生物技术通报
· 技术与方法 · BIOTECHNOLOGY BULLETIN 2026, 42(10):37-46

基于复合菌的玉米芯发酵工艺构建与优化

陈文燕[1] 周瑞[1,2] 吴慧昊[1] 李耀东[1] 杨婕[1] 臧荣鑫[1*] 徐红伟[1*]
（1.西北民族大学生命科学与工程学院,兰州 730100；2.绿色牧业中心,兰州 730030）

摘 要： 【目的】高木质素秸秆因酸性洗涤木质素（acid detergent lignin, ADL）含量高导致饲料化利用率低。构建白腐真菌-枯草芽胞杆菌-毕赤酵母的复合菌发酵工艺，探究其协同降解玉米芯效果。【方法】以分离自香菇的白腐真菌BF-1为核心功能菌，搭配枯草芽胞杆菌、毕赤酵母构建三菌复合发酵体系（菌体量1∶1∶1），设BF-1单菌发酵为对照，均以玉米芯为基质。通过单因素试验（温度28-32 ℃、含水量40%-50%、接种量1%-5%）比较ADL降解效果，再用响应面法优化三菌体系发酵条件；结合扫描电镜观察玉米芯形态变化，测定粗蛋白（crude protein, CP）、中性洗涤纤维（neutral detergent fiber, NDF）、酸性洗涤纤维（acid detergent fiber, ADF）等指标，评价相对饲用价值（relative feed value, RFV）和相对饲用品质（relative feed quality, RFQ）。【结果】单因素试验表明，两种体系均在温度30 ℃、含水量45%、接种量3%时ADL降解效果最优，单菌发酵ADL降解率为42.29%，三菌发酵ADL降解率为58.83%，且三菌发酵降解效果显著优于单菌发酵（$P<0.01$）。响应面法优化三菌发酵最佳条件为温度29.8 ℃、含水量45.2%、接种量3.1%，此时ADL降解率达63.42%。发酵过程中，其Lac、MnP和LiP活性随时间持续升高。扫描电镜结果显示，三菌发酵后玉米芯表面结构破坏更明显，呈松散多孔特征；发酵21 d后，三菌体系玉米芯CP含量显著提升1.43%（$P<0.01$），NDF和ADF含量显著降低（$P<0.01$），其降解率分别为22.12%，33.97%，RFQ和RFV分别提高82.80%、17.21%。【结论】三菌协同发酵可高效降解玉米芯木质素，ADL降解率达63.42%，粗蛋白提升1.43%，纤维显著降解，相对饲用品质提高82.80%，饲用价值大幅提升，为玉米芯饲料化利用提供技术支撑。

关键词： 白腐真菌；玉米芯；酸性洗涤木质素；营养品质；饲用价值
DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2025-1369

Construction and Optimization of Corncob Fermentation Process Using Composite Microbial Inoculum

CHEN Wen-yan[1] ZHOU Rui[1,2] WU Hui-hao[1] LI Yao-dong[1] YANG Jie[1] ZANG Rong-xin[1*] XU Hong-wei[1*]
（1. *School of Life Science and Engineering, Northwest Minzu University, Lanzhou* 730100; 2. *Green Animal Husbandry Center, Lanzhou* 730030）

Abstract: 【Objective】 High-lignin straw exhibits low feed utilization efficiency due to its high content of acid detergent lignin (ADL). We developed a composite fermentation process using white-rot fungus, *Bacillus subtilis*, and *Pichia pastoris*, and evaluated its synergistic degradation effect in corncob. 【Method】 We constructed a three-strain composite fermentation system consisting of white-rot fungus BF-1 (isolated from *Lentinula edodes*) as the core functional strain, together with *Bacillus subtilis* and *Pichia pastoris* at a cell mass ratio of 1∶1∶1. Corncob served as the fermentation substrate, and single-strain fermentation of BF-1 was used as the control. The degradation efficiency of ADL was compared using single-factor experiments (temperature: 28-32 ℃, moisture content: 40%-50%, inoculum size: 1%-5%). Response surface methodology was then employed to optimize the fermentation conditions for the three-strain system. Morphological changes in corncobs were examined by scanning electron microscopy (SEM). Crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), and acid detergent fiber (ADF) were measured to evaluate the relative feed value (RFV) and relative feed quality (RFQ). 【Result】 Single-factor experiments showed that both fermentation systems achieved optimal ADL degradation at 30 ℃, 45% moisture content, and 3% inoculum size. Under these conditions, the

