

DOI:10.11686/cyxb2021326

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

田吉鹏, 刘蓓一, 顾洪如, 等. 乳酸菌及丙酸钙对全株玉米和燕麦青贮饲料发酵品质和霉菌毒素含量的影响. 草业学报, 2022, 31(8): 157—166.

TIAN Ji-peng, LIU Bei-yi, GU Hong-ru, *et al.* Effects of lactic acid bacteria and calcium propionate on fermentation quality and mycotoxin contents of whole plant maize and oat silages. Acta Prataculturae Sinica, 2022, 31(8): 157—166.

乳酸菌及丙酸钙对全株玉米和燕麦青贮饲料 发酵品质和霉菌毒素含量的影响

田吉鹏^{1,2}, 刘蓓一^{1,2}, 顾洪如^{1,2}, 丁成龙^{1,2*}, 程云辉^{1,2}, 玉柱³

(1. 江苏省农业科学院畜牧研究所, 江苏 南京 210014; 2. 农业农村部种养殖结合重点实验室, 江苏 南京 210014; 3. 中国农业大学草业科学与技术学院, 北京 100193)

摘要:为研究乳酸菌及丙酸钙对全株玉米和燕麦青贮饲料发酵品质、营养品质、微生物数量、霉菌毒素含量及有氧稳定性的影响,利用蒸馏水(CK组)、复合乳酸菌(LAB组,添加量为 5×10^5 CFU·g⁻¹鲜样)、丙酸钙(PACA组,添加量为鲜草重的0.4%)以及乳酸菌和丙酸钙复合(LAB+PACA)分别添加进全株玉米和燕麦原料中青贮120 d。结果表明:全株玉米青贮饲料发酵品质优良而萎蔫后的燕麦青贮丁酸和氨态氮含量较高。添加剂在不同青贮饲料中表现不同。所有添加剂均显著提高了燕麦青贮饲料的乳酸和乙酸含量,降低了pH值、氨态氮、丁酸含量和酵母菌数量($P < 0.05$)。而PACA和LAB+PACA组则显著提高了玉米青贮饲料中的淀粉和可溶性碳水化合物含量和有氧稳定性并且降低了霉菌和酵母菌数量($P < 0.05$)。LAB和LAB+PACA的使用有效降低了玉米青贮饲料中的黄曲霉毒素B1含量($P < 0.05$)。在两种青贮饲料中丙酸含量只有PACA和LAB+PACA组能够显著增加。因此,添加剂尤其是LAB+PACA的复合添加对于提高玉米和燕麦青贮饲料的青贮品质和安全性具有重要作用。

关键词:乳酸菌;丙酸钙;全株玉米青贮;燕麦青贮;霉菌毒素

Effects of lactic acid bacteria and calcium propionate on fermentation quality and mycotoxin contents of whole plant maize and oat silages

TIAN Ji-peng^{1,2}, LIU Bei-yi^{1,2}, GU Hong-ru^{1,2}, DING Cheng-long^{1,2*}, CHENG Yun-hui^{1,2}, YU Zhu³

1. Institute of Animal Science, Jiangsu Academy of Agricultural Science, Nanjing 210014, China; 2. Key Laboratory of Crop and Animal Integrated Farming, Ministry of Agriculture, Nanjing 210014, China; 3. College of Grassland Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

Abstract: This study evaluated the effects of compound lactic acid bacteria inoculants and calcium propionate on the fermentation quality, chemical composition, microbial counts, mycotoxin contents and aerobic stability of whole plant maize and oat silages. The two forages, whole plant maize and oats, were ensiled for 120 days in an experiment with four treatments: a control treatment (CK), addition of compound lactic acid bacteria (LAB treatment), addition of calcium propionate (PACA treatment) and addition of a combination of LAB and PACA. The application rates of LAB and PACA group were separately 5×10^5 CFU·g⁻¹ and 0.4% of the fresh material. It was found that the fermentation quality of maize silages was very good while for oat silages the butyric acid and

收稿日期:2021-08-30;改回日期:2021-10-08

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金项目[CX(20)3156]和农业农村部农牧交错带优质青粗饲料资源开发利用技术集成示范项目(16200157)资助。

作者简介:田吉鹏(1987-),男,山东烟台人,助理研究员,博士。E-mail: tianjipeng2231@163.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: dingcl@jaas.ac.cn

ammonia nitrogen contents were very high after storage. The effects of the additives on the silage quality of whole plant corn and oat silages were varied. All additives significantly increased the lactic acid and acetic acid contents and decreased the pH value, butyric acid, ammoniac nitrogen contents and yeast counts of oat silages ($P < 0.05$). While the PACA and LAB+PACA treatments showed better aerobic stability, significantly increased starch and soluble carbohydrate contents and decreased the mould and yeast counts of the whole plant maize silage ($P < 0.05$). The aflatoxin B1 content was reduced by the LAB and LAB+PACA treatments only in the maize silage ($P < 0.05$). The propionic acid content was only increased by the PACA and LAB+PACA treatments, but this effect was seen in both the whole plant maize and oat silages. Therefore, the combination of LAB and PACA treatments provides an important improvement in silage quality for whole plant maize and oat silages.

