

不同微生物添加组合对桑枝叶青贮效果的影响

黄光云, 何仁春, 罗鲜青, 周志扬, 贾银海, 周俊华, 梁琪妹,
黄 香, 黄春花, 唐承明, 廖海洪, 李绍波, 王启芝*, 黄丽霞*

(广西壮族自治区畜牧研究所, 南宁 530001)

摘要: [目的] 为了有效合理地开发桑枝叶在饲料行业中的应用价值, 并在生产中推广应用。[方法] 试验以新鲜的桑枝叶为原料, 对不同微生物组合青贮桑枝叶的发酵品质进行研究, 试验分 3 个组, 自然发酵组(对照组)、自备菌剂微贮组(试验组 I)、商品菌剂微贮组(试验组 II), 每组设 3 个重复。30 d 后测定各组青贮常规营养成分含量、pH、挥发性脂肪酸含量。[结果] 结果表明, 与对照组相比试验组 I、II 的 CP 含量差异显著($P < 0.05$); NDF 和 ADF 含量均显著降低($P < 0.05$); 与对照组 pH 相比, 试验组 I、II 均有降低, 但差异不显著($P > 0.05$); 试验组乳酸含量显著高于对照组($P < 0.05$); 试验组乙酸含量显著高于对照组($P < 0.05$); 试验组丙酸、丁酸含量与对照组相比差异不显著($P > 0.05$); 试验组中氨态氮含量均有所降低, 差异不显著($P > 0.05$)。[结论] 最终得出, 添加米曲霉(XMS01)、植物乳杆菌(XMS02)、植物乳杆菌(XMS03)、枯草芽孢杆菌等可提高桑枝叶青贮 CP、乳酸和丁酸的含量, 显著降低 NDF 和 ADF 含量, 改善桑枝叶青贮的品质。

关键词: 桑枝叶; 米曲霉; 商品菌剂; 植物乳杆菌; 青贮品质

中图分类号: S816.32

文献标识码: A

文章编号: 1001-9111(2020)04-0016-05

桑枝叶含有丰富的碳水化合物、蛋白质、脂肪酸以及丰富的维生素和矿物质, 其中粗蛋白质为 16% ~ 29%, 粗纤维为 8% ~ 15% 显著高于其他青饲料^[1]。桑枝叶作为畜禽饲料营养成分全面, 利用价值高, 可与优质牧草相媲美。新鲜桑枝叶其枝秆部纤维素、木质素含量较高, 适口性差, 消化利用率低, 直接饲喂不仅会造成浪费, 而且会影响其利用效果。但将其切断、揉搓发酵制作青贮, 能较好地集中保存和利用, 减少营养成分的损失, 为畜禽养殖提供优质的饲料资源。大量研究显示, 利用桑枝叶青贮料饲喂泌乳牛, 采食率可提高 7% 以上, 产奶量可提高 20.5%, 能节约蛋白质精料 20% 左右^[2]。桑枝叶混合青贮组比全株玉米青贮组杂交肉用公羊增重提高 9.02% ($P < 0.05$); 料肉比降低 6.98% ($P < 0.05$), 能显著提高肉用杂交育肥羊生产性能^[3]。李栋栋等^[4]研究发现, 2% 和 4% 发酵桑叶组平均日增质量

略高于对照组, 但是采食量和料肉比低于对照组, 差异显著($P < 0.05$); 说明将发酵桑叶添加到饲养仔猪的饲料中, 仔猪生长性能得到一定程度的改善, 减少了饲养仔猪的生产成本。因此, 桑枝叶作为动物的非常规饲料, 具有极大的开发潜力和利用价值。