收稿日期：2025-12-15
基金项目：甘肃省现代寒旱特色农业科技支撑计划项目（KJZC-2025-12），甘肃省现代农业产业技术体系岗位专家项目（GSARS02），甘肃省科技计划项目（24ZDNA004，24YFWA016），西北民族大学中央高校基本科研业务费专项资金（31920250024）
*通信作者：臧荣鑫 rxzang2000@163.com，徐红伟 xuhongwei@xbmu.edu.cn

ADL degradation rate of single-strain fermentation was 42.29%, while that of the three-strain fermentation was 58.83%. The degradation efficiency of the three-strain system was significantly higher than that of the single-strain system (P<0.01). Response surface methodology identified the optimal conditions for three-strain fermentation as 29.8 ℃, 45.2% moisture, and 3.1% inoculum, achieving an ADL degradation rate of 63.42%. During fermentation, the activities of laccase (Lac), manganese peroxidase (MnP), and lignin peroxidase (LiP) increased continuously over time. Scanning electron microscopy revealed that after three-strain fermentation, the surface structure of the corncob was more significantly disrupted, exhibiting a loose and porous morphology. After 21 days of fermentation, the CP content in the three-strain system increased by 1.43% (P<0.01), while NDF and ADF contents decreased significantly (P<0.01), with degradation rates of 22.12% and 33.97%, respectively. RFQ and RFV increased by 82.80% and 17.21%, respectively. 【Conclusion】 The three-strain synergistic fermentation effectively degraded corncob lignin, achieving an ADL degradation rate of 63.42%, a 1.43% increase in CP content, and significant fiber degradation. RFQ was increased by 82.80%, and RFV was substantially enhanced. These findings provide a technical support for the utilization of corncobs as animal feed.

Keywords: white-rot fungi; corncob; acid detergent lignin; nutritional quality; feeding value

高木质素秸秆是重要的非常规饲料资源，因其酸性洗涤木质素（acid detergent lignin, ADL）紧密包裹营养成分，导致营养成分难以释放，饲料化利用率长期处于极低水平，严重限制了其在饲料领域的规模化应用[1]。我国作为农业大国，小麦秸秆、稻草、甘蔗渣等主要农作物秸秆年总产量超8亿t，这类秸秆的木质素含量占干重15%左右[2]。不仅阻碍牲畜对营养成分的消化吸收，导致这类高木质素秸秆的饲料化利用率低于30%，还限制了其资源化潜力的发挥[3]。因此，开发高效、绿色的木质素降解技术，破解木质素对秸秆营养组分包裹的难题，对于推动秸秆类资源的饲料化、高值化利用，缓解饲料资源短缺压力具有重要意义。

利用微生物发酵降解木质素是实现农业废弃物资源化利用的有效途径。其中，白腐真菌作为高效木质素降解微生物，因能分泌漆酶（Lac）、锰过氧化物酶（MnP）和木质素过氧化物酶（LiP）等特异性酶系，优先破坏木质素结构，被广泛应用于单一菌种发酵研究[4]。研究表明，牛奶菇（*Calocybe indica*）处理甘蔗渣56 d后，木质素降解率达49.3%，干物质体外消化率提升1.39倍[5]；白腐真菌处理啤酒糟后，其营养与功能特性显著改善[6]。特定的白腐真菌组合在固态发酵过程中能产生显著的协同效应[7]。这种效应并非简单的叠加，而是不同菌种在共享的固态基质上相互作用，可能通过信号交流、营养互补或生态位分化等方式，共同激活或强化了木质素降解酶系的合成途径[8]。实验证实，这种共培养策略比单一菌株的“单培养”更能有效提升相关酶的活性。此外，枯草芽胞杆菌也展现出一定的木质素降解潜力，从南海沉积物中分离的木质素芽胞杆菌L1（*Bacillus ligniniphilus* L1），以木质素为唯一碳源培养7 d，降解率约38.9%，同时其分泌的抗菌肽还能改善微生物生长环境[9]；毕赤酵母则可通过糖苷酶辅助分解半纤维素，产生有机酸、维生素等有益代谢产物，提升饲料适口性[10]。尽管单菌发酵研究已取得一定进展，但仍存在明显局限：白腐真菌虽能降解木质素，但微环境稳定性不足；枯草芽胞杆菌可稳环境，却对半纤维素分解能力弱[11]；毕赤酵母能补营养，却无直接降解木质素的能力[12-13]。Cui等[14]采用桦革褶菌与云芝复合培养，协同提升漆酶、锰过氧化物酶活性，最大酶活分别达18.06 U/mL和13.58 U/mL，较单菌培养均提高40%；复合菌群木质素降解率为50%，显著高于单菌桦革褶菌（26.6%）和云芝（37.2%）。Jiménez-Barrera等[15]将血红密孔菌（*Pycnoporus sanguineus*）和布氏白僵菌（*Beauveria brongniartii* ）共培养后，漆酶和锰过氧化物酶的活性分别增强了6倍和2.3倍，2种木质素降解菌联合培养同样能有效提高木质素降解率。近年来，复合菌发酵研究多聚焦于真菌与单一细菌的双菌组合，在功能互补性、协同降解效率及最终饲用品质提升方面的研究较为单一，特别是将具备完整木质素降解酶系的白腐真菌、具有环境调控与辅助降解功能的细菌以及擅长营养合成的酵母进行三方协同发酵的研究仍较缺乏，其协同机制、工艺优化及对玉米芯饲用价值的提升效果尚不明确。