Key words: lactic acid bacteria; calcium propionate; whole plant maize silage; oat silage; mycotoxin

玉米(*Zea mays*)和燕麦(*Avena sativa*)均为一年生禾本科植物,产量和营养价值高,抗性强,是我国反刍动物主要的粗饲料来源^[1]。在我国,全株玉米主要以制作全株玉米青贮饲料为主。而燕麦主要通过田间晾晒制作干草,但是在多雨季节仍可能会受到雨水影响而腐烂发霉,因此通过调制青贮亦是有效保存燕麦营养成分的重要技术。

全株玉米具有丰富的可溶性碳水化合物和较低的缓冲能值,不需要添加剂也能发酵良好。但是有氧暴露后酵母菌和霉菌等快速繁殖容易造成有氧腐败从而导致饲料安全问题如霉菌和霉菌毒素污染^[2]。燕麦因含水量及缓冲能值较高而且可溶性碳水化合物含量较低等问题,单独青贮成功率较低,为此需要添加添加剂及适当的萎蔫^[3]处理才能保证青贮成功。添加合适的添加剂能够有效改善青贮饲料的发酵品质、抑制有害微生物生长与增殖、保存营养物质、降低青贮饲料中霉菌毒素含量。目前常用的添加剂主要有复合乳酸菌添加剂以及有机酸盐等^[4]。复合乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)添加剂能够有效提高青贮饲料发酵品质和有氧稳定性^[5]。丙酸盐能够提高青贮饲料的丙酸含量,抑制丁酸梭菌、霉菌和酵母菌等有害微生物生长,从而提高青贮饲料的发酵品质和有氧稳定性^[6]。目前全株玉米青贮多集中于镰刀弯地区,而燕麦多在青海、西藏、内蒙古、东北等地区^[7]。相对而言我国长江淮河流域全株玉米和燕麦青贮对于抑制有氧腐败问题和霉菌毒素污染的需求更为迫切,但相关乳酸菌和丙酸盐的复合添加剂研发较少。目前本课题组自主研发的乳酸菌复合添加剂能够有效提高稻秸(*Oryza sativa*)和大麦(*Hordeum vulgare*)等青贮饲料的发酵品质^[8-9],但是在燕麦和玉米青贮饲料中尚未验证过。鉴于全株玉米和燕麦在我国反刍动物粗饲料的占比较大,因此有必要研究复合乳酸菌添加剂及丙酸盐对本地全株玉米和燕麦青贮饲料的发酵效果。本研究通过乳酸菌制剂及丙酸盐在全株玉米和燕麦青贮饲料中复合利用,分析添加剂对两种青贮饲料发酵品质、微生物数量、营养品质、有氧稳定性和霉菌毒素含量的影响,探讨适合本地全株玉米和燕麦青贮饲料的添加剂组合,为全株玉米燕麦青贮饲料加工和利用提供科学依据和技术依托。

1 材料与方法

1.1 试验材料

全株玉米来源于江苏省农业科学院六合实验基地,2019年9月蜡熟期收获,留茬高度5 cm,收获后立即粉碎成2~3 cm的小段。燕麦来自盐城大丰鼎旺饲料有限公司,2019年6月乳熟期收割后作为试验材料,留茬高度5 cm,收获后粉碎成2~3 cm小段然后置于阴凉处萎蔫4 h。复合乳酸菌由江苏省农业科学院畜牧所自主研发,主要包括植物乳杆菌、布氏乳杆菌和副干酪乳杆菌菌种(各菌添加比例为2:1:1),总体添加量为 5×10^5 CFU·g⁻¹。采用试剂级丙酸钙(calcium propionate, PACA, 4075-81-4),购自上海源叶生物科技有限公司。

1.2 试验设计

利用双因素完全随机设计开展试验,全株玉米和燕麦原料分别用蒸馏水(CK组),复合乳酸菌(LAB组),丙酸钙(PACA),复合乳酸菌及丙酸钙(LAB+PACA组)进行处理,每个处理3个重复。其中乳酸菌添加量为 5×10^5 CFU·g⁻¹鲜样,丙酸钙添加量为鲜样的0.4%。

将全株玉米用汽油粉碎机(CX20,日照洋工园林机械有限公司)均匀切割为2~3 cm的小段并混合均匀,燕麦采用饲料公司的大型收割粉碎一体机(JAGUAR900,德国克拉斯农机公司)直接进行粉碎后取样。将乳酸菌制剂加入6 mL灭菌脱脂奶粉溶液中室温活化2 h,加入适量水(60 mL)溶解均匀喷洒进青贮料中。称取12 g丙酸钙溶于60 mL蒸馏水中。每个处理3个重复,每个重复3.0 kg,分别均匀喷洒60 mL的乳酸菌菌悬液或者丙酸钙浑浊液,CK组加入等量60 mL蒸馏水,然后装入大号青贮袋中抽真空密封。全部处理完成后放入储藏室中遮光储存120 d。开封后将3.0 kg青贮料利用五分法取约500 g用于发酵、微生物和营养品质的测定,剩下2.5 kg装入5 L塑料桶中用于有氧稳定性的测定。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 发酵品质测定 开封后取混合均匀后的青贮料20 g,加入180 mL水后放入4℃冰箱中浸提24 h,然后用4层纱布和定性滤纸过滤,得到浸提液保存于-20℃冰箱中,用于后期pH值、氨态氮和有机酸含量的测定。采用玻璃电极pH计(FE20,瑞士梅特勒-托利多集团)测量pH值。参考许庆方等^[10]的方法采用高效液相色谱仪(1260,美国安捷伦科技有限公司)测定乳酸、乙酸、丙酸和丁酸的含量。色谱条件如下:色谱柱:Shodex RSpak KC-811S-DVB gel C (8.0 mm×30 cm,日本岛津公司),进样体积5 μ L,流动相为3 mmol·L⁻¹ HClO₄,流速为1 mL·min⁻¹,柱温为60℃,检测波长为210 nm,运行时间20 min。采用苯酚一次氯酸钠法测定氨态氮含量^[11],最后计算氨态氮占总氮的比值。