米曲霉是一种好气性真菌, 是一类产复合酶的菌株, 除产蛋白酶外, 还可产淀粉酶、糖化酶、纤维素酶、植酸酶等^[5]。植物乳杆菌能够有效加强青贮饲料乳酸菌主导作用, 产生更多乳酸而快速降低 pH, 抑制酵母和梭菌等有害菌的生长, 提高青贮有氧稳定性。枯草芽孢杆菌好氧生长, 不仅产酶能力强且能产生多种氨基酸及蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶等胞外酶, 降解粗饲料中某些复杂的糖类, 提高粗饲料的转化率和安全性^[6]。有关研究不同微生物组合发酵桑枝叶开发新饲料资源的研究报道较少, 因此, 本试验以新鲜桑枝叶为原料, 探究添加不同微生物组

收稿日期: 2020-03-12 修回日期: 2020-03-20

基金项目: 广西重点研发计划项目(桂科 AB:16380175); 广西畜牧研究所基本科研业务费项目(桂牧研科 2019-11, 桂牧研自选 2019-02); 广西科技重大专项(20182195)

作者简介: 黄光云(1976—), 男, 畜牧师, 本科, 主要从事动物繁殖育种研究。E-mail: hgy699@163.com

* 通讯作者: 王启芝(1979—), 女, 高级畜牧师, 本科, 主要从事动物营养、饲料资源开发研究。E-mail: zhi1699@163.com
黄丽霞(1979—), 女, 畜牧师, 本科, 主要从事动物营养、饲料资源开发研究。E-mail: 1310576623@qq.com

合青贮方法对桑枝叶青贮发酵品质的影响,拟为开发利用广西生态桑资源,合理利用蚕茧生产区过剩桑枝叶,为发酵桑枝叶饲料在畜禽养殖中的合理应用提供相关试验数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用桑枝叶取自广西百色种植区,人工收割,大炬牌铡草揉丝机 9ZF5 型,揉搓切 1 cm 备用。米曲霉(XMS01)、植物乳杆菌(XMS02)、植物乳杆

菌(XMS03)均为:广西畜牧研究所动物营养实验室,自主选育。商品菌剂:多功能饲料发酵剂(枯草芽孢杆菌 $> 56.0 \times 10^8$ cfu/g,沼泽红假单胞菌 $> 20 \times 10^8$ cfu/g)。新鲜桑枝叶常规营养成分见表 1。商品菌剂活化:按产品说明比例,5 t 青贮饲料使用该产品 500 g 与 1 kg 红糖,加入 100 kg 水激活 24 h 后使用。高盐察氏培养基用于米曲霉(XMS01)活化及菌落计数,MRS 培养基用于植物乳杆菌(XMS02)、植物乳杆菌(XMS03)活化及菌落计数。

表 1 新鲜桑枝叶常规营养成分

营养成分	干物质	% DM			
		粗蛋白 (CP)	粗脂肪 (EE)	中性洗涤纤维 (NDF)	酸性洗涤纤维 (ADF)
含量	28.11	10.92	3.52	52.47	45.41

1.2 菌液计数

将植物乳杆菌(XMS02)、植物乳杆菌(XMS03)菌种培养至第 2 代进行接种,用无菌水对其接种菌液逐级稀释,对 1×10^{-5} , 1×10^{-6} , 1×10^{-7} 3 个稀释梯度进行平板涂布,每个梯度 3 个重复,37 °C 厌氧培养 48 h 计数。采用平板计数法,植物乳杆菌(XMS02)菌液浓度为 1.7×10^8 cfu/mL,植物乳杆菌(XMS03)菌液浓度为 1.9×10^8 cfu/mL。

米曲霉接种液:在接种液中加入玻璃球,用振荡器振荡后 3 层纱布过滤,用无菌水对所得孢子悬浮液逐级稀释,采用血球计数法计算米曲霉孢子浓度。米曲霉(XMS01)菌液浓度为 1.53×10^7 cfu/mL。

1.3 试验设计及方法

试验分 3 个组:自然发酵组(对照组)、自备菌剂微贮组(试验组 I)与商品菌剂微贮组(试验组 II),每组设 3 个重复,每个重复取 3 kg 新鲜桑枝叶。对照组桑枝叶样品喷洒无菌水 200 mL/kg。