因此，本研究复配白腐真菌、枯草芽胞杆菌与

毕赤酵母构建功能互补的三菌复合发酵体系，以玉米芯为发酵底物，优化其发酵条件，旨在破解高木质素秸秆饲料化降解效率低、营养品质差的核心难题，为高木质素秸秆非常规饲料资源开发利用提供新思路。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　样品来源　本试验所用菌种为白腐真菌BF-1（20252994）、枯草芽胞杆菌H-1（2024944）和毕赤酵母A1（M20253067），该菌种由西北民族大学生化与生物制药实验室培养与保存，玉米芯购买于兰州市榆中县。

1.1.2　主要试剂与仪器　主要试剂：酵母浸粉（大连美仑生物技术有限公司），木质素过氧化物酶活性检测试剂盒、漆酶活性检测试剂盒、锰过氧化物酶活性检测试剂盒（北京盒子生工科技有限公司）。

主要仪器：酶标仪（HBS-1096A，南京德铁实验设备有限公司），紫外分光光度计（UV-6000，上海元析仪器有限公司），立式压力蒸汽灭菌器（YXQ-LB-75S1，上海博迅医疗生物仪器股份有限公司），自动凯氏定氮仪（K9840，海能未来技术集团股份有限公司），热空气干燥箱（GRX-9203A，江苏正基仪器有限公司），石墨消解仪（SH220F，海能未来技术集团股份有限公司），扫描电子显微镜（EV018，Carl Zeiss AG, German），离子溅射镀膜仪（EM ACE600，武汉湛华科技有限公司）。

1.2　方法

1.2.1　菌株相容性试验　利用平板交叉划线法检测菌株间的相容性[16]。分别用接种环蘸取新鲜菌株，于PDA平板上交叉划线，28 ℃培养48 h后，观察各菌株的生长状况。

1.2.2　发酵试验菌种培养　单菌发酵：先将白腐真菌接种于PDA培养基中28 ℃培养72 h，使菌种处于良好的生长状态。复合菌发酵：将白腐真菌、枯草芽胞杆菌和毕赤酵母分别接种于PDA、LB和YPD培养基中28 ℃、37 ℃和30 ℃培养48 h，使菌种处于良好的生长状态。

1.2.3　玉米芯预处理　选取无霉变、无杂质的玉米芯，粉碎至1–3 mm粒径，确保颗粒大小均匀。将粉碎后的玉米芯按300 g、45%的比例加入蒸馏水，搅拌均匀后分装至发酵袋中；在121 ℃、0.1 MPa条件下灭菌20 min，灭菌后取出冷却至室温，备用。

1.2.4　复合菌液制备　分别取活化后的白腐真菌（PDA培养基培养于28 ℃，72 h，菌丝覆盖率达80%）、枯草芽胞杆菌（LB培养基37 ℃振荡培养24 h，菌液浓度达1.86×10^{11} CFU/mL）、毕赤酵母（YPD培养基28 ℃振荡培养24 h，菌液浓度达1.47×10^{8} CFU/mL），按体积比1∶1∶1的比例混合3种菌液，制备成复合菌液。

1.2.5　复合菌株降解酸性洗涤木质素条件优化

（1）单因素试验　通过改变温度（28 ℃、30 ℃、32 ℃），含水量（40%，45%，50%）和接种量（1%、3%、5%，v/v）3个因素，研究各因素对玉米芯发酵后酸性洗涤木质素含量及其降解率的影响。初始发酵培养基pH为7.0，密封发酵21 d后，检测发酵后玉米芯木质素降解率及营养品质，每个处理3个重复。

酸性洗涤木质素含量：参照杨斌等[17]方法将酸性洗涤纤维加入5 mL 72%硫酸中，在20 ℃消化3 h后过滤，并冲洗至中性。消化过程中溶解部分为纤维素，不溶解的残渣为酸性洗涤木质素和酸不溶灰分，将残渣烘干并灼烧灰化后称重，即可得出酸性洗涤木质素的含量。

