

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.01.032

引用格式:陈芯怡,刘国宏,闫云峰,等.植物乳杆菌与纤维素酶添加对桑枝叶发酵品质的影响[J].草地学报,2026,34(1):340—347

CHEN Xin-yi, LIU Guo-hong, YAN Yun-feng, et al. Effects of *Lactiplantibacillus plantarum* and Cellulase on *Morus alba* Leaf Silage Fermentation Quality[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(1):340—347

植物乳杆菌与纤维素酶添加对桑枝叶发酵品质的影响

陈芯怡¹, 刘国宏², 闫云峰^{1,3}, 郑晓凯¹, 李海峰², 马春晖^{1*}, 张凡凡^{1*}

(1. 石河子大学动物科技学院, 新疆 石河子 832000; 2. 新疆农业科学院吐鲁番农业科学研究所, 新疆 吐鲁番 838000; 3. 晋州市职业技术教育中心, 河北 晋州 052260)

摘要:本研究旨在探究联合添加植物乳杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)与纤维素酶(cellulase)对桑枝叶(*Morus alba*)青贮发酵品质的改善效果,为桑枝叶资源饲料化利用提供依据。本研究设置3个处理组[CK(不添加菌剂)、SL(添加 5×10^5 CFU·g⁻¹ FM植物乳杆菌)和SLC(添加 5×10^5 CFU·g⁻¹ FM植物乳杆菌+0.3% FM纤维素酶)],每组6个重复。发酵60 d后检测感官指标、营养成分、发酵品质和主要微生物数量,同时进行体外发酵试验评定其产气特性。结果表明:相比于CK处理,SLC处理中干物质、粗蛋白、水溶性碳水化合物、乳酸、乙酸含量和乳酸菌数量显著增加($P < 0.05$),中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维含量和pH值以及酵母菌、霉菌和好氧细菌数量显著降低($P < 0.05$);相比于CK处理,SLC处理的有机物降解率、产气量和产气速率显著提高($P < 0.05$)。由此可见,联合添加植物乳杆菌与纤维素酶能够显著改善桑枝叶青贮发酵品质,减少营养物质损耗,提高饲喂价值。

关键词:桑枝叶;植物乳杆菌;纤维素酶;发酵品质;产气特性

中图分类号:S816.53

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2026)01-0340-08

Effects of *Lactiplantibacillus plantarum* and Cellulase on *Morus alba* Leaf Silage Fermentation Quality

CHEN Xin-yi¹, LIU Guo-hong², YAN Yun-feng^{1,3}, ZHENG Xiao-kai¹, LI Hai-feng², MA Chun-hui^{1*}, ZHANG Fan-fan^{1*}

(1. School of Animal Science and Technology, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China; 2. Turpan Institute of Agricultural Science, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Turpan, Xinjiang 838000, China; 3. Jinzhou Vocational and Technical Education Center, Jinzhou, Hebei Province 052260, China)

Abstract: This study aimed to investigate the effects of co-adding *Lactiplantibacillus plantarum* and cellulase on the fermentation quality of mulberry (*Morus alba*) leaf silage and to provide a basis for the feed utilization of mulberry leaf resources. The experiment comprised three treatments: the CK group (no additives), the SL group added with *L. plantarum* (5×10^5 CFU·g⁻¹ FM), and the SLC group added with *L. plantarum* (5×10^5 CFU·g⁻¹ FM) and cellulase (0.3% FM). Each group had six replicates. After 60 days of fermentation, we analyzed sensory indicators, nutritional components, fermentation quality, and the number of major microorganisms. The gas production characteristics were evaluated by an in vitro fermentation test. The results showed that compared with the CK group, the contents of dry matter, crude protein, water-soluble carbohydrates, lactic acid, acetic acid, and the number of lactic acid bacteria in the SLC group showed significant increases

收稿日期:2024-12-11;修回日期:2025-03-03

基金项目:农业农村部国家现代农业产业技术体系项目(CARS-34);吐鲁番市重点研发专项“吐鲁番市特色林果副产物饲料化微贮技术研究”资助

作者简介:陈芯怡(2002-),女,汉族,重庆人,硕士研究生,主要从事牧草生产与加工研究,E-mail: 1641878056@qq.com;*通信作者 Author for correspondence, E-mail: zhangfanfan@shzu.edu.cn; chunhuima@126.com

($P < 0.05$), while the contents of neutral detergent fiber, acid detergent fiber, pH value, the number of yeast, mold, and aerobic bacteria decreased ($P < 0.05$). Compared with the CK group, the organic matter degradation rate, gas production, and gas production rate of the SLC group increased ($P < 0.05$). It is evident that the co-addition of *L. plantarum* and cellulase can significantly improve the fermentation quality of mulberry leaf silage, reduce nutrient loss, and enhance the feeding value.