试验组 I:分 2 个阶段进行,第一阶段有氧发酵,桑枝叶样品喷洒米曲霉菌液 10 mL/kg 和无菌水 90 mL/kg,在无菌室室温下发酵 2 d;第二阶段为无氧青贮,喷洒 10 mL/kg 植物乳杆菌 XMS02 菌液 + 10 mL/kg 植物乳杆菌 XMS03 菌液 + 80 mL/kg 无菌水。

试验组 II:桑枝叶样品喷洒商品菌剂活化后的菌液 200 mL/kg。

青贮原料与添加菌剂充分混匀,专用带放气阀薄膜发酵饲料袋,打包密封青贮,标记后避光室温下保存 30 d,每个重复均取样进行分析。

1.4 测定项目及方法

1.4.1 感官评定 根据《青贮饲料质量评定标准(试行)》^[7]进行色泽、质地、气味以及霉变情况等现场感官评定。

1.4.2 常规指标分析 各组样品经 65 °C 烘 48 h 风干,过 40 目筛粉碎制成样品,储存于样品袋中,以备分析。参照参考文献[8]中的常规法进行水分、CP、EE、NDF、ADF 含量的测定,每个样品测 2 个平行样,相对偏差须在允许范围内。

干物质回收率(DMR)测定:

$DMR = (\text{青贮后原料质量} \times \text{青贮后干物质率}) / \text{装袋时原料质量} \times \text{原料干物质率} \times 100\%$

1.4.3 青贮饲料 pH 值及品质评定 青贮结束,实验室评定包括测定青贮开袋后 pH 值和有机酸(乳酸、乙酸、丙酸和丁酸)含量。

青贮的桑枝叶开封以后将样品混合均匀,每袋取 35 g 样品,放入 250 mL 广口瓶中,添加超纯水 150 mL,置于 4 °C 冰箱中,每隔 4 h 摇匀 1 次;经过 24 h 后,用 2 层纱布进行过滤并分装样液,分别用于 pH、乳酸、氨态氮(NH₃-N)和挥发性脂肪酸(VFA)的测定。乳酸含量用试剂盒(A019-2,南京建成生物工程研究所)进行测定;挥发性脂肪酸(乙酸、丙酸和丁酸)含量参照 E. Kaiser 等^[9]的方法采用气相色谱仪(岛津 2014C)进行测定;pH 值采用 pHS-3C 型 pH 计进行测定;氨态氮含量采用 I9 型紫外—可见分光光度计以比色法测定。

1.5 数据分析

数据采用 Excel 软件进行初步处理,应用 SPSS

17.0 软件进行单因子方差分析,结果用平均值 \pm 标准差表示,并进行 Duncan 氏法多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同组合桑枝叶青贮感官评价

经过 30 d 青贮对桑枝叶进行现场感官评定。从表 2 结果可见,对照组有淡酸味、色泽褐色,略带粘性,总分 43 分,按青贮评分标准与等级划分评分为一般。

试验组 I:有酸香味、舒适感较好,色泽黄绿,松散软弱不粘手,茎叶保持良好,总分 73 分,按青贮评分标准与等级划分评分为良好。

试验组 II:有酸香味、芳香味弱,暗褐色,柔软,茎叶结构保持良好,总分 68 分,按青贮评分标准与等级划分评分为良好。

2.2 不同组合桑枝叶发酵营养成分影响

由表 3 对不同组合桑枝叶发酵营养成分分析可知,与对照组相比,试验组干物质含量均无显著变化

($P > 0.05$);CP 含量均显著提高($P < 0.05$),且两试验组间差异不显著($P > 0.05$);EE 含量均无显著变化($P > 0.05$);NDF 和 ADF 含量均显著降低($P < 0.05$),且两试验组间差异不显著($P > 0.05$);试验组 I 中 DMR 高于对照组和试验组 II,但差异不显著($P > 0.05$)。与青贮前桑枝叶中各营养成分含量(表 1)相比,青贮后各组 CP 含量均有所提高;除对照组青贮后 ADF 含量升高外,试验组 NDF 和 ADF 含量青贮后均有所降低。