（2）响应面试验　在单因素试验的基础上，使用软件Design Expert 13.0的Box-Behnken试验设计模型，选取温度（A）、含水量（B）和接种量（C）为自变量，以酸性洗涤木质素降解含量（Y）为响应值，采用3因素3水平的响应面法对发酵工艺进行优化，以确定最佳发酵工艺条件。Box-Behnken设计的因素与水平如表1所示。

表1　Box-Behnken设计的因素与水平

Table 1　Factors and levels of Box-Behnken design

因素 Factor	水平 Level		
温度 Temperature（℃）	28	30	32
含水量 Moisture content（%）	40	45	50
接种量 Inoculum size（%）	1	3	5

1.2.6　发酵玉米芯营养品质与饲用价值结果

（1）扫描电镜　参照王光荣等[18]方法将未发酵

的玉米芯原料与发酵后的玉米芯分别烘干、粉碎、过筛，用导电双面胶带固定在样品台上，在真空环境下进行镀金处理，物料表面形成一层导电膜后，用扫描电子显微镜观察玉米芯表面形态变化。

（2）木质素降解酶的酶活性测定　参照刘宽庆等[19]分别从7、14和21 d发酵袋中取样，用试剂盒测定酸性洗涤木质素降解过程中关键酶（漆酶、锰过氧化物酶、酸性洗涤木质素过氧化物酶）的活性。

（3）营养品质变化　参照杨航等[20]将原料和发酵后的玉米芯在65 ℃烘箱中干燥48 h直到恒重后，随即用粉碎机粉碎后，再用0.425 mm的筛子过筛。粗蛋白（crude protein, CP）采用凯氏定氮法测定；中性洗涤纤维（neutral detergent fiber, NDF）和酸性洗涤纤维（acid detergent fiber, ADF）采用Van Soest洗涤纤维素分析法[21-22]。

发酵后玉米芯的饲用价值采用相对饲用价值（relative feeding value, RFV）和相对饲用品质（relative feeding quality, RFQ）来体现，其饲用价值通过总消化养分（total digestible nutrients, TDN），干物质采食量（dry matter intake, DMI）来计算[23]。

$$DMI=120/NDF$$

$$RFQ=(TDN\times DMI)/1.23$$

$$RFV=[87.8-(0.7\times ADF)]\times(120/NDF)$$

1.2.7　数据处理

使用Excel软件对数据进行整理，使用SPSS 27软件进行单因素方差分析，采用邓肯法进行事后检验。柱状图显著性差异分析使用Origin 2021软件。

2　结果

2.1　单因素试验结果

由表2可知，单菌处理组在温度30 ℃，含水量45%，接种量3%时，ADL含量最低（$P<0.01$），分别为3.33%、4.42%和3.36%，其ADL降解率分别为42.29%、23.34%和41.83%。三菌处理组在温度28、30、32 ℃时，酸性洗涤木质素（ADL）含量均低于对照组，且30 ℃时ADL含量最低为2.69%（$P<0.01$）。温度30 ℃时ADL降解率最高为53.40%（$P<0.01$），与其他组相比降解效果显著。含水量40%、45%、50%的水平下，ADL含量均低于对照组，且45%含水量时ADL含量最低为2.38%（$P<0.01$），ADL降解率最高为58.83%（$P<0.01$），与其他组相比降解效果显著。接种量为1%、3%、5%时，ADL含量均低于对照组，且3%接种量时ADL含量最低为2.57%（$P<0.01$），ADL降解率最高为55.42%（$P<0.01$），与其他组相比降解效果显著。表明温度30 ℃、含水量45%、接种量3%为适宜发酵参数，

表2　单菌/复合菌对ADL含量及降解率的影响

Table 2　Effects of single/composite bacteria on ADL content and degradation rate (%)

因素 Factor	水平 Level	对照组 Control group	单菌处理组 Single-bacteria treatment group		三菌处理组 Three-bacteria treatment group		*P*-value
		ADL含量	ADL含量	ADL降解率	ADL含量	ADL降解率	
温度	28 ℃	5.77±0.41A	4.9±0.22B	15.02±3.86b	4.65±0.1B	19.35±1.8a	<0.01
	30 ℃	5.77±0.41A	3.33±0.11B	42.29±1.93b	2.69±0.1B	53.4±1.72a	<0.01
	32 ℃	5.77±0.41A	5.14±0.09B	10.98±1.57b	4.31±0.1B	25.31±1.69a	<0.01
含水量	40%	5.77±0.41A	5.34±0.12BC	7.45±2b	3.74±0.6B	32.29±1.15a	<0.01
	45%	5.77±0.41A	4.42±0.2B	23.34±3.49b	2.38±0.07B	58.83±1.24a	<0.01
	50%	5.77±0.41A	5.27±0.14B	8.61±2.47b	4.14±0.67B	36.24±1.78a	<0.01
接种量	1%	5.77±0.41A	5.16±0.17B	10.63±2.86b	4.7±0.17B	18.48±2.91a	<0.01
	3%	5.77±0.41A	3.36±0.16B	41.83±2.8b	2.57±0.09C	55.42±1.54a	<0.01
	5%	5.77±0.41A	4.46±0.23B	22.76±3.95b	3.88±0.07C	32.78±1.27a	<0.01