Key words: *Morus alba* leaf silage; *Lactiplantibacillus plantarum*; Cellulase; Fermentation quality; *In vitro* rumen gas production

近年来,饲草资源短缺已成为我国畜牧业高质量发展的关键性瓶颈因素,这一现象在生态脆弱的新疆地区尤为突出。该地区的气候干燥、日照充足、昼夜温差大、无霜期短、降水稀少等特殊环境条件,孕育了特色桑树(*Morus alba*)种质资源。研究表明,新疆桑树不仅具有食用和药用价值^[1],其加工过程产生的副产品如果渣、枝叶等还富含营养成分,目前这些资源多被直接废弃。若通过青贮等技术实现饲料化利用,既可缓解当地“人畜争粮”矛盾,又能为畜牧业提供可持续的饲草来源,对新疆生态保护与畜牧产业协同发展具有双重意义。

桑枝叶中富含多种营养物质,但粗纤维含量较高且有抗营养因子单宁^[2],会降低家畜对含桑枝叶饲料的采食量和蛋白质利用率。此外,鲜桑叶水分含量高,自然干燥易发霉变质,难以长期保存。将桑枝叶进行青贮处理是保存其营养物质的有效方法,该方法还能有效降解桑叶中的抗营养因子、提高适口性。但由于桑枝叶具有蛋白质和纤维含量高、可溶性碳水化合物含量低的特点,单独青贮的效果并不理想。目前大量研究表明,在饲草单独青贮效果不理想的情况下添加不同的发酵剂,可有效提高青贮饲料的品质及营养价值^[3]。其中,植物乳杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*, LP)是目前青贮中最为常见的一种同型发酵乳酸菌(Lactic acid bacteria, LAB),其不仅对碳源的利用效率高,且相比于其他乳酸菌能够产生更多的乳酸(Lactic acid, LA)^[4],降低青贮体系pH值,以最大化减少营养物质的损失。此外它还能通过抑制其它有害微生物的繁殖,建立了较为平衡的发酵体系^[5],因此目前在常规或非常规饲料青贮中均被广泛使用。纤维素酶(Cellulase, CE)通过分解结构性碳水化合物产生可溶性碳水化合物^[6],为LAB的繁殖发酵提供了底物,优化了青贮发酵过程。添加纤维素酶有助于降低青贮饲料的pH值,进一步抑制了霉菌和腐败菌的生长,使青贮饲料得以长期保存^[7]。此外,添加纤维素酶还能限制氨态氮的产生,降低青贮中粗蛋白和粗脂肪的降解^[8],进一步证明了纤维素酶对青贮

饲料营养价值的积极影响。同时添加乳酸菌、纤维素酶相对单一添加更能提高青贮饲料的发酵品质,这在以往多种饲料青贮中均得到了印证^[8-9]。

鉴于此,本研究在白桑枝叶青贮过程中添加植物乳杆菌和纤维素酶,探讨植物乳杆菌和纤维素酶对桑枝叶青贮饲料青贮发酵品质和瘤胃体外产气特性的影响,为桑枝叶青贮饲料的生产利用及推广提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试桑枝叶 选择新疆吐鲁番市农业科学研究所试验地(89°20'46"N, 42°94'79"E)所种植的新疆白桑(*Morus alba*)的枝叶作为青贮原料。

1.1.2 供试添加剂 试验中采用的植物乳杆菌(*L. plantarum*, ACCC 11016)购买自中国农业微生物菌种保藏管理中心(Agricultural Culture Collection of China, ACCC)。纤维素酶Ⅱ(酶活 ≥ 5000 U·g⁻¹),粉末状,购自沧州夏盛酶生物技术有限公司^[8]。

1.2 试验方法

青贮试验共分三个处理,分别为CK(桑枝叶原料)处理,SL(添加 5×10^5 CFU·g⁻¹ FM植物乳杆菌)处理,SLC(添加 5×10^5 CFU·g⁻¹ FM植物乳杆菌和0.3%的纤维素酶)处理,每组6个重复。随机取样,测定其营养与发酵指标并进行感官评价。

采用厌氧袋(带单向排气阀)进行青贮,共计调制18袋。将桑枝叶原料粉碎至1 cm左右,青贮前按鲜重的1%在原料表面喷撒尿素(含氮量46%)为发酵剂中的微生物生长繁殖提供氮源。将各菌种分别在MRS(de Man, Rogosa, Sharpe)液体培养基、M17(Terzaghi, Sandine M17 Broth)液体培养基中培养,平板计数后确定其数量,按比例配置菌液,以鲜重为基础进行添加,CK处理喷洒等量的无菌水。装填压实,封口,做好标记,置于18~23℃条件下,自然发酵60 d。

发酵至第60 d取样,分析感官、营养、发酵指标及微生物数量,并测定瘤胃体外产气情况。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 青贮饲料感官鉴定 各处理青贮发酵至第60 d取样,参照德国农业协会青贮料感官评定标准^[10],对青贮进行感官评分(标准),分为优质、良好、一般和低劣四个等级。

1.3.2 营养品质与发酵品质测定 各处理青贮发酵至第60 d取样120 g用于测定营养品质,105℃烘干4 h,再转入65℃下至恒重,计算干物质含量(Dry matter, DM)。用饲料粉碎机磨细,通过1 mm孔筛,密封保存。粗蛋白(Crude protein, CP)采用凯氏定氮法测定^[11],可溶性碳水化合物(Water soluble carbohydrates, WSC)采用蒽酮比色法测定^[12],中性洗涤纤维(Neutral detergent fiber, NDF)和酸性洗涤纤维(Acid detergent fiber, ADF)的含量采用范氏(Van Soest)的洗涤纤维分析法测定^[13],粗脂肪(Ether extract, EE)采用全自动脂肪分析仪测定^[14]。

取10 g鲜样置于锥形瓶中用于测量发酵品质,加入90 mL蒸馏水,摇匀后用保鲜膜封口,放置在4℃冰箱24 h后取出。pH值采用精密pH计测定,乳酸、乙酸(Acetic acid, AA)、丙酸(Propionic acid, PA)和丁酸(Butyric acid, BA)含量采用高效液相色谱法测定,氨态氮(Ammonia nitrogen, NH₃-N)含量的测定采用苯酚-次氯酸比色法^[15]。