2.3 不同组合桑枝叶发酵品质的影响

由表 4 可知,与对照组相比,试验组 I 和试验组 II 中 pH 含量均有降低($P > 0.05$);试验组乳酸含量显著高于对照组($P < 0.05$),两试验组间差异不显著($P > 0.05$);试验组乙酸含量显著高于对照组($P < 0.05$),2 个试验组间乙酸含量差异不显著($P > 0.05$);试验组丙酸、丁酸含量与对照组相比差异不显著($P > 0.05$);与对照组相比,试验组中氨态氮含量均有所降低($P > 0.05$)。

表 2 不同微生物组合青贮对桑枝叶的感官评定

处理	气味得分	水分得分	色泽得分	质地得分	pH 得分	总分	等级
对照组	10	18	11	6	8	53	一般
试验组 I	20	18	15	10	10	73	良好
试验组 II	18	18	15	8	9	68	良好

表 3 不同微生物组合青贮对桑枝叶常规营养成分的评定

处理	干物质 (DM)	粗蛋白 (CP)	粗脂肪 (EE)	中性洗涤纤维 (NDF)	酸性洗涤纤维 (ADF)	干物质回收率 (DMR)	% DM
对照组	27.23 ^a \pm 0.05	11.60 ^a \pm 0.25	3.40 ^a \pm 0.16	50.05 ^a \pm 2.13	46.01 ^a \pm 1.49	94.11 ^a \pm 0.32	
试验组 I	28.11 ^a \pm 0.80	13.60 ^b \pm 0.41	3.39 ^a \pm 0.11	47.18 ^b \pm 4.28	42.03 ^b \pm 0.94	95.10 ^a \pm 0.15	
试验组 II	28.29 ^a \pm 0.50	13.20 ^b \pm 0.14	3.33 ^a \pm 0.37	45.93 ^b \pm 4.69	39.14 ^c \pm 2.96	93.45 ^a \pm 0.32	

注:同列无字母或肩标相同字母表示差异不显著($P > 0.05$),不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

表 4 不同微生物组合青贮对桑枝叶发酵品质的影响

处理	pH	乳酸	乙酸	丙酸	丁酸	氨态氮	mmol/kg
对照组	4.21 ^a \pm 0.06	15.55 ^a \pm 0.67	31.92 ^a \pm 0.42	2.47 ^a \pm 0.66	1.61 ^a \pm 0.73	5.18 ^a \pm 0.03	
试验组 I	4.09 ^a \pm 0.04	16.94 ^b \pm 0.30	43.91 ^b \pm 0.80	2.31 ^a \pm 0.45	1.64 ^a \pm 0.67	5.10 ^a \pm 0.24	
试验组 II	4.16 ^a \pm 0.12	16.22 ^b \pm 0.88	42.66 ^b \pm 0.66	2.31 ^a \pm 0.61	1.53 ^a \pm 0.42	5.13 ^a \pm 0.22	

3 讨论

3.1 桑枝叶青贮饲料感官评定的分析

桑枝叶青贮品质直接影响其利用的价值,试验中笔者对桑枝叶的感官指标进行了评定,对照组桑枝叶的感官评定,发酵品质评价均未达到优质饲料

的水平,说明在不添加发酵剂的情况下,受发酵环境等条件的限制,造成了桑枝叶发酵缓慢,影响发酵效果。但是在添加发酵剂的桑枝叶青贮后,通过对其气味、色泽、质地和霉变等情况进行感官评定,试验 I 组 73 分和试验 II 组 68 分,试验 I、II 组得分均高

于对照组总分43分,综合评价的结果,试验I和II组青贮品质优于对照组,说明添加相关微生物制剂等有利于改善桑枝叶发酵品质。试验结果与唐庆凤等^[13]研究结果一致。