注：对照组为玉米芯原料。同行数据不同大写字母表示ADL含量在不同组间差异极显著（$P<0.01$）；不同小写字母表示ADL降解率在不同组间差异极显著（$P<0.01$），下同

Note: The control group consists of corncob raw materials. Different capital letters in the same row indicate extremely significant differences in ADL content among different groups ($P<0.01$); while different lowercase letters indicate extremely significant differences in ADL degradation rate among different groups ($P<0.01$), the same below

且白腐真菌与枯草芽胞杆菌、毕赤酵母复配存在显著协同作用，可大幅提升ADL降解效率。

2.2　三菌相容性试验结果

由图1可知，将白腐真菌、枯草芽胞杆菌和毕赤酵母进行平板共培养后，可见各菌株的菌落在培养基中无明显抑菌圈形成，菌丝与菌落相互接触后仍能正常扩展生长，未出现菌落边缘抑制、菌丝自溶或生长停滞等拮抗现象，表明这三株菌在该培养条件下具有良好的生长相容性，因此可以共同培养制成复合菌剂。



图1　菌株间相容性检测

Fig. 1　Compatibility test between strains

2.3　复合菌响应面试验结果

根据单因素试验结果，选取温度、含水量和接种量为影响因素，ADL降解率为响应面指标，采用响应面试验设计对三菌发酵玉米芯条件进一步优化，试验结果见表3。

采用Design Expert 13.0软件对酸性洗涤木质素降解率（Y）进行多元回归拟合分析，得到回归模型：Y（%）=56.97−6.84A−19.69B+7.63C−0.075 1AB−1.42AC−6.59BC−15.97A^2−23.15B^2− 20.28C^2。

对二次模型进行方差和显著性分析，结果见表4。采用Design Expert 13.0对三菌协同发酵玉米芯的酸性洗涤木质素降解率进行回归分析，结果表明模型极显著（P<0.000 1），决定系数R^2达0.984 4，失拟项不显著（P=0.848 5），拟合效果优异且预测准确。一次项中，接种量（C）极显著（P=0.006 3）、温度（A）和含水量（B）显著（P<0.05）影响降解率，其中接种量与降解率正相关，温度和含水量呈负相关；二次项A^2、B^2、C^2均极显著（P<0.000 1），说明各因素与降解率间存在非线性关系。交互项中仅BC（含水量×接种量）接近显著（P=0.080 8），其余交互作用不显著。因素影响程度排序为接种量>温度>含水量。

表3　响应面法试验结果

Table 3　Results of response surface methodology experiment

试验号 Test number	温度 Temperature (℃)	含水量 Water content (%)	接种量 Inoculum concentration (%)	ADL降解率 ADL degradation rate (%)
1	32	40	3	31.715 8
2	28	45	1	19.041 0
3	30	40	1	17.758 5
4	32	50	3	32.697 9
5	30	45	3	58.555 7
6	32	45	1	8.798 38
7	32	45	5	27.695 0
8	30	40	5	46.314 3
9	28	40	3	45.782 8
10	30	50	1	30.202 2
11	30	45	3	65.719 2
12	30	45	3	62.224 1
13	30	50	5	45.574 8
14	28	45	5	43.599 1
15	30	45	3	62.911 6
16	28	50	3	46.915 1
17	30	45	3	55.742 3

对温度（A）、含水量（B）和接种量（C）进行响应面交互作用分析，结果显示（图2），各因素交互作用对降解率的影响呈先升后降的抛物线趋势，存在最优响应顶点。当接种量固定时，温度与含水量组合降解率变化平缓，交互作用弱；含水量固定时，温度与接种量的交互作用不显著；温度固定时，含水量与接种量的交互作用接近显著，且三者交互作用影响顺序为BC>AC>AB。

三菌协同发酵玉米芯的最佳条件为温度29.8 ℃、含水量45.2%、接种量3.1%，验证试验中ADL降解率测定值为63.42%，与预测值65.72%的误差率为3.50%，因此，最佳发酵条件为30 ℃、45%含水量和3%接种量。