1.3.2 微生物数量测定 另取混合均匀的20 g新鲜样品加入180 mL灭菌生理盐水,振荡混匀30 min后用于乳酸菌、酵母菌和霉菌的测定。提取液在超净工作台中进行梯度稀释后用MRS培养基(北京路桥)37℃恒温培养48 h后进行乳酸菌的计数,用孟加拉红培养基28℃恒温培养3~7 d进行霉菌和酵母菌的计数。

1.3.3 营养品质测定 取300 g样品放在105℃烘箱中杀青15 min,然后65℃烘干约48 h至恒重,称重计算干物质含量(dry matter, DM),烘干后样品粉碎过1 mm筛用于营养价值的检测。采用凯氏定氮法检测总氮(total nitrogen, TN)含量^[12],以TN×6.25进行计算粗蛋白含量,采用范氏法^[12-13]测定中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量(Ankom200i纤维检测仪,美国Ankom科技有限公司),采用蒽酮比色法测定可溶性碳水化合物含量^[14],采用高氯酸-蒽酮比色法测定淀粉含量^[15]。

1.3.4 有氧稳定性测定 取2.5 kg青贮料松散放入5 L青贮桶中,在青贮料中心部位安装温度记录仪(MDL-1048A,中国上海天河自动化仪表有限公司)温度传感探头,然后用纱布覆盖桶口后在室温条件下进行有氧稳定性的测定。每小时记录各个青贮桶中的温度1次,将每次青贮桶中温度值与室温值相减制作温差 Δt 的动态变化图(图1),以 Δt 超过2℃的时间记为该重复的有氧稳定性时间(h)。

1.3.5 霉菌毒素测定 青贮饲料开封后每个重复立即取两份各50 g鲜样在-20℃条件下进行单独保存,并尽快用于霉菌毒素的检测。采用ELISA检测试剂盒(北京中检维康生物技术有限公司)检测黄曲霉毒素B1含

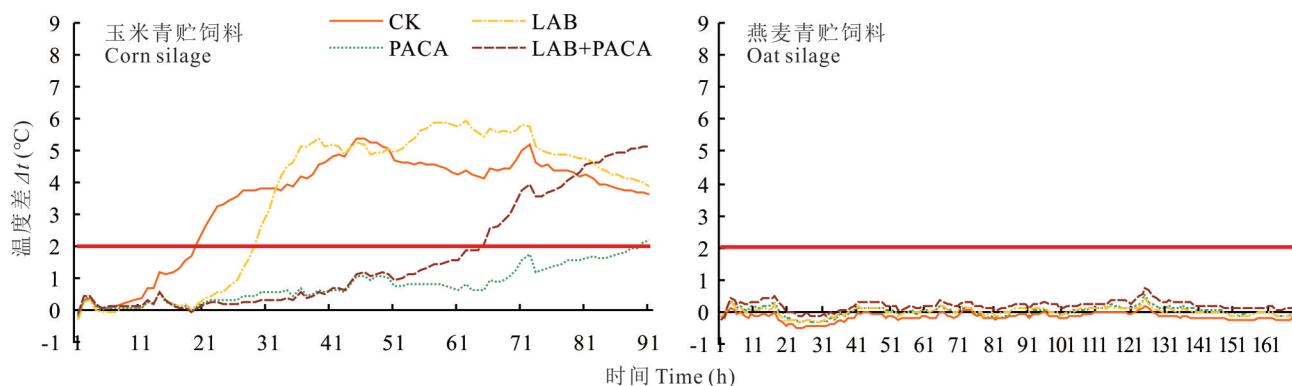


图1 玉米和燕麦青贮饲料有氧暴露期间温度差 Δt (样品温度-室温)变化

Fig. 1 Curve of Δt (temperature difference between sample temperature and room temperature) during aerobic exposure of corn and oat silages

量,采用ELISA检测试剂盒(北京华安麦科生物技术有限公司)检测玉米赤霉烯酮含量,在酶标板微孔条上预包抗原,样本中相应毒素和此抗原竞争抗体,酶标二抗催化TMB底物显色,样本吸光值与其含有的相应毒素呈负相关,与标准曲线比较得出样品中对应霉菌毒素的含量,具体方法见试剂盒说明书。

1.4 数据分析

采用Excel 2016对数据进行整理、初步分析和图表制作,用SPSS 20.0数据处理系统进行进一步统计分析。利用一般线性模型对原料(material, M)、添加剂(additive, A)以及交互效应(M×A)进行方差分析。方差分析显著($P<0.05$)进一步进行多重比较,采用Tukey法进行多重比较。各处理以平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 添加剂对玉米和燕麦青贮饲料发酵品质的影响

添加剂对两种原料青贮后的饲料品质所测定指标均有显著影响(表1),且不同原料、添加剂与青贮原料之间存在显著的交互效应($P<0.01$)。就燕麦青贮结果而言,CK组的pH值达到4.73。LAB、PACA、LAB+PACA能够显著降低燕麦青贮饲料的pH值($P<0.05$)。而对于玉米青贮饲料来说,添加剂对pH无显著降低效果,且PACA能够显著提高玉米青贮饲料的pH值($P<0.05$)。PACA和LAB+PACA处理组在玉米和燕麦青贮饲料中都能够显著提高青贮饲料的乳酸含量($P<0.05$),而LAB处理组仅在燕麦青贮饲料中具有显著提高效果($P<0.05$)。PACA和LAB+PACA显著提高了燕麦青贮饲料的乙酸含量($P<0.05$)。只有PACA和LAB+PACA处理组能够增加两种青贮饲料的丙酸含量($P<0.05$),LAB处理组和CK组差别不大且含量极少。检出的丁酸主要存在于燕麦青贮饲料当中,LAB组能够降低燕麦青贮饲料中的丁酸含量,PACA和LAB+PACA处理组丁酸的检出量为0。玉米青贮饲料中未检出丁酸含量,且氨态氮含量低于10%,LAB和LAB+PACA处理组仅从数值上相对于CK组较小。燕麦青贮饲料中氨态氮含量较高,CK组达到21.38%。添加剂的使用显著降低了燕麦青贮饲料的氨态氮含量($P<0.05$)。