3.2 不同微生物组合青贮对桑枝叶常规营养成分的影响

不同的菌种产酶的能力及种类不同,而且菌种之间存在协同或颉颃作用,混合菌发酵主要是通过菌种之间的协同作用,扩大对发酵底物的适应性,从而起到改善发酵底物品质的效果,因此,菌种的选择及组合非常关键。降解木质素的益生菌以真菌降解效果为较好,降解纤维素和半纤维素的益生菌可发酵生产单细胞蛋白^[6]。本试验所选的菌种试验组I、II主要真菌菌种有枯草芽孢杆菌、米曲霉(XMS01)、发酵前期芽孢杆菌、曲霉等好氧微生物繁殖生长,消耗氧气,从而为乳酸菌提供厌氧生长环境;发酵后期乳酸菌类增殖发酵会产生大量乳酸,使微生物在无氧条件下发生强制自溶,释放出胞内酶及生物活性物质,使蛋白酶发生酶解反应,产生香味物质。CP是衡量青贮饲料营养价值的重要指标之一。Keles等^[10]研究表明,在饲料发酵过程中,同型发酵乳酸菌能够产生乳酸,降低pH,抑制有害微生物的生长,降低NDF含量,增加CP含量。杨刚等^[11]研究表明,对羽毛粉分别添加米曲霉、枯草芽孢杆菌发酵72h后,米曲霉产蛋白酶活力达3256.61U/g($P < 0.05$),枯草芽孢杆菌产蛋白酶活力达到690.03U/g($P < 0.05$)。本试验中,与对照组相比试验组I和II的CP含量均显著提高($P < 0.05$),但试验组间差异不显著($P > 0.05$)。试验组I和II的ADF、NDF的含量均比对照组降低,可能是因为本试验所选的菌种相互之间存在较好的协同发酵作用,其粗纤维中的木聚糖链和木质素聚合物酯链被酶解,发酵过程中,益生菌大量生长繁殖,分泌的酶可降解纤维素、半纤维素与木质素间连接的结合键,使与木质素交联在一起的纤维素和半纤维素游离出来,破坏粗饲料中难消化的细胞壁结构,使其其他营养物质暴露出来。

3.3 不同微生物组合青贮对桑枝叶发酵品质的影响

在试验I组添加乳酸菌的繁殖产生乳酸,在密封的发酵环境中,经过乳酸菌等微生物的生长发酵活动,可快速发酵产生乳酸、乙酸和丙酸等挥发性脂肪酸,降低青贮饲料的pH,抑制不良微生物繁殖,也改善桑枝叶的发酵品质,达到长期保存青绿饲料的

目的。对照组pH值均偏高,不能有效抑制不良微生物的繁殖,在常温发酵条件下生成大量丁酸,导致发酵品质低,表明桑枝叶直接青贮不利于改善桑枝叶发酵品质。本试验中试验I、和II组乳酸含量显著高于对照组($P < 0.05$),两试验组间差异不显著($P > 0.05$);试验组乙酸含量显著高于对照组($P < 0.05$),2个试验组间乙酸含量差异不显著($P > 0.05$)。表明对照组品质低于试验组。青贮中的乳酸、乙酸、丁酸,其中乳酸所占的比例越大越好,但丁酸所占的比例越小越好^[12]。丁酸含量越少,表明青贮饲料的品质越高。在青贮饲料中,主要反映饲料在青贮过程中蛋白质被破坏程度的高低,即氨态氮含量的高低,所以青贮饲料开窖后氨态氮含量越低,表明青贮饲料的品质越佳。试验I和II组的氨态氮含量略低于对照组,表明试验I和II组在青贮过程中营养成分损失较低,青贮品质比对照组优。

4 结论

添加米曲霉(XMS01)、植物乳杆菌(XMS02)、植物乳杆菌(XMS03)、枯草芽孢杆菌等在一定程度提高桑枝叶青贮的CP、乳酸和丁酸含量,显著降低NDF和ADF含量,均能提高桑枝叶青贮的品质。

参考文献:

- [1] 谯仕彦,王旭,王德. 饲料成分与营养价值表[M]. 北京:中国农业出版社,2005.
- [2] 王冲. 生态桑园与畜牧业[J]. 北方蚕业,2006,27(3):17-18.
- [3] 梅宁安,刘自新,赵晖. 桑枝叶混合青贮饲料饲喂滩杂交羔羊育肥效果试验[J]. 草业与畜牧,2014(3):29-32.
- [4] 李栋栋,张明,李欢欢,等. 发酵桑叶对断奶仔猪生长性能及经济效益的影响[J]. 饲料研究,2017(3):6-9.
- [5] 赵龙飞,徐亚军. 米曲霉的应用研究进展[J]. 中国酿造,2006(3):8-9.
- [6] 马惠茹,陈艳君,刘力. 益生菌发酵粗饲料在反刍动物养殖中的应用[J]. 饲料研究,2018(1):62-65.
- [7] 青贮饲料质量评定标准(试行)[J]. 中国饲料,1996(21):5-7.
- [8] 杨胜. 饲料分析及质量检测技术[M]. 北京:中国农业大学出版社,1993.
- [9] KAISER E, WEIB K. A new system for the evaluation of the fermentation quality of silages[C]//Silage production and utilisation; Proceedings of the XIVth international silage conference, a satellite workshop of the XXth international grassland congress. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 2005.
- [10] KELES G, DEMIRCI U. The effect of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria on conservation characteristics of baled triticale-Hungarian vetch silage and lamb performance[J]. Animal Feed Science and Technology, 2011,164(1):21-28.

- [11] 杨刚,杨国浩,管军军,等. 米曲霉和枯草芽孢杆菌对羽毛粉降解效果研究[J]. 饲料工业,2018(1):50-52.
- [12] 王红梅,陶雅,孙启忠,等. 呼伦贝尔草原6种牧草青贮特性研究[J]. 中国草地学报,2014,36(1):58-63.
- [13] 唐庆凤,彭开屏,韦升菊. 布氏乳杆菌、黑曲霉、热带假丝酵母、枯草芽孢杆菌与植物乳杆菌3菌组合对木薯渣发酵品质的影响[J]. 中国畜牧兽医,2016(7):1729-1736.

Effects of Different Microbial Addition Combinations of Mulberry Branches and Leaves Silage

HUANG Guang-yun, HE Ren-chun, LUO Xian-qing, ZHOU Zhi-yang, JIA Yin-hai, ZHOU Jun-hua, LIANG Qi-mei, HUANG Xiang, HUANG Chun-hua, TANG Cheng-ming, LIAO Hai-hong, LI Shao-bo, WANG Qi-zhi*, HUANG Li-xia*

(Guangxi Institute of Animal Sciences, Nanning 530001)

Abstract: [Objective] In order to develop of effectively and reasonably of the application value of mulberry branches and leaves in feed industry and popularize. [Method] In this experiment, taking branches and leaves of fresh mulberry as the material to study the fermentation quality of silage mulberry branches and leaves with different microorganism combinations. The experiment was divided into three groups: Natural fermentation group (control group); self-provided microbial storage group (test group I) and commercial microbial storage group (test group II), and 3 repetitions were designed in each group. After 30 days, the contents of nutrients, pH and volatile fatty acids in silage of each group were determined. [Result] The results showed that the content of CP in the test group (I and II) were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$). The content of NDF and ADF in the test group (I and II) were also significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$), and the contents of pH (group I and II) were lower than those in the control group, but there was no significant difference ($P > 0.05$). The content of lactic acid in the test group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$), the content of acetic acid in the test group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$), the content of propionic acid and butyric acid in the test group was not significantly different from that in the control group ($P > 0.05$), the content of ammonia nitrogen in the test group was decreased, the difference was not significant ($P > 0.05$). [Conclusion] It could increase the content of CP, lactic acid and butyric acid in mulberry silage, decrease the content of NDF and ADF, and improve the quality of mulberry silage that adding *Aspergillus oryzae* XMS01, *Lactobacillus plantarum* XMS02, *Lactobacillus plantarum* XMS03 and *Bacillus subtilis*.

Key words: the branches and leaves of mulberry; *Aspergillus oryzae*; commercial fungicides; *Lactobacillus plantarum*; silage quality