1.3.3 微生物数量测定 在各处理随机取20 g青贮样本装入180 mL无菌生理盐水的锥形瓶中,用恒温摇床振荡30 min;将样本液体稀释(无菌水9 mL、样本液体1 mL)到预先设计的梯度进行涂板后培养。LAB采用MRS培养基28℃培养24 h,霉菌(Mold)采用高盐察氏培养基37℃培养72 h,酵母菌(Yeast)采用麦芽糖浸粉琼脂培养基37℃培养72 h,好氧细菌(Aerobic bacteria, AB)采用营养琼脂培养基28℃培养24 h,培养结束后进行平板计数,并计算微生物数量。

1.3.4 瘤胃体外产气测定 精准称取各处理样品0.2 g备用。瘤胃液来自3头体重相近、身体健康,装有永久瘤胃瘘管的哈萨克羊,试验前3 d每天饲喂全混合日粮(Total mixed ration, TMR),于饲喂前1 h抽取瘤胃液。将瘤胃液过滤后,装入已预热且充有二氧化碳的保温瓶,用于配置后续的混合液。人工瘤胃液按照Menke法配置^[16],人工瘤胃液与瘤胃液按照2:1的比例混合,配成混合人工瘤胃

液(保持二氧化碳通入)。空白管仅加入混合人工瘤胃液,将发酵底物缓慢放入玻璃注射器底部,加入混合人工瘤胃液30 mL(保持二氧化碳通入),注射器内壁涂抹凡士林防止漏气,将玻璃注射器放入39℃的恒温振荡培养箱,立刻开始计时。每个处理设3个重复,同时设置3个空白组以校正发酵产气量,在发酵后0(初始发酵时间),2,4,6,8,10,12,18,24,36,42,48 h记录各时间段产气量,计算有机物降解率(Organic matter digestibility, OMD)、代谢能(Metabolizable energy, ME)和产气参数模型。

1.4 数据统计与分析

试验数据采用Microsoft Office Excel 2021整理试验数据,为了评估桑枝叶青贮效果,采用IBM SPSS Statistics 20软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)并采用Duncan法进行多重比较,利用Origin 2017软件进行绘图。产气参数模型采用DPSV7.05软件中一元非线性回归模型(Gompertz模型)计算。OMD和ME计算公式^[17-18]:

$$OMD=0.986 \times GP+0.0606 \times CP+11.03$$

$$ME=0.1639 \times GP+0.0079 \times CP+0.0239 \times EE+0.04$$

$$X_2=C_1 \times \exp[-C_2 \times \exp(-C_3 \times X_1)]$$

式中:GP为24 h的产气量(mL);CP为粗蛋白质含量(%);EE为粗脂肪含量(%)。X₂为产气量(mL);C₁为理论最大产气量(mL);C₂为产气速率(mL·h⁻¹);C₃为产气延滞时间(h);X₁为体外培养时间(h)。

2 结果与分析

2.1 不同处理对桑枝叶青贮饲料感官指标的影响

表1为桑枝叶青贮饲料不同处理的各项感官指标评价结果。SLC处理的桑枝叶青贮感官总体评定高于其他处理。

2.2 桑枝叶青贮发酵过程中发酵指标和微生物数量的变化

对各处理桑枝叶发酵指标及主要微生物数量的测定结果表明(表2),在青贮第60 d,SLC处理的DM含量显著高于CK处理和SL处理($P<0.05$)。SLC处理和SL处理中的CP含量均显著高于CK处理($P<0.05$)。SL处理EE含量显著高于CK处理($P<$

表 1 添加植物乳杆菌和纤维素酶对桑枝叶青贮饲料的感官指标总评价的影响

Table 1 Effect of adding *Lactiplantibacillus plantarum* and cellulase on the total evaluation of sensory indicators in *Morus alba* foliage

组别 Groups	气味 Smell	颜色 Colour	质地 Texture	等级 Grades
CK	醋酸味 Acetic odor	黄绿色 Yellow-green	略硬 Moderately firm	良好 Good
SL	醋酸味 Acetic odor	黄褐色 Yellow-brown	松软 Tender	良好 Good
SLC	香酸味 Pleasant lactic aroma	黄褐色 Yellow-brown	松软 Tender	优质 Excellent

注:表中 CK 表示对照组,SL 表示添加植物乳杆菌,SLC 表示联合添加植物乳杆菌和纤维素酶。下表同

Note: CK in the table represents the control group, SL represents the addition of *L. plantarum*, and SLC represents the combined addition of *L. plantarum* and cellulase. The same as below

0.05)。各处理之间 NDF 和 ADF 含量差异显著($P<0.05$),其中 SLC 处理的 NDF 含量和 SL 处理的 ADF 含量最低。不同处理的 WSC 含量差异显著($P<0.05$),SLC 处理的 WSC 含量最高。

各处理的 LA 含量差异显著($P<0.05$),其中 SLC 处理的 LA 含量最高。SL 处理的 AA 含量显著高于 CK 处理($P<0.05$)。SLC 处理和 SL 处理的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量显著低于 CK 处理($P<0.05$)。未检测