表1 添加剂对玉米和燕麦青贮饲料发酵品质的影响

Table 1 Effects of additives on fermentation quality of corn and oat silages

原料 Material	添加剂 Additive	pH值 pH value	乳酸 Lactic acid (%DM)	乙酸 Acetic acid (%DM)	丙酸 Propionic acid (%DM)	丁酸 Butyric acid (%DM)	氨态氮 Ammoniacal nitrogen (%TN)
玉米青贮 Corn silage	CK	3.71±0.01de	4.53±0.15b	0.70±0.06de	ND	ND	6.50±0.16c
	LAB	3.69±0.01e	4.54±0.18b	0.37±0.09e	ND	ND	4.62±0.21c
	PACA	3.92±0.02c	5.50±0.48a	0.99±0.17cd	0.57±0.04a	ND	6.19±0.32c
	LAB+PACA	3.84±0.02cd	5.71±0.27a	0.46±0.05e	0.55±0.05a	ND	4.66±0.21c
燕麦青贮 Oat silage	CK	4.73±0.12a	1.44±0.36e	1.11±0.11c	0.02±0.01d	2.17±0.95a	21.38±3.16a
	LAB	4.38±0.13b	2.52±0.43d	1.23±0.13c	0.05±0.02d	0.86±0.74b	15.51±3.15b
	PACA	4.22±0.02b	4.19±0.30b	1.63±0.19b	0.27±0.03c	ND	11.94±0.23b
	LAB+PACA	4.36±0.03b	3.30±0.16c	2.40±0.16a	0.42±0.06b	ND	13.54±0.77b
标准误 SEM		0.07	0.29	0.14	0.05	0.17	1.22
总体显著性	M	**	**	**	**	**	**
Total significance	A	**	**	**	**	**	**
	M×A	**	**	**	**	**	**

DM: 干物质 Dry matter; TN: 总氮 Total nitrogen; ND: 未检出 Not detected; CK: 对照组 Control; LAB: 乳酸菌 Lactic acid bacteria; PACA: 丙酸钙 Calcium propionate; LAB+PACA: 乳酸菌和丙酸钙复合添加 Mixture of LAB and PACA; SEM: Standard error of mean; M: 原料效应 Effect of material; A: 添加剂效应 Effect of additive; M×A: M和A的交互效应 Interaction effect of M and A; **: $P<0.01$; *: $P<0.05$; NS: $P>0.05$; 同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$) The different letters in the same column mean significant differences at $P<0.05$; 下同 The same below.

2.2 添加剂对玉米和燕麦青贮饲料微生物数量的影响

添加剂和原料对 2 种青贮饲料的微生物数量(表 2)均具有显著影响($P<0.01$),且添加剂和原料在乳酸菌($P<0.01$)、酵母菌($P<0.05$)和霉菌($P<0.01$)数量上均存在显著的互作效应。在玉米青贮饲料中 LAB+PACA 处理组显著降低了乳酸菌、酵母菌和霉菌的数量($P<0.05$),PACA 处理组对于霉菌数量也有显著的降低效果($P<0.05$)。在燕麦青贮饲料中各处理组乳酸菌和霉菌数量相差不大。燕麦青贮饲料中霉菌数量极少,只有对照组有一个重复检出少量霉菌。添加剂的使用能够显著降低燕麦青贮饲料中酵母菌的数量($P<0.05$),其中 LAB+PACA 处理组效果最好($P<0.05$)。

表 2 添加剂对玉米和燕麦青贮饲料微生物数量的影响

Table 2 Effects of additives on microbial counts of corn and oat silages (lg CFU · g⁻¹)

原料 Material	添加剂 Additive	乳酸菌 Lactic acid bacteria	酵母菌 Yeast	霉菌 Mould
玉米青贮 Corn silage	CK	4.92±0.80b	4.63±0.42a	4.26±1.51a
	LAB	4.26±0.24b	4.57±0.06a	3.45±0.15a
	PACA	4.50±0.20b	3.48±1.07ab	0.93±1.60b
	LAB+PACA	2.00±0.01c	2.60±0.11bc	ND
燕麦青贮 Oat silage	CK	7.48±0.04a	3.95±0.46a	0.44±0.76b
	LAB	7.17±0.27a	2.63±0.20bc	ND
	PACA	7.40±0.18a	2.79±0.09bc	ND
	LAB+PACA	7.49±0.08a	2.24±0.22c	ND
标准误 SEM		0.40	0.20	0.36
总体显著性	M	**	**	**
Total significance	A	**	**	**
	M×A	**	*	**

2.3 添加剂对玉米和燕麦青贮化学成分的影响

燕麦青贮饲料的干物质、粗蛋白、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、可溶性碳水化合物和淀粉含量与全株玉米均有显著差异($P<0.01$),且从整体上看,添加剂的使用显著影响了粗蛋白($P<0.01$)、中性洗涤纤维($P<0.05$)、可溶性碳水化合物和淀粉含量($P<0.01$)。添加剂和原料在干物质($P<0.01$)、粗蛋白($P<0.05$)和可溶性碳水化合物($P<0.01$)含量中存在显著的交互效应。LAB+PACA 显著降低了燕麦青贮饲料的干物质含量($P<0.05$)。PACA 和 LAB+PACA 降低了玉米青贮饲料的粗蛋白含量并显著提高了可溶性碳水化合物含量($P<0.05$),而对燕麦青贮饲料则无显著影响(表 3)。

