分子结构

Fig.1 Chlorophyll molecular structure

我国热带地区纬度低、光照强、牧草种类多、生物量大,这有助于高叶绿素含量牧草的生产^[15]。王草 [*Pennisetum purpureum* Schumacher × *Pennisetum glaucum* (Linnaeus) R. Brown] 是我国热带普及率较高的牧草,也是热带反刍动物粗饲料的重要来源,对热带畜牧业的发展具有重要意义。由于海南岛平均降雨量高,致使王草生长迅速,若在草高 2 m 左右时进行刈割,每年可刈割 8~10 次^[16]。由于王草营养价值变化难以通过其生育期判断,所以很多研究都通过王草的高度来反映它的成熟度和营养变化^[16-18]。研究表明,植物中叶绿素的含量受牧草品种、施肥标准以及刈割阶段等影响^[19]。此外,温度、日照、水分等对叶绿素的分解会产生影响。有研究表明,刈割后的黑麦草在自然干燥至水分含量为 70% 左右时,其叶绿素和叶绿醇含量没有显著下降,由此可见,高水分含量可以有效地减缓叶绿素的降解^[20]。因此,叶绿素或叶绿醇资源在制作牧草青贮时可以被很好的保存。然而到目前为止,未见关于王草中叶绿素含量变动规律的相关报道,所以探明王草中叶绿素和叶绿醇含量的变动机制,对热带地区生产高品质畜产品具有积极意义。鉴于此,本试验拟探究不同刈割高度王草中叶绿素和叶绿醇含量在青贮前后的变动规律,并解析王草青贮中叶绿素和叶绿醇含量与发酵指标、常规营养成分含量之间的关系,旨在为王草在反刍动物生产中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 王草栽培与样品采集

王草(热研4号)栽培于中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所附属实验基地饲用王草

栽培田(北纬 19° 109.5', 东经 109° 30', 海拔 149 m),自然条件下生长,试验田以充足水分灌溉。在试验田中划定 4 块试验区,每个区之间的直线距离在 15 m 以上,每个试验区平均分成 4 小区(共计 16 个小区),分别于 2018 年 2 月 28 日(草高 40~80 cm, T1)、3 月 16 日(草高 80~120 cm, T2)、3 月 29 日(草高 120~180 cm, T3)和 4 月 23 日(草高 180~220 cm, T4)对 4 个试验区中的 1 个小区进行刈割(留茬高度约为 5 cm)。首先对刈割的王草称重用于计算干物质(DM)生物量,再选定其中部分样品来测定茎叶比,然后将剩余样品切割至 2 cm 左右并混匀,在自然条件下风干 1 d 至水分含量为 80% 左右。取上述半干样品(水分含量约 80%)约 100 g 保存于 -20 °C,用于叶绿素和叶绿醇含量分析,另取 100 g 样品 65 °C 烘干,用于测定常规营养成分含量。

1.2 王草青贮制备

在每个试验小区中,取 200 g 上述水分含量约为 80% 的王草样品装入 30 cm × 20 cm 的聚乙烯青贮袋中,每个小区重复 2 次(共计 32 袋),用真空打包机(Sinbo, 上海)抽真空后密封,保存于暗室(室温 25~30 °C)储存发酵 60 d 后开封。开封后取约 50 g 样品保存于 -20 °C 用于叶绿素和叶绿醇含量分析,另取 50 g 样品 65 °C 干燥后用于测定常规营养成分含量。

1.3 样品分析

1.3.1 王草青贮发酵品质测定

王草青贮开封后,取 50 g 样品,切碎后加入 200 mL 蒸馏水,使样品置于液面之下,密封后放入 4 °C 冰箱静置保存 24 h,之后用 4 层纱布将汁液过滤,用雷磁 PHS-3C 精密 pH 计测定滤液的 pH^[21],然后将滤液倒入离心管,用离心机(Hermle, 美国)离心,设定转速 12 000 r/min,离心 5 min 后用 1 个 0.22 μm 微孔滤膜过滤至进样瓶,用高效液相色谱(HPLC)仪分析乳酸(LA)、乙酸(AA)、丙酸(PA)和丁酸(BA)含量。HPLC 设定条件为:色谱柱为 RP-18 色谱柱(5 μm, 4.6 mm × 25.0 mm),检测器为日立 Primaide 型紫外检测器,流动相为甲醇,流速为 1 mL/min,检测波长为 210 nm,进样体积为 10 μL。