到丁酸的存在。结果显示,各个处理的 pH 值均下降,SL 处理的 pH 值和 SLC 处理的 pH 值均显著低于 CK 处理($P<0.05$)。

各处理的乳酸菌数量有显著差异($P<0.05$),其中 SLC 处理的乳酸菌数量最高。各处理的酵母菌数量、霉菌数量和好氧细菌数量均有显著差异($P<0.05$),其中 SLC 处理的酵母菌数量、霉菌数量和好氧细菌数量最低。

表 2 添加植物乳杆菌和纤维素酶对桑枝叶青贮饲料营养品质和发酵品质、微生物数量的影响

Table 2 Effect of *Lactiplantibacillus plantarum* and cellulase on nutritional quality and fermentation quality of *Morus alba* foliage

指标 Index	原料 Raw material	组别 Groups			均值标准差 SEM	P 值 P value
		CK	SL	SLC		
干物质的量 DM/%	50.35	40.58 ^b	41.62 ^b	43.15 ^a	0.544	0.009
粗蛋白 CP/(%DM)	14.66	13.46 ^b	13.64 ^a	13.73 ^a	0.044	0.002
中性洗涤纤维 NDF/(%DM)	54.30	46.25 ^a	43.32 ^b	41.27 ^c	2.166	<0.001
酸性洗涤纤维 ADF/(%DM)	27.06	25.74 ^a	23.43 ^c	24.70 ^b	1.020	<0.001
可溶性碳水化合物 WSC/(%DM)	8.38	2.78 ^c	3.56 ^b	4.75 ^a	0.875	<0.001
粗脂肪 EE/(%DM)	5.92	4.88 ^b	5.17 ^a	5.11 ^{ab}	0.096	0.050
pH	6.82	5.57 ^a	5.38 ^b	4.80 ^c	0.116	<0.001
乳酸 LA/(g·kg ⁻¹ FM)	ND	9.47 ^b	16.86 ^a	21.14 ^a	1.883	0.006
乙酸 AA/(g·kg ⁻¹ FM)	ND	6.45 ^a	3.40 ^b	6.76 ^a	0.663	0.043
丙酸 PA/(g·kg ⁻¹ FM)	ND	0.73	0.69	0.64	0.294	0.508
丁酸 BA/(g·kg ⁻¹ FM)	ND	ND	ND	ND		
氨态氮/总氮 $\text{NH}_3\text{-N/TN}$	1.82	8.16 ^a	5.77 ^b	5.50 ^b	1.290	0.001
乳酸菌 LAB/(lg CFU·g ⁻¹ FM)	5.24	4.35 ^c	4.46 ^b	4.71 ^a	0.169	<0.001
酵母菌 Yeast/(lg CFU·g ⁻¹ FM)	4.74	3.73 ^a	3.29 ^b	2.44 ^c	0.572	<0.001
霉菌 Mold/(lg CFU·g ⁻¹ FM)	2.83	3.13 ^a	2.69 ^b	2.13 ^c	0.435	<0.001
好氧细菌 AB/(lg CFU·g ⁻¹ FM)	8.63	6.84 ^a	6.56 ^b	6.38 ^c	0.200	<0.001

注:SEM 为平均值的标准方差,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($P>0.05$)。ND 表示未检出。下表同

Note: SEM stands for standard deviation of the mean. Different lowercase letters in superscript indicate significant differences ($P<0.05$), while the same or no letters indicate no significant differences ($P>0.05$). ND indicates not detected. The same as below

2.3 不同处理对桑枝叶青贮饲料体外消化率的影响

体外产气过程中,各组分产气量均呈现上升趋势,在接近 48 h 均已达到最大产气量。产气规律分析显示,桑枝叶青贮在发酵过程中的产气量均呈现出先上升后稳定的趋势。

发酵 60 d 桑枝叶青贮体外产气规律如图 1 所示,发酵第 2,4,6 h 时,SL 处理和 SLC 处理产气量显著高于 CK 处理($P<0.05$),SLC 处理显著高于 SL 处理的产气量($P<0.05$)。

60 d 桑枝叶青贮 OMD 和 ME、产气模型参数如表 3 所示,SL 处理和 SLC 处理的 OMD,ME 均显著

高于CK处理($P<0.05$)。SL处理和SLC处理的理论最大产气量均显著高于CK处理($P<0.05$)。SLC处理的产气延滞时间显著长于CK处理和SL处理($P<0.05$)。

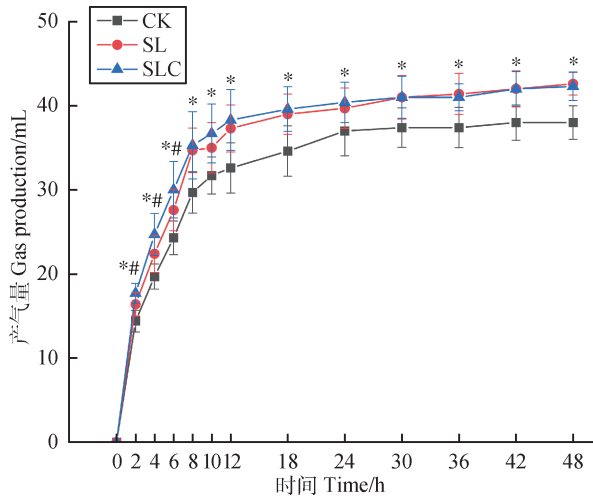


图 1 桑枝叶青贮体外产气规律

Fig. 1 *in vitro* rumen gas production in *Morus alba* foliage
注:图中误差棒表示标准差($n=3$)。*表示SL,SLC处理与CK处理差异显著($P<0.05$),#表示SL与SLC处理间差异显著($P<0.05$)
Note: Error bars represent standard deviation ($n=3$). * indicates significant difference between SL/SLC and CK ($P<0.05$), # indicates significant difference between SL and SLC ($P<0.05$)