2.4　木质素降解酶的酶活性变化

由图3可知，三菌协同发酵玉米芯过程中，漆酶（Lac）、锰过氧化物酶（MnP）和木质素过氧化

表4 木质素降解率回归模型分析

Table 4 Regression model analysis of lignin degradation rate

方差来源 Variance source	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方差 Mean square	F值 F value	*P*-value	显著性 Significance
模型 Model	4 614.81	9	512.76	49.08	<0.000 1	**
A-温度	124.81	1	124.81	11.95	0.010 6	*
B-含水量	90.19	1	90.19	8.63	0.021 8	*
C-接种量	155.13	1	155.13	14.85	0.006 3	**
AB	0.005 6	1	0.005 6	0.000 5	0.982 1	
AC	8.01	1	8.01	0.767 0	0.410 2	
BC	43.45	1	43.45	4.16	0.080 8	
A^2	1 073.31	1	1 073.31	102.73	<0.000 1	**
B^2	141.00	1	141.00	13.50	0.007 9	**
C^2	1 731.93	1	1 731.93	165.78	<0.000 1	**
残差	73.13	7	10.45			
失拟项	12.09	3	4.03	0.264 2	0.848 5	no significance
纯误差	61.04	4	15.26			
总变异	4 687.94	16				
R^2					0.984 4	
R^2_{Adj}					0.964 3	
R^2_{Pre}					0.938 4	
Adeq precision					21.201 5	
CV（%）					7.84	

注：** 差异极显著（P<0.01）；* 差异显著（P<0.05）

Note: ** indicates extremely significant difference (P<0.01); * indicates significant difference (P<0.05)

物酶（LiP）的酶活随着时间的延长逐渐递增，不同时期Lac活性分别为1.27、1.63和1.73 U/L，MnP活性分别为12.71、15.47和22.39 U/L，Lip活性分别为3.42、6.06和9.7 U/L。表明三菌协同为木质素降解酶的合成分泌提供了稳定环境，持续升高的酶活性是复合菌体系高效降解ADL的关键酶学基础。

2.5 发酵前后玉米芯表面形态结构变化

未发酵的玉米芯表面光滑，结构紧密且完整（图4-A），而发酵玉米芯表面粗糙，空隙变大（图4-B–D），菌体孢子覆盖、夹杂在玉米芯细胞中，玉米芯致密完整的结构被破坏，且发酵时间越长结构破损越明显。证明三菌复合发酵能有效降解，松散多孔的结构为菌株代谢和营养成分释放创造了有利条件。

2.6 发酵玉米芯的营养指标变化

由表5可知，随发酵时间延长，玉米芯粗蛋白（CP）含量呈显著上升趋势，玉米芯原料粗蛋白含量为2.80%，发酵7、14、21 d后分别为4.69%、5.95%、6.79%，发酵21 d时增长率达142.50%，显著高于对照组。酸性洗涤纤维（ADF）与中性洗涤纤维（NDF）含量随发酵时间延长持续降低，玉米芯原料ADF为43.57%、NDF为78.31%，发酵21 d后分别降至28.77%、60.99%，降解率分别达到33.97%、22.12%。饲用价值方面，玉米芯原料相对饲用品质（RFQ）为56.22、相对饲用价值（RFV）为41.07，发酵至21 d时分别达到102.77和48.14，较玉米芯原料分别提升82.80%、17.21%。结果表明，三菌协同发酵可有效降解纤维类抗营养因子，提高粗蛋白含量，显著改善玉米芯的营养品质与饲用价值。

3 讨论

近年来，复合菌发酵研究多聚焦真菌与单一细菌的双菌组合，在功能互补性、协同降解效率及最终饲用品质提升方面的研究比较单一，特别是将具备完整木质素降解酶系的白腐真菌、具有环境调控与辅助降解功能的细菌以及擅长营养合成的酵母进行三方协同发酵的研究仍较缺乏，其协同机制、工