青贮中挥发性盐基氮(VBN)的含量用微量扩散法分析。取 1 个康皿,在内皿加入 1 mL 硼酸指示剂(含有硼酸、甲基红、溴甲酚绿的乙醇溶

液),外皿加入 1 mL 离心后的青贮汁液和饱和碳酸钾(K_2CO_3)溶液(浓度为 52.5%),盖盖密封,使外皿的青贮汁液和碳酸钾溶液充分混合,保持挥发状态,静置 24 h 后,用滴定盐酸(0.01 mol/L)滴定^[22]。

1.3.2 常规营养成分含量测定

自然风干的王草和青贮王草中的 DM、粗蛋白质(CP)、粗脂肪(EE)和粗灰分(Ash)含量的测定参照 AOAC(1999)^[23]的方法进行;中性洗涤纤维(NDF)含量的测定按照 Van Soest 等^[24]的方法进行;非纤维性碳水化合物(NFC)含量的计算方法参照 NRC(2001)^[25]进行,计算公式为:

$$NFC = 100 - CP - Ash - EE - NDF。$$

1.3.3 叶绿素含量测定

参照 Porra 等^[26]的方法对青贮前后王草中叶绿素含量进行测定,具体操作如下:将冷冻的样品取出,用冷冻干燥机(Labconco,美国)冷冻干燥 72 h,充分研磨后,取样品约 50 mg,装入 50 mL 离心管,并加入 30 mL 80%丙酮水溶液,密封避光冷藏静置 24 h 后,用分光光度计(岛津,UV 2600,日本)分别在波长 663.6 和 646.6 nm 处测定吸光度(分别记为 $A_{663.6}$ 和 $A_{646.6}$),计算叶绿素 a 和叶绿素 b 含量,二者之和则为叶绿素含量。为反映出叶绿素与叶绿醇之间的关系,探明叶绿醇分子是否全部来源于叶绿素分子,将叶绿素和叶绿醇含量单位换算成摩尔含量后进行比较。

计算方法如下:

$$\text{叶绿素 a (g/kg DM)} = [(A_{663.6} \times 12.25 - 2.25 \times A_{646.6}) \times 30 / \text{样品重 (mg)} / (1\ 000 \times 1\ 000)] / [\text{样品 DM 含量 (\%)} / 100] ;$$

$$\text{叶绿素 b (g/kg DM)} = [(A_{646.6} \times 20.31 - 4.91 \times A_{663.6}) \times 30 / \text{样品重 (mg)} / (1\ 000 \times 1\ 000)] /$$

$$[\text{样品 DM 含量 (\%)} / 100] 。$$

1.3.4 叶绿醇含量测定

参照 Lv 等^[19]的方法对青贮前后王草中叶绿醇含量进行测定,具体操作如下:将上述 30 mL 的提取液加入 1 mL 的 1-十九烷醇内标液(0.25 mg/mL),充分混合,用于提取叶绿醇。采用配备 Rxi-5 毛细管柱(长度 30 m,内径 0.25 mm,薄膜厚度 0.25 mm;Restec,美国)的气相色谱仪(GC-7890A;Agilent Technologies,美国)进行测定,分析条件如下:喷油器温度为 250 °C,检测器温度为 340 °C,气体压力为 90 kPa,柱气流量为 1.05 mL/min。温度程序如下:60 °C 持续 1 min,然后以 30 °C/min 的速度增加到 160 °C,然后以 5 °C/min 的速度增加到 240 °C,最后以 20 °C/min 的速度增加到 320 °C。

1.4 统计分析

试验数据采用 SAS 9.2 软件^[27]进行统计分析,王草青贮前后常规营养成分、叶绿素、叶绿醇含量和王草青贮发酵指标采用单因素方差分析进行分析,以 $P < 0.05$ 作为差异显著性标准。采用 Excel 2013 分析王草青贮中叶绿素和叶绿醇含量与发酵指标、常规营养成分含量之间的关系。

2 结果与分析

2.1 不同刈割高度王草的 DM 生物量和茎叶比的比较

由表 1 可知,在 4 个刈割高度(T1~T4)下,王草的 DM 生物量随着刈割高度的增加显著升高($P < 0.05$),茎叶比在 T1~T4 组分别为 1.37、0.85、0.69 和 0.46,随着刈割高度的增加呈显著降低($P < 0.05$)。

表 1 不同刈割高度王草的干物质生物量和茎叶比的比较

Table 1 Comparison of DM biomass and leaf-to-stem ratio of king grass at different harvesting height heights