3 讨论

3.1 桑枝叶青贮发酵过程中营养品质、发酵品质和微生物数量的变化

青贮饲料的DM含量是衡量青贮饲料品质的重

要指标。植物乳杆菌属于同型发酵乳酸菌,能高效生产LA,使pH值快速降低^[19],抑制酵母菌的活性,最大限度减少DM损失。组合添加纤维素酶可将原料中的结构性碳水化合物降解为单糖或双糖,为缺乏WSC的桑枝叶提供充足的发酵底物^[4],促进了乳酸菌的生长与代谢活动,减缓了DM的消耗速度。本研究中,SLC处理的DM含量显著高于CK处理和SL处理,与以往在天然牧草青贮中的研究结果一致^[20]。CP含量是饲料饲用价值的重要指标。本试验中SLC处理的CP含量显著高于CK处理,可能由于添加植物乳杆菌和纤维素酶产生的酸性环境抑制了不良蛋白水解细菌的活性,促进纤维成分降解,有助于促进微生物的增殖;随着微生物数量的增加,菌体蛋白的含量得到提升,同时青贮饲料中CP的损失也得到了减缓。这与以往在锦鸡儿(*Caragana korshinskii*)青贮中添加植物乳杆菌和纤维素酶的研究结果一致^[21]。饲料中含有一定量的NDF和ADF对维持瘤胃正常的发酵功能具有重要意义,但其含量过高则会使动物干物质采食量降低^[22]。本研究中,SLC处理的NDF和ADF显著低于CK处理,说明添加植物乳杆菌和纤维素酶能促进NDF和ADF的降解,这与以往在决明子(*Cassia alata*)青贮中的研究结果一致^[23]。以往研究认为,同时添加乳酸菌和纤维素酶对植物细胞壁降解具有协同作用,并通过对紫花苜蓿青贮试验得到联合添加发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*, LF)和纤维素酶处理的NDF和ADF含量降低效果优于单独添加发酵乳杆菌或纤维素酶的结果^[24]。

表 3 添加植物乳杆菌和纤维素酶对桑枝叶青贮的有机物降解率、代谢能和产气模型参数的影响

Table 3 Effects of mixed silage of *Morus alba* foliage on organic matter degradation rate, metabolic energy and gas production model parameters

指标 Index	处理 Treatments			均值标准差 SEM	P 值 P value
	CK	SL	SLC		
有机物降解率 OMD/%	48.38 ^c	51.10 ^b	51.60 ^a	1.508	<0.001
代谢能 ME/(MJ·kg ⁻¹)	6.34 ^c	6.79 ^b	6.88 ^a	0.251	<0.001
理论最大产气量 C ₁ /mL	32.41 ^b	36.90 ^a	37.30 ^a	2.361	0.000
产气速率 C ₂ /(mL·h ⁻¹)	1.69	2.36	2.41	0.670	0.388
产气延滞时间 C ₃ /h	0.40 ^b	0.41 ^b	0.47 ^a	0.031	<0.001

在本研究中,SLC处理的WSC最高,可能是由于添加植物乳杆菌和纤维素酶对植物细胞壁降解具有协同作用。以往研究表明,在紫花苜蓿(*Medicago sativa*)^[25]、王草(*Cenchrus purpureus*)和水稻(*Oryza sativa*)秸秆混合青贮^[26]中添加植物乳杆菌或纤维素酶能显著提高青贮中WSC的含量。pH值

和有机酸含量作为评价青贮饲料发酵品质好坏的重要指标,能直观地反映不同处理对桑枝叶青贮品质的影响。在本试验中,SLC处理的pH值为4.8,说明联合添加植物乳杆菌和纤维素酶能显著改善桑枝叶青贮的发酵品质。这可能是因为纤维素酶将原料中的结构性碳水化合物分解为单糖或双糖,

为乳酸菌发酵提供发酵底物,生成更多LA,降低pH值^[27]。而NH₃-N的含量可以反映饲料中蛋白质及氨基酸分解的程度。低pH可抑制细菌对蛋白质和氨基酸的降解^[28],这与本研究中SLC处理中NH₃-N含量最低的结果一致。

在本研究中,SL处理中乳酸菌数量显著多于CK处理,而SLC处理中的乳酸菌数量显著多于SL处理。这是由于纤维素酶分解结构性碳水化合物并将其转化为WSC,为乳酸菌的生长繁殖提供了底物,说明联合添加植物乳杆菌和纤维素酶能快速形成以乳酸菌为主导的青贮酸性发酵体系,这与以往研究在象草(*Pennisetum purpureum* Schumach)青贮^[29]中的研究结果一致。酵母菌是兼性厌氧真核生物,在有氧条件下消耗青贮干物质进行生长繁殖,在厌氧条件下发酵LA和还原糖产生乙醇^[30],若青贮窖开封青贮饲料中的酵母菌会引起二次发酵使青贮温度升高,气味颜色改变,营养价值下降。当乳酸菌在数量上占据优势,LA升高,pH值降低时,酵母菌的活性降低,这与本试验结果一致。乳酸菌造就的厌氧和低酸环境抑制了霉菌的繁殖^[31],故本试验SL处理和SLC处理霉菌数量显著低于CK组。青贮中的好氧细菌会导致青贮温度升高,营养成分损失和品质下降^[31]。SLC处理的桑枝叶青贮的好氧细菌数量显著少于SL处理,说明纤维素酶的添加加速了乳酸菌的生长繁殖,消耗氧气的速度越快,好氧细菌的数量越少。这与以往在全株玉米(*Zea mays*)和花生(*Arachis hypogaea*)混合青贮^[32]中的研究结果一致。