2.4 添加剂对玉米和燕麦青贮有氧稳定性和霉菌毒素的影响

玉米和燕麦青贮饲料在有氧稳定性、黄曲霉毒素 B1 和玉米赤霉烯酮含量之间存在显著差异($P<0.01$)。燕麦青贮饲料的有氧稳定性均超过 168 h,而玉米青贮饲料有氧稳定性则均低于 84 h。PACA 和 LAB+PACA 显著提高了玉米青贮饲料的有氧稳定性($P<0.05$),其中 PACA 的效果最好,而 LAB 则没有提高玉米青贮饲料的有氧稳定性。添加剂的使用从总体上对霉菌毒素无显著影响,LAB 和 LAB+PACA 显著降低了玉米青贮饲料的黄曲霉毒素 B1 的含量(表 4)。

燕麦青贮饲料在 168 h 的温度监控过程中始终没有超过室温 1℃(图 1)。而在玉米青贮饲料中,经过 91 h 的有氧暴露,最终所有处理组 Δt 均高于 2℃。其中 CK、LAB 和 LAB+PACA 组最高温度超过室温 5℃。单从降低温度差角度来看,在 21 h 内 LAB、PACA 和 LAB+PACA 效果接近,51 h 之内 PACA 和 LAB+PACA 效果相近,超过 51 h 后 PACA 效果最好。

表3 添加剂对玉米和燕麦青贮饲料化学成分的影响

Table 3 Effects of additives on chemical composition of corn and oat silages

原料 Material	添加剂 Additive	DM (%)	CP (%DM)	NDF (%DM)	ADF (%DM)	WSC (%DM)	淀粉 Starch (%DM)
玉米青贮 Corn silage	CK	32.25±0.91c	7.34±0.28cd	33.08±2.30b	17.54±1.89b	1.06±0.15c	29.55±2.16b
	LAB	32.21±0.43c	7.63±0.20bc	32.04±2.23b	16.97±1.63b	1.01±0.05c	37.94±3.46a
	PACA	32.91±0.85c	7.00±0.11d	29.74±0.30b	15.72±0.37b	1.88±0.19b	33.77±3.61ab
	LAB+PACA	34.21±0.72bc	6.85±0.19d	29.56±2.04b	16.87±0.15b	5.99±0.65a	35.69±3.37a
燕麦青贮 Oat silage	CK	37.00±0.92a	7.97±0.23ab	58.93±2.76a	34.60±1.86a	0.39±0.08c	11.79±1.15c
	LAB	38.13±0.76a	8.30±0.13a	55.62±0.87a	31.83±0.87a	0.51±0.04c	15.46±1.78c
	PACA	38.20±0.47a	8.27±0.17a	54.96±1.41a	32.06±1.26a	0.58±0.11c	14.82±1.47c
	LAB+PACA	35.04±1.14b	8.07±0.30ab	56.84±1.74a	32.92±2.27a	0.50±0.05c	12.68±1.13c
标准误 SEM		0.51	0.12	2.69	1.71	0.37	2.24
总体显著性	M	**	**	**	**	**	**
Total significance	A	NS	**	*	NS	**	**
	M×A	**	*	NS	NS	**	NS

DM: 干物质 Dry matter; CP: 粗蛋白 Crude protein; NDF: 中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber; ADF: 酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber; WSC: 可溶性碳水化合物 Water soluble carbohydrate.

表4 添加剂对玉米和燕麦青贮饲料有氧稳定性和青贮开封时霉菌毒素含量的影响

Table 4 Effects of additives on aerobic stability of corn and oat silages and mycotoxin contents after silo opening

原料 Material	添加剂 Additive	有氧稳定性 Aerobic stability (h)	黄曲霉毒素 B1 Aflatoxin B ₁ (μg·kg ⁻¹ DM)	玉米赤霉烯酮 Zearalenone (μg·kg ⁻¹ DM)
玉米青贮 Corn silage	CK	23.67±11.24d	3.96±2.85a	97.32±1.28ab
	LAB	29.67±2.08d	1.07±0.80b	95.30±1.77b
	PACA	84.00±12.12b	1.97±1.08ab	97.35±2.98ab
	LAB+PACA	63.67±8.74c	0.87±0.61b	95.84±1.61b
燕麦青贮 Oat silage	CK	>168.00a	0.45±0.02b	100.50±1.60ab
	LAB	>168.00a	0.30±0.15b	99.99±2.36ab
	PACA	>168.00a	0.43±0.08b	101.34±1.09a
	LAB+PACA	>168.00a	0.80±0.01b	100.26±1.88ab
标准误 SEM		12.86	0.31	0.56
总体显著性	M	**	**	**
Total significance	A	**	NS	NS
	M×A	**	*	NS

3 讨论

3.1 添加剂对玉米和燕麦青贮饲料发酵品质的影响

青贮开封后所有玉米青贮饲料感官表现都很好,发酵品质也都表现优良,未检出丁酸,这主要是由于收获和青贮加工进行了严格的控制。青贮玉米收获期控制在蜡熟期乳线达到1/2左右的时候,干物质含量控制在32.21%~34.21%,正是全株玉米青贮发酵的最适条件^[16]。本研究所用乳酸菌制剂为复合乳酸菌制剂,里面同时包含了同型发酵乳酸菌和异型发酵乳酸菌,能够在降低青贮饲料pH值的同时提高乙酸等有机酸含量并抑制霉菌等有害微生物^[8]。但是异型发酵乳酸菌(布氏乳杆菌)在玉米青贮饲料中未能提高乙酸产量,这可能是由于青贮pH值降得太低,严重抑制了布氏乳杆菌在发酵稳定阶段的活性,使得复合乳酸菌制剂主要发挥了植物乳杆菌的效果,对乙酸含量无影响,这与Miao等^[17]的研究结果一致。玉米青贮饲料中缺乏丁酸菌,丁酸含量极少,本研究中丙酸含量的增加靠的是丙酸钙的添加,这与卢冬亚等^[6]的研究结果一致。