项目 Items	刈割高度 Harvesting height				SEM
	T1	T2	T3	T4	
干物质生物量 DM biomass/(t/ha)	6.2 ^d	9.9 ^c	13.6 ^b	19.7 ^a	0.16
茎叶比 Leaf-to-stem ratio	1.37 ^a	0.85 ^b	0.69 ^c	0.46 ^d	0.09

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。

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

2.2 不同刈割高度王草中常规营养成分、叶绿素和叶绿醇含量的比较

表 2 揭示了不同刈割高度王草中常规营养成分、叶绿素和叶绿醇含量的变化。在 4 个刈割高度(T1~T4)下,王草中 CP 和 Ash 含量随着刈割高度的增加显著降低($P<0.05$),NDF 和 NFC 含量

随着刈割高度的增加而显著增加($P<0.05$),EE 含量在 T1 组显著高于其他组($P<0.05$),T2 和 T3 组之间没有显著差异($P>0.05$)。在半干王草(水分含量约为 80%)中,叶绿素 a 和叶绿素 b 含量随着刈割高度的增加而显著降低($P<0.05$),叶绿素和叶绿醇含量也表现出了相同的变化趋势。

表 2 不同刈割高度王草中常规营养成分、叶绿素和叶绿醇含量的比较

Table 2 Comparison of the contents of common nutrients, chlorophyll and phytol in king grass at different harvesting heights

项目 Items	刈割高度 Harvesting height				SEM
	T1	T2	T3	T4	
常规营养成分 Common nutrients					
水分 Moisture/(g/kg FM)	79.9	80.8	81.8	78.7	0.57
粗蛋白质 CP/(g/kg DM)	211 ^a	192 ^b	176 ^c	130 ^d	1.15
中性洗涤纤维 NDF/(g/kg DM)	520 ^d	547 ^c	565 ^b	607 ^a	1.22
粗脂肪 EE/(g/kg DM)	28.0 ^a	25.1 ^b	25.6 ^b	22.2 ^c	0.09
粗灰分 Ash/(g/kg DM)	149 ^a	125 ^b	108 ^c	79 ^d	0.78
非纤维性碳水化合物 NFC/(g/kg DM)	92 ^d	111 ^c	125 ^b	162 ^a	1.11
叶绿素与叶绿醇 Chlorophyll and phytol					
叶绿素 a Chlorophyll a/(g/kg DM)	6.35 ^a	4.47 ^b	3.68 ^c	2.31 ^d	0.46
叶绿素 b Chlorophyll b/(g/kg DM)	2.11 ^a	1.31 ^b	0.93 ^c	0.72 ^d	0.24
叶绿素 Chlorophyll/(g/kg DM)	8.46 ^a	5.78 ^b	4.62 ^c	3.03 ^d	0.38
叶绿醇 Phytol/(g/kg DM)	3.12 ^a	1.90 ^b	1.52 ^c	1.18 ^d	0.11

2.3 不同刈割高度王草青贮中常规营养成分、叶绿素和叶绿醇含量变动的比较

表 3 揭示了不同刈割高度王草青贮中常规营养成分、叶绿素和叶绿醇含量的变化。青贮 60 d 后,王草青贮中 CP、NDF、EE 和 Ash 量随着刈割高度的增加的变化趋势与半干王草(水分含量约为 80%)中它们含量的变化趋势相同。此外,在青贮后王草中叶绿素大部分被分解,其含量较青贮前

明显降低,但残留的叶绿素仍然受到刈割高度的影响,王草青贮中叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素含量均随着刈割高度的增加显著降低($P<0.05$)。在青贮后王草中叶绿醇含量变动不大,在 4 个刈割高度王草青贮中的含量分别为 3.04、1.75、1.62 和 1.36 g/kg DM,随着刈割高度的增加显著降低($P<0.05$),与原料草(水分含量约为 80%的半干王草)中叶绿醇含量的变化趋势相同。

表 3 不同刈割高度王草青贮中常规营养成分、叶绿素和叶绿醇含量变动的比较

Table 3 Comparison of the contents of common nutrients, chlorophyll and phytol in king grass silage at different harvesting heights

项目 Items	刈割高度 Harvesting height				SEM
	T1	T2	T3	T4	
常规营养成分 Common nutrients					
水分 Moisture/(g/kg FM)	80.9	83.4	83.2	83.7	0.62
粗蛋白质 CP/(g/kg DM)	195 ^a	178 ^b	162 ^c	130 ^d	0.91
中性洗涤纤维 NDF/(g/kg DM)	444 ^d	477 ^c	520 ^b	591 ^a	1.01
粗脂肪 EE/(g/kg DM)	28.3 ^a	27.0 ^b	25.8 ^c	21.2 ^d	0.16