3.2 不同处理对桑枝叶青贮饲料体外消化率的影响

青贮饲料的体外产气分析是评估其发酵特性和营养价值的重要方法^[33],通过观察产气情况,可以了解桑枝叶青贮饲料在瘤胃内的可发酵性和微生物的活性^[34]。在本研究中,SLC处理的OMD最高,可能是因为青贮中添加的植物乳杆菌在青贮初期快速繁殖,创造了有利于有益微生物生长的酸性环境^[35];而纤维素酶能够将纤维素和半纤维素分解为小分子糖类,为微生物生长提供更易利用的碳源,从而促进微生物的生长与代谢活动^[36];二者协同作用优化了微生物群落结构,提升了微生物对青贮原料中难降解有机物的分解效率。当OMD处于较高水平时,意味着有更丰富的可被微生物分解代

谢的底物,微生物在利用这些底物进行代谢活动过程中会产生气体作为代谢产物之一^[37]。因此,较高的OMD为产气过程提供了充足的物质基础,驱动了微生物代谢产气量的提升,进而使得理论最大产气量相应增高。这与本研究中SLC处理同时显著上升的OMD和理论最大产气量的结果一致。代谢能是动物采食饲料后真正用于维持生命和生产的能量,饲料的OMD与ME密切相关^[38],OMD越高,可被动物利用转化为ME的能量也越多,这与本研究的结果一致。尽管SLC处理的产气延滞时间更长,但后续能产生稳定且较高的产气量,说明该青贮饲料仍具有一定的发酵潜力和能量释放能力^[39]。

4 结论

向桑枝叶青贮中联合添加植物乳杆菌(5×10^5 CFU·g⁻¹ FM)和纤维素酶(0.3% FM)可维持发酵末期乳酸菌数量及pH稳定,减少霉菌及好氧细菌的滋生,同时最大程度减少底物营养损失,提高家畜对原料的消化率。

参考文献

- [1] 刘利,张林,李龙. 新疆维吾尔自治区桑树资源调查[J]. 丝绸,2011,48(12):61-65
LIU L, ZHANG L, LI L. Investigation of mulberry germplasm resources in Xinjiang Uygur autonomous region[J]. Journal of Silk, 2011, 48(12): 61-65
- [2] 王永昌,翟双双,李孟孟,等. 不同产地桑枝茎叶营养成分分析及四川白鹅对其养分利用率的测定[J]. 中国饲料,2016(16):18-22,27
WANG Y C, ZHAI S S, LI M M, et al. Analysis of nutritional components of mulberry twig leaves from different producing areas and the nutrient utilization efficiency in Sichuan white geese[J]. China Feed, 2016(16): 18-22, 27
- [3] FILYA I, MUCK R E, CONTRERAS-GOVEA F E. Inoculant effects on alfalfa silage: fermentation products and nutritive value[J]. Journal of Dairy Science, 2007, 90(11): 5108-5114
- [4] ZHANG F F, WANG X Z, LU W H, et al. Meta-analysis of the effects of combined homo- and hetero-fermentative lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage[J]. International Journal of Agriculture and Biology, 2018, 20: 1846-1852
- [5] 巨纪. 纤维素酶和植物乳杆菌对柠条青贮品质、细菌群落和体外瘤胃发酵参数的影响[D]. 呼和浩特:内蒙古民族大学, 2024: 27
JU J. Effects of cellulase and *Lactiplantibacillus plantarum* on the fermentation quality, bacterial flora and in vitro rumen fermentation parameters of *Caragana korshinskii* silage [D].