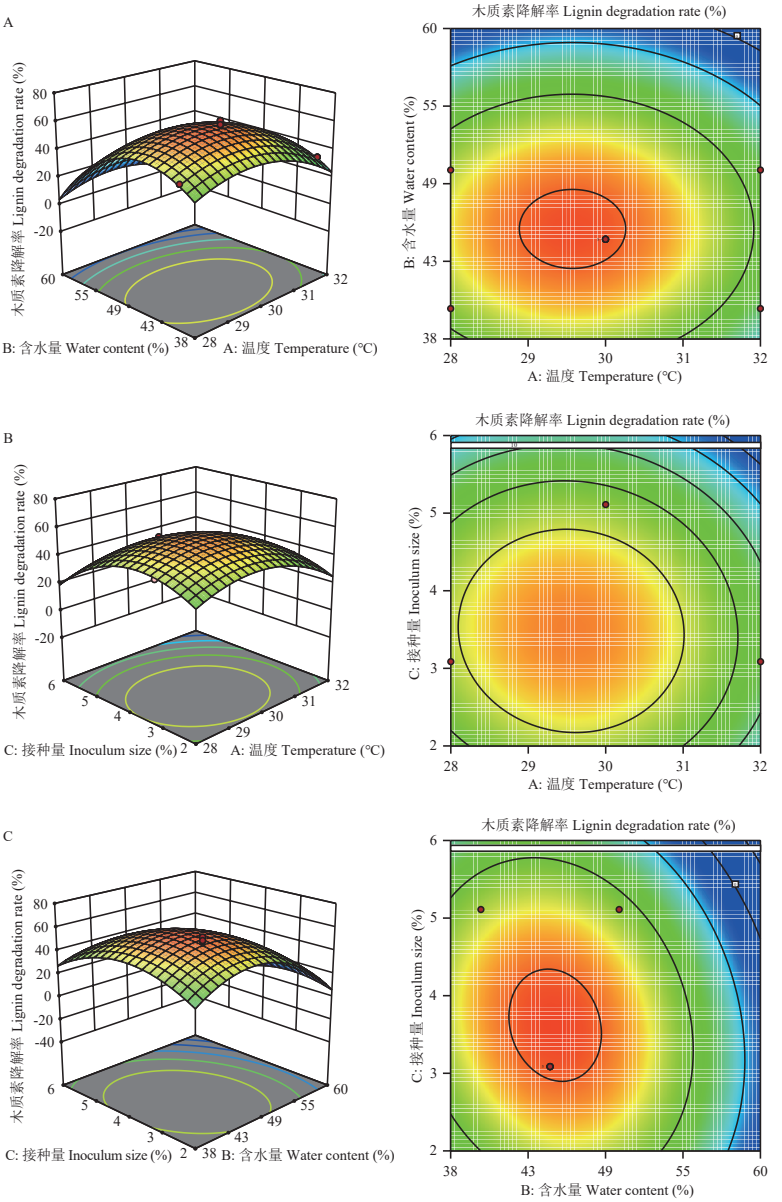


图2　两因素交互影响木质素降解率的响应面

Fig. 2　Response surface for the interactive effects of two factors on the lignin degradation rate

艺优化及对玉米芯饲用价值的提升效果尚不明确。因此，本研究旨在破解高木质素秸秆饲料化降解效率低、营养品质差的核心难题，为高木质素秸秆非常规饲料资源开发利用提供新思路。

菌株相容性是复合发酵体系稳定运行的核心，本研究证实白腐真菌BF-1、枯草芽胞杆菌与毕赤酵母三菌共培养无拮抗，与Sun等[24]真菌–细菌共生特性一致，为功能互补奠定基础。现有研究中，单菌发酵存在明显短板：白腐真菌虽能降解木质素但微环境稳定性差，枯草芽胞杆菌可抑菌却无木质素降解能力，毕赤酵母仅能分解半纤维素且缺乏降解核心功能[25-26]；而传统复合发酵多聚焦白腐真菌双菌共培养，无法实现降解与提升营养全功能覆盖[27]。本研究突破这一局限，首次构建三菌功能互补复合体系，实现三方协同代谢：白腐真菌为核心分泌Lac、MnP、LiP降解木质素，枯草芽胞杆菌

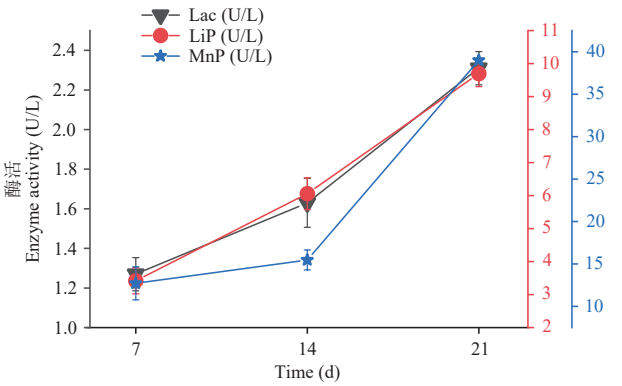
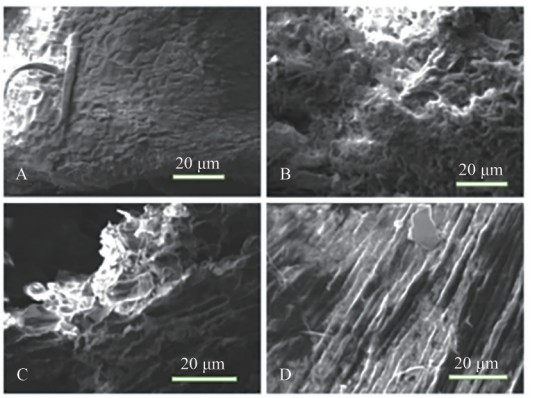