续表 3

项目 Items	刈割高度 Harvesting height				SEM
	T1	T2	T3	T4	
粗灰分 Ash/(g/kg DM)	126 ^a	110 ^b	99 ^c	77 ^d	0.58
非纤维性碳水化合物 NFC/(g/kg DM)	209 ^a	207 ^a	195 ^b	183 ^c	1.24
叶绿素与叶绿醇 Chlorophyll and phytol					
叶绿素 a Chlorophyll a/(g/kg DM)	1.87 ^a	1.42 ^b	1.14 ^c	0.72 ^d	0.77
叶绿素 b Chlorophyll b/(g/kg DM)	0.14 ^a	0.15 ^b	0.11 ^c	0.09 ^d	0.04
叶绿素 Chlorophyll/(g/kg DM)	2.01 ^a	1.57 ^b	1.25 ^c	0.51 ^d	0.35
叶绿醇 Phytol/(g/kg DM)	3.04 ^a	1.75 ^b	1.62 ^c	1.36 ^d	0.44

2.4 不同刈割高度王草青贮前后叶绿素和叶绿醇含量变动的比较

根据王草和王草青贮中叶绿素和叶绿醇含量计算出了王草和王草青贮中叶绿素和叶绿醇的摩尔含量,列于表 4。通过计算可知,青贮后,4 个刈割高度的王草中叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素的分解

率分别约为 70%、90%、74%;然而,在 T1~T4 组中,王草青贮前后的叶绿醇含量比值分别为 0.97、0.92、1.07 和 1.15,并且组间没有显著差异 ($P > 0.05$),这证明了叶绿醇可以在青贮过程中被较好地保存。

表 4 不同刈割高度王草青贮前后叶绿素和叶绿醇含量变动的比较

Table 4 Comparison of the changes of chlorophyll and phytol contents in king grass at different harvesting heights before and after ensiling

项目 Items	刈割高度 Harvesting height				SEM
	T1	T2	T3	T4	
王草 King grass					
叶绿素 a Chlorophyll a/(mmol/kg DM)	7.11 ^a	5.00 ^b	4.12 ^c	2.59 ^d	0.51
叶绿素 b Chlorophyll b/(mmol/kg DM)	2.36 ^a	1.47 ^b	1.04 ^c	0.81 ^d	0.29
叶绿素 Chlorophyll/(mmol/kg DM)	9.47 ^a	6.47 ^b	5.16 ^c	3.39 ^d	0.42
叶绿醇 Phytol/(mmol/kg DM)	10.54 ^a	6.42 ^b	5.14 ^c	3.99 ^d	0.17
王草青贮 King grass silage					
叶绿素 a Chlorophyll a/(mmol/kg DM)	2.09 ^a	1.59 ^b	1.28 ^c	0.81 ^d	0.82
叶绿素 b Chlorophyll b/(mmol/kg DM)	0.15 ^a	0.17 ^a	0.12 ^b	0.10 ^b	0.09
叶绿素 Chlorophyll/(mmol/kg DM)	2.25 ^a	1.76 ^b	1.40 ^c	0.91 ^d	0.42
叶绿醇 Phytol/(mmol/kg DM)	10.27 ^a	5.91 ^b	5.47 ^c	4.59 ^d	0.51
王草/王草青贮 King grass/king grass silage					
叶绿素 a Chlorophyll a	0.29	0.32	0.31	0.31	0.09
叶绿素 b Chlorophyll b	0.07	0.11	0.12	0.13	0.06
叶绿素 Chlorophyll	0.24	0.27	0.27	0.27	0.08
叶绿醇 Phytol	0.97	0.92	1.07	1.15	0.04

2.5 不同刈割高度王草青贮的发酵指标

表 5 显示了不同刈割高度王草青贮的发酵指标。T1、T2、T4 组的乳酸含量没有显著差异 ($P > 0.05$),但 T1 组的乙酸含量显著高于其他组 ($P < 0.05$)。T3 组中产生了最多的乳酸 (3.46 g/kg DM)、最少的乙酸 (0.61 g/kg DM) 和最低的 pH

(3.62),表现了优异的发酵品质。对数据进一步分析后发现,王草青贮中叶绿醇含量与 CP 含量呈显著的正相关关系 ($R^2 = 0.74$,图 2),叶绿素和叶绿醇含量与发酵指标 (pH、挥发性脂肪酸与挥发性盐基氮含量)没有统计学关联 (R^2 均小于 0.4,表 6)。