燕麦青贮饲料缓冲能值较高,需要大量的可溶性碳水化合物来快速降低pH值,较慢的pH值下降速度容易导致丁酸梭菌等有害微生物的繁殖,从而降低青贮饲料质量,因此燕麦青贮饲料通常需要萎蔫来抑制有害微生物^[18-19]。本试验中燕麦青贮饲料CK组有难闻味道,虽然经过萎蔫使得干物质含量提高到38%左右,但是丁酸含量仍然严重超标。这与葛剑等^[20]的研究结果相反,可能与燕麦品种、所在区域等不同有关。李平等^[3]研究认为燕麦青贮饲料不宜长时间萎蔫。本研究中萎蔫后CK组的丁酸含量仍然很高。但是通过乳酸菌的添加能够有效抑制燕麦青贮饲料中的丁酸发酵,提高燕麦青贮饲料发酵质量。相关研究表明,植物乳杆菌等同型发酵乳酸菌能够有效提高燕麦青贮饲料发酵品质并且降低丁酸含量^[21]。而布氏乳杆菌对于燕麦青贮饲料的发酵品质和丁酸含量所起作用有限^[22]。丙酸钙以及丙酸钙和乳酸菌的复合添加剂降低丁酸的效果更为明显,主要是因为提高了燕麦青贮饲料中的丙酸含量,而丙酸的提高能够降低青贮饲料中的丁酸含量^[23]。

3.2 添加剂对玉米和燕麦青贮饲料微生物数量的影响

乳酸菌是可利用碳水化合物产生大量乳酸的一类革兰氏阳性菌的总称。在青贮饲料中的氧气耗尽后,乳酸菌尤其是植物乳杆菌能够产生乳酸快速降低青贮饲料的pH值。当pH值小于4.2时有害微生物受到抑制,但是乳酸菌本身也会受到抑制,乳酸菌的数量也会减少^[24]。玉米和燕麦青贮饲料中的乳酸菌数量均处于发酵稳定期。其中玉米青贮饲料的pH普遍低于4.0,乳酸含量较多,使得玉米青贮饲料中乳酸菌受到抑制从而使得数量大大减少。而燕麦青贮饲料pH普遍高于4.2,乳酸菌数量普遍较多。酵母菌和霉菌是导致玉米等青贮饲料有氧变质的主要原因^[25]。在不同原料当中,酵母菌和霉菌的差异除了发酵品质以外,主要还有淀粉等非纤维性碳水化合物的含量。燕麦的淀粉含量仅有玉米青贮的1/3,其酵母菌和霉菌数量普遍较少。研究表明,复合乳酸菌制剂能够有效降低青贮饲料中的酵母菌和霉菌数量^[26]。同样地,丙酸盐对于青贮饲料中的霉菌和酵母菌也具有抑制作用。本试验中,添加剂的使用或多或少都对酵母菌和霉菌数量有一定的抑制作用,其中效果最好的是乳酸菌与丙酸钙的复合添加剂。

3.3 添加剂对玉米和燕麦青贮饲料化学成分的影响

本试验中所用玉米青贮饲料营养品质优良。添加剂尤其是丙酸钙或丙酸钙和乳酸菌复合添加剂的使用显著提高了青贮饲料的淀粉和可溶性碳水化合物含量,相应地降低了粗蛋白和纤维组分的含量。这进一步说明丙酸钙等添加剂抑制了酵母菌和霉菌等的繁殖和对于淀粉、可溶性碳水化合物等能量物质的消耗,保留了更多的非纤维类营养物质。这与宗成等^[27]的研究结果相一致。燕麦的粗蛋白含量丰富,许多时候超过10%^[28]。但本试验燕麦青贮过程中蛋白质发生降解产生了大量的氨态氮,使得燕麦青贮饲料的粗蛋白保持在8%左右。添加剂的使用能够有效降低燕麦青贮饲料的氨态氮含量、提高粗蛋白含量,与张晴晴等^[29]的研究结果相一致。

3.4 添加剂对玉米和燕麦青贮饲料有氧稳定性和霉菌毒素的影响

孙志强等^[30]研究表明,添加植物乳杆菌和布氏乳杆菌的复合乳酸菌添加剂对全株玉米青贮饲料的发酵品质无显著影响,但是能够有效提高青贮饲料的有氧稳定性,且受青贮玉米品种的影响。本试验中复合乳酸菌的使用没有增加乙酸的含量,并且有氧稳定性相比于对照组仅增加了约6h,且没有统计学上的显著关系。这可能是受乙酸含量不足的影响,也可能是受到品种和不同地区微生物菌群的影响。而乙酸、丙酸等有机酸对于玉米青贮饲料中的有害微生物具有显著的抑制效果^[31],有助于提高玉米青贮饲料的有氧稳定性^[4]。同型发酵乳酸菌和异型发酵乳酸菌复合使用对于提高玉米青贮饲料的有氧稳定性具有重要作用^[32],但是在一些特定条件下乳酸菌尤其是异型发酵乳酸菌的效果不稳定,添加适合的有机酸添加剂是十分必要的。而本试验当中燕麦青贮饲料有氧稳定性好,全部超过168h,这与贾婷婷等^[33]的结果(CK组大于168h)相似,但是显著高于朱九刚等^[34]的研究结果(CK组35.1h)。玉米与燕麦青贮饲料中的黄曲霉毒素B1和玉米赤霉烯酮含量均低于饲料卫生标准关于黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮的限量标准^[35]。玉米青贮饲料中的黄曲霉毒素含量较多,这主要是因为黄曲霉等产黄曲霉毒素的真菌更容易感染玉米^[36]。乳酸菌添加剂的使用能够有效降低玉米青贮饲料中的黄曲霉毒素B1含量。这与付浩等^[37]以及Guan等^[38]的研究结果相一致。