- Hohhot: Inner Mongolia Minzu University, 2024: 27
- [6] 汪磊. 纤维素酶对青稞秸秆青贮品质的影响[J]. 中国草食动物科学, 2014, 34(3): 78-79
- WANG L. Effect of cellulase on the quality of highland barley straw silage[J]. China Herbivore Science, 2014, 34(3): 78-79
- [7] BAI B C, QIU R, WANG Z J, et al. Effects of cellulase and lactic acid bacteria on ensiling performance and bacterial community of *Caragana korshinskii* silage[J]. Microorganisms, 2023, 11(2): 337
- [8] 赵超, 陈琼, 李越, 等. 乳酸菌和纤维素酶对马蹄渣和玉米蛋白粉混合青贮饲料品质及体外瘤胃发酵特性的影响[J]. 动物营养学报, 2024, 36(5): 3340-3351
- ZHAO C, CHEN Q, LI Y, et al. Effects of lactic acid bacteria and cellulase on quality and *in vitro* rumen fermentation characteristics of mixed silage of chinese water chestnut residue and corn gluten meal[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2024, 36(5): 3340-3351
- [9] 张俊丽, 高旭红, 梁小军. 不同添加剂对干谷草秸秆发酵品质与营养价值的影响[J]. 饲料研究, 2023, 46(18): 108-113
- ZHANG J L, GAO X H, LIANG X J. Effect of different additives on fermentation quality and nutritional value of dried millet grass straw[J]. Feed Research, 2023, 46(18): 108-113
- [10] ZHU Y, NISHINO N, KISHIDA Y, et al. Ensiling characteristics and ruminal degradation of Italian ryegrass and lucerne silages treated with cell wall-degrading enzymes[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1999, 79(14): 1987-1992
- [11] 任晓岚, 段涵怡, 杨雪, 等. 桑叶蛋白的超声分级提取及体外抗氧化活性分析[J]. 饲料工业, 2023, 44(7): 15-24
- REN X L, DUAN H Y, YANG X, et al. Ultrasonic grading extraction and antioxidant activity analysis of protein from mulberry leaf[J]. Feed Industry, 2023, 44(7): 15-24
- [12] 闫艳红, 李君临, 郭旭生, 等. 多花黑麦草与大豆秸秆混合青贮发酵品质的研究[J]. 草业学报, 2014, 23(4): 94-99
- YAN Y H, LI J L, GUO X S, et al. A study on fermentation quality of Italian ryegrass and soybean straw mixed silage[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2014, 23(4): 94-99
- [13] 路平乐, 魏玉明, 杨发荣, 等. 体外产气法评价全株藜麦与全株玉米混合青贮饲料饲用价值[J]. 草地学报, 2021, 29(11): 2391-2398
- LU P L, WEI Y M, YANG F R, et al. Feeding value evaluation of mixed silage of whole plant green quinoa and green corn by using an *in vitro* gas production technique[J]. Acta Agrestia Sinica, 2021, 29(11): 2391-2398
- [14] 高龙, 张娟, 戈辰妍, 等. 添加植物乳杆菌、布氏乳杆菌对杂交狼尾草青贮发酵品质及有氧稳定性的影响[J]. 草地学报, 2023, 31(12): 3867-3875
- GAO L, ZHANG J, GE C Y, et al. Effects of adding *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* on silage fermentation quality and aerobic stability of *Pennisetum glaucum* × *purpureum*[J]. Acta Agrestia Sinica, 2023, 31(12): 3867-3875
- [15] 宗成, 吴金鑫, 朱九刚, 等. 添加剂对农副产物和小麦秸秆混合青贮发酵品质的影响[J]. 中国农业科学, 2022, 55(5): 1037-1046
- ZONG C, WU J X, ZHU J G, et al. Effects of additives on the fermentation quality of agricultural by-products and wheat straw mixed silage[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2022, 55(5): 1037-1046
- [16] MENKE K H, RAAB L, SALEWSKI A, et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*[J]. The Journal of Agricultural Science, 1979, 93(1): 217-222
- [17] MORAÏS S, MIZRAHI I. The road not taken: the rumen microbiome, functional groups, and community states[J]. Trends in Microbiology, 2019, 27(6): 538-549
- [18] SCHOFIELD P, PITT R E, PELL A N. Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas production[J]. Journal of Animal Science, 1994, 72(11): 2980-2991
- [19] 蒋润瑶, 武伟成, 陈东, 等. 杏鲍菇菌糠与植物乳杆菌对全株水稻青贮品质和体外瘤胃发酵特性的影响[J]. 饲料研究, 2024(21): 109-114
- JIANG R Y, WU W C, CHEN D, et al. Effects of *Pleurotus eryngii* fungus bran and *Lactobacillus plantarum* on whole-plant rice silage and rumen fermentation characteristics *in vitro*[J]. Feed Research, 2024(21): 109-114
- [20] 刘逸超, 贾玉山, 降晓伟, 等. 纤维素酶和糖蜜对天然牧草青贮品质和微生物组成的影响[J]. 中国草地学报, 2022, 44(12): 64-72
- LIU Y C, JIA Y S, JIANG X W, et al. Effects of cellulase and molasses on quality and microbial composition of natural forage silage[J]. Chinese Journal of Grassland, 2022, 44(12): 64-72
- [21] JU J, ZHANG G J, XIAO M, et al. Effects of cellulase and *Lactiplantibacillus plantarum* on the fermentation quality, microbial diversity, gene function prediction, and *in vitro* rumen fermentation parameters of *Caragana korshinskii* silage[J]. Frontiers in Food Science and Technology, 2023, 2: 1108043
- [22] NAGEL S A, BRODERICK G A. Effect of formic acid or formaldehyde treatment of alfalfa silage on nutrient utilization by dairy cows 1[J]. Journal of Dairy Science, 1992, 75(1): 140-154
- [23] XIAN Z Y, WU J Q, DENG M, et al. Effects of cellulase and *Lactiplantibacillus plantarum* on the fermentation parameters, nutrients, and bacterial community in *Cassia alata* silage[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 926065
- [24] SU R N, NI K K, WANG T W, et al. Effects of ferulic acid esterase-producing *Lactobacillus fermentum* and cellulase additives on the fermentation quality and microbial community of alfalfa silage[J]. PeerJ, 2019, 7: e7712
- [25] PENG W, ZHANG L Y, WEI M L, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* (L) and molasses (M) on nutrient composition, aerobic stability, and microflora of alfalfa silage in sandy grasslands[J]. Frontiers in Microbiology, 2024, 15: 1358085
- [26] QIU C C, LIU N B, DIAO X G, et al. Effects of cellulase and xylanase on fermentation characteristics, chemical composition