表 5 不同刈割高度王草青贮的发酵指标

Table 5 Fermentation indexes of king grass silage at different harvesting heights

项目 Items	刈割高度 Harvesting height				SEM
	T1	T2	T3	T4	
pH	3.91 ^a	3.86 ^b	3.62 ^c	3.95 ^a	0.22
乳酸 Lactic acid/(g/kg DM)	2.04 ^b	1.93 ^b	3.46 ^a	2.07 ^b	0.19
乙酸 Acetic acid/(g/kg DM)	8.26 ^a	6.70 ^b	0.61 ^d	4.31 ^c	0.48
丙酸 Propanoic acid/(g/kg DM)	0.15 ^a	0.21 ^a	0.02 ^b	0.12 ^a	0.02
丁酸 Butyrate/(g/kg DM)	0.41 ^a	0.41 ^a	0.26 ^b	0.23 ^b	0.03
挥发性盐基氮 VBN/%	5.84 ^a	5.44 ^c	5.67 ^b	5.94 ^a	0.64

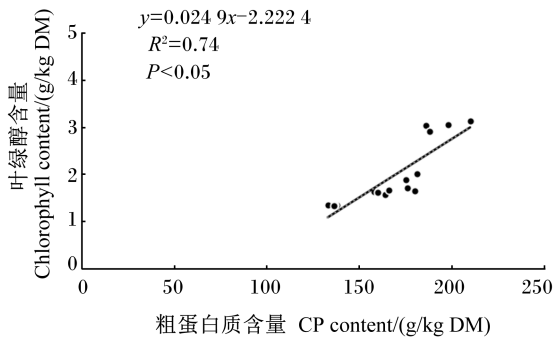


图 2 青王草贮中粗蛋白质与叶绿醇含量的关系

Fig.2 Relationship between crude protein and chlorophyll content in king grass silage

3 讨论

王草是海南地区的重要饲料作物,具有生长

迅速、产量大、易青贮等特征^[28]。本试验中我们测量了 4 个刈割高度王草的 DM 生物量,发现此生物量与曹启民等^[29]的调查结果相近。根据叶绿素含量,计算出 4 个刈割高度王草叶绿素产量分别是 52.1、57.2、63.1 和 50.7 kg/ha DM。尽管 T1 组中王草叶绿素含量较高,但叶绿素产量却是 T3 组最高,而且该组王草 CP 和 NDF 含量也较高,综合评定其常规营养成分、叶绿素含量和 DM 生物量,发现在 120~180 cm 高度(T3 组)下刈割王草具有更高的饲用价值。在 T4 组中,叶绿素含量表现为最低,叶绿素的主要由土壤中的氮和磷 P 元素合成^[30-31],但土壤中的氮元素有限,可能在草高 180 cm 以上时没有充足的氮源再进一步合成叶绿素,因此,在未来研究中,有必要结合土壤养分和光照数据进一步探讨。

表 6 王草青贮中叶绿素和叶绿醇含量与青贮发酵指标的相关系数

Table 6 Correlation coefficients between chlorophyll and phytol contents and fermentation indexes in king grass silage

项目 Items	叶绿素 Chlorophyll	叶绿醇 Phytol
pH	0.002	0.051
乳酸 Lactic acid	0.001	0.007
乙酸 Acetic acid	0.272	0.365
丙酸 Propanoic acid	0.116	0.391
丁酸 Butyrate	0.249	0.111
挥发性盐基氮 VBN	0.221	0.020

本试验结果表明王草刈割高度显著影响了其常规营养成分、叶绿素和叶绿醇含量,这个结论在其他研究^[19,32]中已得到验证。Lv 等^[19]对黑麦草中叶绿素含量进行了检测,但无论早期刈割(草高约 40 cm)还是晚期刈割(草高 70~80 cm),其含量都显著低于草高 40~80 cm 王草。尽管二者栽

培条件不同,但这也可以间接证明热带地区低纬度环境有助于牧草合成叶绿素^[15]。研究发现,在相同刈割高度条件下,王草中叶绿素含量为黑麦草中的 2 倍以上^[20]。随着刈割高度的不断增加,王草中叶绿素的含量逐渐降低,相比 T1 组,T4 组王草中叶绿素和叶绿醇含量降低了 2 倍以上,可