4 结论

玉米青贮饲料发酵品质优良。添加剂的使用尤其是PACA和LAB+PACA的使用提高了玉米青贮饲料的丙酸含量,显著提高了玉米青贮饲料中的淀粉和可溶性糖等非纤维碳水化合物含量及有氧稳定性,降低了霉菌和酵母菌等有害微生物数量。LAB及LAB+PACA有效降低了黄曲霉毒素B1的含量。添加剂的使用显著提高了燕麦青贮饲料的发酵品质,降低了氨态氮和丁酸含量,提高了粗蛋白含量,其中PACA和LAB+PACA效果较好。因此,添加剂尤其是LAB+PACA的复合添加对于提高玉米和燕麦青贮饲料的青贮品质和安全性具有重要作用。

参考文献 References:

- [1] Zhang J F. Experimental study on different proportion of oat hay and silage corn fed to beef cattle. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2021, 40(3): 64—66.
张俊锋. 不同比例燕麦干草与青贮玉米饲喂肉牛试验研究. *畜牧兽医杂志*, 2021, 40(3): 64—66.
- [2] 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.
- [3] Li P, Shen Y X, Bai S Q, *et al.* The effects of wilting on the fermentation quality of oat silage in pastoral area of Sichuan Northwest. *Journal of Grassland and Forage Science*, 2020(1): 8—13.
李平, 沈益新, 白史且, 等. 萎蔫对川西北高寒牧区燕麦青贮饲料发酵品质的影响. *草学*, 2020(1): 8—13.
- [4] Muck R E, Nadeau E M G, McAllister T A, *et al.* Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(5): 3980—4000.
- [5] Zhuang R F, Hua B J, Lin C C, *et al.* Application and efficacy of compound lactic acid bacteria preparation in whole corn silage. *Animal Industry and Environment*, 2020(2): 85—86.
庄茹菲, 华冰洁, 林呈呈, 等. 复合型乳酸菌制剂在全株玉米青贮的应用和功效. *畜牧业环境*, 2020(2): 85—86.
- [6] Lu D Y, Tian Y J, Ma Z X, *et al.* Effect of combination additive for fermentation characteristics and nutritional quality of whole corn silage. *Feed Research*, 2019, 42(9): 45—51.
卢冬亚, 田雨佳, 马占霞, 等. 组合添加剂对全株玉米青贮发酵特性及营养品质的影响. *饲料研究*, 2019, 42(9): 45—51.
- [7] Lu X S. Analysis of forage commodity production situation in China in 2020 and outlook in 2021. *Animal Agriculture*, 2021(3): 31—36.
卢欣石. 2020我国饲草商品生产形势分析与2021年展望. *畜牧产业*, 2021(3): 31—36.
- [8] Tian J P, Xu N X, Liu B Y, *et al.* Interaction effect of silo density and additives on the fermentation quality, microbial counts, chemical composition and *in vitro* degradability of rice straw silage. *Bioresource Technology*, 2020, DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122412.
- [9] Liu B Y, Huan H L, Gu H R, *et al.* Dynamics of a microbial community during ensiling and upon aerobic exposure in lactic acid bacteria inoculation-treated and untreated barley silages. *Bioresource Technology*, 2019, 273: 212—219.
- [10] Xu Q F, Yu Z, Han J G, *et al.* Determining organic acid in alfalfa silage by HPLC. *Grassland and Turf*, 2007(2): 63—65, 67.
许庆方, 玉柱, 韩建国, 等. 高效液相色谱法测定紫花苜蓿青贮中的有机酸. *草原与草坪*, 2007(2): 63—65, 67.
- [11] 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.
- [12] Kenneth H. Official methods of analysis (15th Edition). Artington, Virginia, USA: Association of Official Analytical Chemists, 1990.
- [13] 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. *Journal of Dairy Science*, 1991, 74(10): 3583—3597.
- [14] McDonald P, Henderson A R. Determination of water-soluble carbohydrates in grass. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 1964, 15(6): 395—398.
- [15] Rose R, Rose C L, Omi S K, *et al.* Starch determination by perchloric acid vs enzymes: Evaluating the accuracy and precision of six colorimetric methods. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1991, 39(1): 2—11.