- and bacterial community of the mixed silage of king grass and rice straw[J]. *Microorganisms*, 2024, 12(3):561
- [27] 杨炜迪,梁小军,张俊丽. 纤维素酶、有机酸等添加剂对干芦苇发酵品质及饲用价值的影响[J]. *中国饲料*, 2024(11): 161-166
- YANG W D, LIANG X J, ZHANG J L. Effects of additives such as cellulase and organic acids on the fermentation quality and feeding value of dried reed[J]. *China Feed*, 2024(11): 161-166
- [28] 黎梅杰,蒋金娟,罗富成,等. 混合比例和纤维素酶对甘蔗梢、玉米秆混合青贮品质的影响[J]. *饲料研究*, 2024, 47(13): 112-117
- LI M J, JIANG J J, LUO F C, et al. Effects of mixing ratio and cellulase on quality of mixed silage of sugarcane tip and corn stalks[J]. *Feed Research*, 2024, 47(13): 112-117
- [29] 武齐丰,陈晨,黄沁骄,等. 纤维素酶和乳酸菌对杂交象草青贮结构性碳水化合物影响[J]. *草地学报*, 2024, 32(7): 2314-2322
- WU Q F, CHEN C, HUANG Q J, et al. Effects of cellulase and high-temperature tolerant lactic acid bacteria on structural carbohydrate of (*Pennisetum ameri-canum* × *P. purpureum*) × *P. durpureum schum.* [J] *Acta Agrestia Sinica*, 2024, 32(7): 2314-2322
- [30] 郝若晨,文洋,徐进鹏,等. 微生物菌剂在不同饲料原料青贮过程中的应用[J]. *中国草食动物科学*, 2024, 44(3): 76-82
- HAO R C, WEN Y, XU J P, et al. Application of silage microbial agents in different silage raw materials[J]. *China Herbivore Science*, 2024, 44(3): 76-82
- [31] 田吉鹏,程云辉,刘蓓一,等. 乳酸菌对不同果穗状态全株青贮玉米饲料品质的影响[J]. *安徽农业科学*, 2024, 52(11): 72-75, 79
- TIAN J P, CHENG Y H, LIU B Y, et al. Effect of lactic acid bacteria on the quality of whole crop corn silage in different ear states [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2024, 52(11): 72-75, 79
- [32] WANG Q D, WANG R X, WANG C Y, et al. Effects of cellulase and *Lactobacillus plantarum* on fermentation quality, chemical composition, and microbial community of mixed silage of whole-plant corn and peanut vines[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2022, 194(6): 2465-2480
- [33] 王芳,徐元君,牛俊丽,等. 体外产气法评价反刍动物饲料营养价值的研究[J]. *中国畜牧兽医*, 2016, 43(1): 76-83
- WANG F, XU Y J, NIU J L, et al. Nutrient value evaluation of different type feeds by *in vitro* gas production method [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2016, 43(1): 76-83
- [34] 陈伟健,王翀,段智勇,等. 反刍动物饲料组合效应的衡量指标及评估方法综述[J]. *中国牛业科学*, 2011, 37(2): 61-65
- CHEN W J, WANG C, DUAN Z Y, et al. The measurements and methods for evaluation of associative effects in ruminants[J]. *China Cattle Science*, 2011, 37(2): 61-65
- [35] 包维臣,郭健林,张和平. 一株用于苜蓿青贮的植物乳杆菌的研究[C]//中国食品科学技术学会. 乳酸菌与人体健康:第十届乳酸菌与健康国际研讨会摘要汇编. 上海:内蒙古和美科盛生物技术有限公司;内蒙古农业大学乳品生物技术与工程教育部重点实验室, 2015: 58-59
- BAO W C, GUO J L, ZHANG H P. A study on a strain of *Lactobacillus plantarum* used to alfalfa silage [C]//Chinese Institute of Food Science and Technology. Lactic Acid Bacteria and Human Health: Compilation of Abstracts from the 10th International Symposium on Lactic Acid Bacteria and Health. Shanghai: Beijing Sci-Plus Biotech Co., Ltd; key Laboratory of Dairy Biotechnology and Engineering Ministry of Education, Inner Mongolia Agricultural University, 2015: 58-59
- [36] 易兰兰,朱俊红,程文杰,等. 植物纤维的降解机制及菌酶协同发酵应用[J]. *动物营养学报*, 2024, 36(3): 1361-1374
- YI L L, ZHU J H, CHENG W J, et al. Degradation mechanism of plant fiber and application of synergistic fermentation of bacteria and enzymes [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2024, 36(3): 1361-1374
- [37] 耿春银,赵丽萍,何立文,等. 活性干酵母与酵母培养物对体外瘤胃发酵参数影响的比较[J]. *中国畜牧兽医*, 2016, 43(11): 2931-2938
- GENG C Y, ZHAO L P, HE L W, et al. Comparison of the effects of active dry yeast and yeast culture on rumen fermentation parameters [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2016, 43(11): 2931-2938
- [38] 曹凯,张勇,王雁坡,等. 体外产气法评价辣木叶与玉米的组合效应[J]. *中国畜牧杂志*, 2017, 53(3): 73-78
- CAO K, ZHANG Y, WANG Y P, et al. Evaluation of associative effects of *Moringa oleifera* leaves and corn by using an *in vitro* gas production technique [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2017, 53(3): 73-78
- [39] 杜晋平,殷裕斌,邓代君,等. 玉米秸青贮和晒干过程中化学成分变化及碳水化合物组分发酵动力学[J]. *中国畜牧杂志*, 2010, 46(23): 36-40
- DU J P, YIN Y B, DENG D J, et al. Study on the changes of chemical compositions and fermentation kinetics of corn stover after ensiling and drying [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2010, 46(23): 36-40

(责任编辑 闵芝智)