见刈割高度对叶绿素和叶绿醇含量的影响是较大的。研究表明,植物色素主要存在于植物叶片中^[33-34],本试验也检测了不同刈割高度王草在DM基础上的茎叶比,即叶/茎,这间接反映了王草中叶绿素含量的变动规律(表1),即:随着王草刈割高度的增加,叶片比例逐渐降低,王草植株单位叶绿素含量被稀释。经过60d的青贮,所有的发酵袋均没有发生破损情况。随着王草刈割高度的增加,王草青贮中常规营养成分含量的变化趋势与半干王草(水分含量约为80%)相同,但是CP和NDF含量相比半干王草(水分含量约为80%)有降低趋势,这可能是由于本试验中王草水分含量较高,使一些营养成分伴随发酵汁液流失^[35]。在不同刈割高度的王草青贮中,叶绿素大部分被分解,残留的叶绿素也受到刈割高度的影响,即随着刈割高度的增加而显著降低。在T1~T4组王草的青贮过程中,叶绿素的分解率几乎相同(表4)。通过计算,王草青贮后,约有74%的叶绿素被分解,但是黑麦草青贮则约为80%(青贮方法与保存方法与本试验相同)^[19],由此可见,不同牧草品种影响叶绿素的分解程度;此外,本试验结果显示了在王草青贮中有少量叶绿素b存在,但在黑麦草青贮中几乎检测不到叶绿素b^[19]。王草青贮中叶绿醇含量与半干王草(水分含量约为80%)相近(表3、表4),可见王草中叶绿醇在青贮过程中被完好的保存,这个现象也与本课题组之前的研究结果^[19]相同。Lv等^[19]研究发现,在黑麦草中,叶绿醇含量高于叶绿素含量,这可能是由于部分叶绿醇分子来自叶绿素以外的某些长链脂肪酸^[36]。但是在本研究中,我们无法确定这一现象,这或许也和牧草的品种、脂肪酸组成等有关。此外,王草青贮中叶绿醇含量与CP含量呈现了线性关系($y=0.0249x-2.2224$, $R^2=0.74$;图2),因此,可以通过王草青贮中CP含量而间接推测其叶绿醇含量,这个现象与Lv等^[19]研究结果基本一致。

多个研究已表明不同刈割高度牧草青贮具有不同的发酵品质^[37-38]。本研究结果表明,不同的刈割高度导致了王草中NFC含量的差异,进而导致王草青贮中有机酸含量的不同。在不同刈割高度的4个组中,以T3组乳酸含量最高,乙酸含量最低,呈现了最好的发酵品质(表5),这与张英等^[39]的研究结果相同;此外,乳酸含量增加可有效降低pH^[40],这在本试验中也得到再次验证。T1

组中乙酸含量最高,但并不清楚这一现象的原因,我们猜测可能是由于原料草较高水分含量和较早生育期共同作用的结果,在下一步研究中,将继续观察该现象。尽管不同的刈割高度导致了王草发酵品质(挥发性脂肪酸和挥发性盐基氮含量)存在较为明显的差异,但是经过统计分析后,没有观察到其含量变动与叶绿醇保存、叶绿素分解之间的统计学关系,因此,发酵品质可能并不影响叶绿素在青贮过程中的变化。

4 结论

王草中叶绿素和叶绿醇含量随着刈割高度的增加而显著降低;在青贮后,王草中约有74%的叶绿素被分解,但叶绿醇则在青贮过程中被良好保存;此外,王草青贮中叶绿素与叶绿醇含量与发酵品质没有显著相关性,但叶绿醇含量与CP含量呈正相关。

参考文献:

- [1] MARTIN B, CORNU A, KONDJAYAN N, et al. Milk indicators for recognizing the types of forages eaten by dairy cows[M]//HOCQUETTE J F, GIGLI S. Indicators of milk and beef quality. Wageningen: EAAP Publication, 2005.
- [2] HELLGREN L I. Phytanic acid—an overlooked bioactive fatty acid in dairy fat? [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2010, 1190(1): 42-49.
- [3] SCHRÖDER M, YOUSEFI F, VETTER W. Investigating the day-to-day variations of potential marker fatty acids for organic milk in milk from conventionally and organically raised cows[J]. European Food Research and Technology, 2011, 232(1): 167-174.
- [4] CHEW B P, WONG M W, WONG T S. Effects of lutein from marigold extract on immunity and growth of mammary tumors in mice[J]. Anticancer Research, 1996, 16(6B): 3689-3694.
- [5] JENSEN S K, JOHANNSEN A K B, HERMANSEN J E. Quantitative secretion and maximal secretion capacity of retinol, β -carotene and α -tocopherol into cows' milk[J]. Journal of Dairy Research, 1999, 66(4): 511-522.
- [6] DEWHURST R J, SCOLLAN N D, LEE M R F, et al. Forage breeding and management to increase the beneficial fatty acid content of ruminant products[J]. Proceedings of the Nutrition Society, 2003, 62(2): 329-336.