- [16] Silveira R C H, De Rezende A V, Silveira R F H, *et al.* Chemical composition, digestibility and aerobic stability of corn silages harvested at different maturity stages. *Revista Caatinga*, 2015, 28(2): 107–116.
- [17] Miao F, Zhang F, Wang X, *et al.* Effect of *Lactobacillus plantarum*, *L. buchneri* and *Pediococcus acidilactici* at low doses on the fermentation, aerobic stability and ruminal digestibility of corn silage. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2019, 22(4): 655–664.
- [18] Iank B A V, Jobim C C, Rossi R M, *et al.* Wilting whole crop black oat with glyphosate for ensiling: Effects on nutritive, fermentative, and aerobic stability characteristics. *Revista Brasileira De Zootecnia-Brazilian Journal of Animal Science*, 2018, DOI: 10.1590/rbz4720170142.
- [19] Bergen W, Byrem T, Grant A. Ensiling characteristics of whole-crop small grains harvested at milk and dough stages. *Journal of Animal Science*, 1991, 69(4): 1766–1774.
- [20] Ge J, Yang C J, Yang Z M, *et al.* The effects of wilting and additives on silage quality of naked oats (*Avena nuda*). *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2015, 30(9): 18–23.
葛剑, 杨翠军, 杨志敏, 等. 萎蔫处理和添加剂对裸燕麦青贮饲料品质的影响. *中国粮油学报*, 2015, 30(9): 18–23.
- [21] Wang S, Li J, Dong Z, *et al.* Effect of microbial inoculants on the fermentation characteristics, nutritive value, and *in vitro* digestibility of various forages. *Animal Science Journal*, 2019, 90(2): 178–188.
- [22] Gomes A L M, Jacovaci F A, Bolson D C, *et al.* Effects of light wilting and heterolactic inoculant on the formation of volatile organic compounds, fermentative losses and aerobic stability of oat silage. *Animal Feed Science and Technology*, 2019, 247: 194–198.
- [23] Liu Q H, Wu J X, Dong Z H, *et al.* Effects of overnight wilting and additives on the fatty acid profile, alpha-tocopherol and beta-carotene of whole plant oat silages. *Animal Feed Science and Technology*, 2020, DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2019.114370.
- [24] Yu Z, Sun Q Z. Silage technology of grass and forage. Beijing: China Agricultural University Press, 2011.
玉柱, 孙启忠. 饲草青贮技术. 北京: 中国农业大学出版社, 2011.
- [25] Wilkinson J, Davies D. The aerobic stability of silage: Key findings and recent developments. *Grass and Forage Science*, 2013, 68(1): 1–19.
- [26] Wan X R, Dou S Y, Li Y, *et al.* Effect of lactic acid bacteria preparations on microbial population counts and silage quality in maize silage during fermentation and on aerobic exposure. *Acta Prataculturae Sinica*, 2020, 29(11): 83–90.
万学瑞, 豆思远, 李玉, 等. 复合乳酸菌对全株玉米青贮及有氧暴露后微生物及饲料品质的影响. *草业学报*, 2020, 29(11): 83–90.
- [27] Zong C, Zhang J, Shao T, *et al.* Effects of additives on fermentation quality of alfalfa silage. *Acta Prataculturae Sinica*, 2020, 29(12): 180–187.
宗成, 张健, 邵涛, 等. 添加剂对紫花苜蓿青贮饲料发酵品质的影响. *草业学报*, 2020, 29(12): 180–187.
- [28] Ju Z L, Zhao G Q, Chai J K. Effects of temperature and lactic acid bacteria additives on fermentation quality and aerobic stability of oat silage. *Grassland and Turf*, 2021, 41(2): 53–59, 69.
琚泽亮, 赵桂琴, 柴继宽. 温度和乳酸菌添加剂对燕麦青贮发酵品质及有氧稳定性的影响. *草原与草坪*, 2021, 41(2): 53–59, 69.
- [29] Zhang Q Q, Liang Q W, Yang X F, *et al.* Effect of adding organic acids on fermentation and nutritional quality of oat silage. *Feed Research*, 2019, 42(4): 84–86.
张晴晴, 梁庆伟, 杨秀芳, 等. 添加有机酸对燕麦青贮发酵和营养品质的影响. *饲料研究*, 2019, 42(4): 84–86.
- [30] Sun Z Q, Wu Z, Wang B, *et al.* The effect of different hybrids and lactic acid bacteria additives on the quality and aerobic stability of the whole plant corn silage. *Chinese Journal of Grassland*, 2019, 41(1): 83–88.
孙志强, 吴哲, 王炳, 等. 不同品种和乳酸菌添加剂对全株玉米青贮品质和有氧稳定性的影响研究. *中国草地学报*, 2019, 41(1): 83–88.
- [31] Jiang F, Cheng H, Liu D, *et al.* Treatment of whole-plant corn silage with lactic acid bacteria and organic acid enhances quality by elevating acid content, reducing pH, and inhibiting undesirable microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 2020, DOI: 10.3389/fmicb.2020.593088.
- [32] Oliveira A, Weinberg Z, Ogunade I, *et al.* Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100(6): 4587–4603.
- [33] 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.
- [34] Zhu J G, Zhang J, Shao T, *et al.* The effects of additives on fermentation quality and aerobic stability of whole plant oat silage. Acta Agrestia Sinica, 2020, 28(6): 1756—1761.
- 朱九刚, 张健, 邵涛, 等. 添加剂对全株燕麦青贮饲料发酵品质和有氧稳定性的影响. 草地学报, 2020, 28(6): 1756—1761.
- [35] GB13078-2017. Hygienical standard for feeds. Beijing: General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, 2017.
- GB 13078-2017. 饲料卫生标准. 北京: 国家质量监督检验检疫总局, 2017.
- [36] Payne G, Widstrom N. Aflatoxin in maize. Critical Reviews in Plant Sciences, 1992, 10(5): 423—440.
- [37] Fu H, Jin J, Zhu X, *et al.* Effect of compound *Lactobacillus* preparation on quality of whole corn silage. Modern Agricultural Science and Technology, 2021(9): 221—224.
- 付浩, 金晶, 朱欣, 等. 复合乳酸菌制剂对全株玉米青贮饲料品质的影响. 现代农业科技, 2021(9): 221—224.
- [38] Guan H, Ke W, Yan Y, *et al.* Screening of natural lactic acid bacteria with potential effect on silage fermentation, aerobic stability and aflatoxin B1 in hot and humid area. Journal of Applied Microbiology, 2020, 128(5): 1301—1311.