- [7] WANDERS R J A, KOMEN J, FERDINANDUSSE S. Phytanic acid metabolism in health and disease [J]. *Biochimica et Biophysica Acta; Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2011, 1811 (9) : 498-507.
- [8] 吴志强, 周韦. 叶绿素的类别概述 [J]. *生物学通报*, 2014, 49 (9) : 12-14.
- [9] SCHRÖDER M, VETTER W. GC/EI-MS determination of the diastereomer distribution of phytanic acid in food samples [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2011, 88 (3) : 341-349.
- [10] KWAN H Y, CHAO X J, SU T, et al. Dietary lipids and adipocytes: potential therapeutic targets in cancers [J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2015, 26 (4) : 303-311.
- [11] WRIGHT M E, ALBANES D, MOSER A B, et al. Serum phytanic and pristanic acid levels and prostate cancer risk in Finnish smokers [J]. *Cancer Medicine*, 2014, 3 (6) : 1562-1569.
- [12] GRIMALDI P A. Peroxisome proliferator-activated receptors as sensors of fatty acids and derivatives [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2007, 64 (19/20) : 2459-2464.
- [13] VETTER W, SCHRÖDER M. Concentrations of phytanic acid and pristanic acid are higher in organic than in conventional dairy products from the German market [J]. *Food Chemistry*, 2010, 119 (2) : 746-752.
- [14] BAARS T. Milk consumption, raw and general, in the discussion on health or hazard [J]. *Journal of Nutritional Ecology and Food Research*, 2013, 1 (2) : 91-107.
- [15] 吕仁龙, 李茂, 胡海超, 等. 叶绿素在反刍动物饲养中应用的研究进展 [J]. *动物营养学报*, 2019, 31 (2) : 509-514.
- [16] 李茂, 字学娟, 白昌军, 等. 不同生长高度王草瘤胃降解特性研究 [J]. *畜牧兽医学报*, 2015, 46 (10) : 1806-1815.
- [17] DONG C F, SHEN Y X, DING C L, et al. The feeding quality of rice (*Oryza sativa* L.) straw at different cutting heights and the related stem morphological traits [J]. *Field Crops Research*, 2013, 141 : 1-8.
- [18] NURFETA A, EIK LO, TOLERA A, et al. Chemical composition and in sacco dry matter degradability of different morphological fractions of 10 enset (*Ensete ventricosum*) varieties [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2008, 146 (1/2) : 55-73.
- [19] LV R L, EL-SABAGH M, OBITSU T, et al. Effects of nitrogen fertilizer and harvesting stage on photosynthetic pigments and phytol contents of Italian ryegrass silage [J]. *Animal Science Journal*, 2017, 88 (10) : 1513-1522.
- [20] LV R L, EL-SABAGH M, OBITSU T, et al. Effects of nitrogen fertilization levels and wilting periods on chemical composition and chlorophyll content of Italian ryegrass harvested at different stages [C] // Proceedings of the 5th China-Japan-Korea Grassland Conference. Changchun, China: Chinese Grassland Society, 2014.
- [21] CAI Y M, BENNO Y, OGAWA M, et al. Effect of applying lactic acid bacteria isolated from forage crops on fermentation characteristics and aerobic deterioration of silage [J]. *Journal of Dairy Science*, 1999, 82 (3) : 520-526.
- [22] Japan Grassland Agriculture and Forage Seed Association. Guide book for quality evaluation of forage [M]. Tokyo: Japanese Society of Grassland Science, 2001: 1-196.
- [23] AOAC. Official methods of analysis of AOAC international [S]. 16th ed. Gaithersburg, MD: AOAC International, 1998.
- [24] 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.
- [25] NRC. Nutrient requirements of dairy cattle [S]. 7th ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001.
- [26] PORRA R J, THOMPSON W A, KRIEDEMANN P E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy [J]. *Biochimica et Biophysica Acta; Bioenergetics*, 1989, 975 (3) : 384-394.
- [27] Statistical Analysis System (SAS). SAS/STAT[®] 9.1 user's guide [M]. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2004.
- [28] 刘国道. 热带牧草栽培学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- [29] 曹启民, 张永北, 王博, 等. 刈割和施肥对热研 4 号王草生物量影响初报 [J]. *广东农业科学*, 2018, 45 (10) : 50-54.
- [30] 于丰鑫, 石玉, 赵俊晔, 等. 土壤肥力对高产小麦品种烟农 1212 旗叶叶绿素荧光特性和产量的影响 [J]. *麦类作物学报*, 2018, 38 (10) : 1222-1228.
- [31] 付国为, 王凡坤, 赵云, 等. 土壤氮磷化学计量特征对

- 小麦光合气体交换参数和叶绿素荧光参数的影响 [J]. 西北植物学报, 2016, 36(7):1435-1442.
- [32] KING C, MCENIRY J, RICHARDSON M, et al. Silage fermentation characteristics of grass species grown under two nitrogen fertilizer inputs and harvested at advancing maturity in the spring growth [J]. Grassland Science, 2013, 59(1):30-43.
- [33] OLSSON N, ÅKERBERG E, BLIXT B. Investigations concerning formation, preservation and utilization of carotene [J]. Acta Agriculturae Scandinavica, 1955, 5(1):113-184.
- [34] THAFVELIN B, OKSANEN H E. Vitamin E and linolenic acid content of hay as related to different drying conditions [J]. Journal of Dairy Science, 1966, 49(3):282-286.
- [35] 刘荣林. 饲料青贮时的损失 [J]. 草与畜杂志, 1987(5):34-36.
- [36] PEISKER C, DÜGGELIN T, RENTSCH D, et al. Phytol and the breakdown of chlorophyll in senescent leaves [J]. Journal of Plant Physiology, 1989, 135(4):428-432.
- [37] NEYLON J M, KUNG L, Jr. Effects of cutting height and maturity on the nutritive value of corn silage for lactating cows [J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86(6):2163-2169.
- [38] JOHNSON L M, HARRISON J H, DAVIDSON D, et al. Corn silage management: effects of hybrid, chop length, and mechanical processing on digestion and energy content [J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86(1):208-231.
- [39] 张英, 周汉林, 刘国道, 等. 不同含水量对不同生长时期的王草青贮品质的影响 [J]. 家畜生态学报, 2013, 34(7):39-43.
- [40] CAO Y, CAI Y, TAKATASHI T, et al. Effect of lactic acid bacteria inoculant and beet pulp addition on fermentation characteristics and *in vitro* ruminal digestion of vegetable residue silage [J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94:3902-3912.

Changes of Chlorophyll and Phytol Contents in Different Harvesting Height King Grass before and after Ensiling

LYU Renlong¹ HU Haichao¹ ZHANG Xingbo² LI Mao¹ WANG Dingfa¹ ZHOU Hanlin^{1*}

(1. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou 571737, China; 2. Institute of Tropical Agriculture and Forestry Sciences, Hainan University, Danzhou 571700, China)

Abstract: The aims of this study were to explore the changes of chlorophyll and phytol contents in king grass [*Pennisetum purpureum* Schumacher×*Pennisetum glaucum* (Linnaeus) R. Brown] before and after ensiling which was harvested at different heights, and to investigate the relation between the chlorophyll and phytol contents and fermentation quality in king grass silage. For the study, four experimental fields were prepared and each experimental field consisted of four plots. The king grass from one of the four plots was harvested at the height of 50 to 80 cm (T1), 80 to 120 cm (T2), 120 to 180 cm (T3) and 180 to 220 cm (T4), respectively. Normally, the king grass was naturally dried to be about 80% moisture, then cut to 2 cm and fermented for 60 days for preparing the silage. pH and the contents of organic acids, nutrients, chlorophyll and phytol were tested after unsealing, respectively, in addition, their change conditions before and after ensiling were also analyzed. The results showed that before or after ensiling, chlorophyll and phytol contents decreased significantly with the increase of harvesting height of king grass. After ensiling, about 74% chlorophyll was decomposed in the king grass silage, however, phytol content hardly changed. Although significantly differences existed in organic acid contents in king grass silage at different harvesting heights ($P<0.05$), the relations between the chlorophyll and phytol contents and fermentation indexes (pH, the contents of lactic acid, lactic acid, propionic acid and butyric acid) were not found in king grass silage. In summary, phytol can be preserved well during ensiling, and there is no relation between phytol content and fermentation quality in king grass silage. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(9):4208-4217]

Key words: king grass; harvesting height; silage; chlorophyll; phytol