图3 反应时间对木质素降解酶活性变化的影响

Fig. 3 Influence of reaction time on changes in lignin-degrading enzyme activities



A:玉米芯原料;B:玉米芯发酵20 d;C:玉米芯发酵45 d;D:玉米芯发酵60 d

A: Raw corncob; B: corncob fermented for 20 days; C: corncob fermented for 45 days; D: corncob fermented for 60 days

图4 发酵前后的玉米芯扫描电镜结果

Fig. 4 Scanning electron microscopy results of corn cobs before and after fermentation

分泌抗菌肽稳定微环境，毕赤酵母分解半纤维素并调节pH促进酶活稳定。发酵中三种酶活持续升至1.73、22.39和9.7 U/L，无单菌发酵的酶活下降，成为ADL降解率达63.42%（显著高于单菌42.29%）的关键酶学基础，该结果与Niu等[28]多菌复合发酵中菌株功能互补、酶活协同提升的研究结论一致，也印证了Zhang等[29]提出的真菌–细菌–酵母多菌种组合可弥补单菌功能缺陷、提升木质素降解效率的相关观点，也丰富了复合发酵协同机制理论，为功能互补型菌剂构建提供新思路。

发酵工艺优化方面，本研究通过单因素试验确定30 ℃、45%含水量、3%接种量的适宜条件，契合菌株生长特性；再经响应面法优化确定29.8 ℃、45.2%含水量、3.1%接种量的最佳工艺，验证ADL降解率与预测值误差仅3.50%，模型拟合度R^2=0.984 4，可靠性与蔡吉等[30]研究相当。相较于夏欣欣等[31]双菌未优化工艺研究，本研究明确接种量>温度>含水量的因素影响顺序，得到可直接应用的简化工艺，解决了现有研究工艺模糊、难以产业化的问题。扫描电镜显示发酵后玉米芯表面粗糙多孔，与Xu等[32-33]木质素降解破坏秸秆结构的机制一致，直观印证降解效果。

高木质素秸秆饲用效率低的核心是木质素包裹营养、粗纤维高且粗蛋白不足，传统复合发酵多仅聚焦木质素降解。本研究通过三菌协同实现一体化营养调控：发酵21 d后玉米芯CP含量从2.80%升至6.79%，NDF、ADF降解率达22.12%、33.97%，RFQ、RFV分别提升82.80%、17.21%，效果优于

表5 发酵时间对玉米芯营养指标及饲用价值的影响

Table 5 Effects of fermentation time on nutritional indices and feed value of corncob (%)

组别 Group	对照组 Control group	发酵时间 Fermentation time (d)			*P*-value
		7	14	21	
粗蛋白(CP)	2.8±1.14C	4.69±0.62B	5.95±0.29A	6.79±0.44A	<0.001
CP增长率		0.68±0.22C	1.13±0.1B	1.43±0.16A	<0.001
酸性洗涤纤维(ADF)	43.57±1.16A	38.19±0.4B	35.67±1.98C	28.77±1.08D	<0.001
ADF降解率		12.36±0.92C	18.13±4.55B	33.97±2.47A	<0.001
中性洗涤粗纤维(NDF)	78.31±1.37A	68.13±1.36B	66.56±0.51B	60.99±1.83C	<0.001
NDF降解率		13.01±1.73C	15.01±0.65B	22.12±2.33A	<0.001
相对饲用品质(RFQ)	56.22±2.7D	74.55±0.76C	81.07±4.06B	102.77±3.5A	<0.001
相对饲用价值(RFV)	41.07±0.73B	40.7±1.44B	42.79±2.38B	48.14±2.04A	<0.001

Tuyen等[34]、杜云龙等[35]研究。其中白腐真菌降解木质素释放营养，枯草芽胞杆菌与毕赤酵母合成菌体蛋白提升CP，三菌酶系协同降解抗营养因子，实现多目标同步调控，为高木质素秸秆饲料化提供可复制模式。

综上，本研究构建白腐真菌、枯草芽胞杆菌与毕赤酵母跨菌属三菌复合发酵体系，突破单菌及传统双菌发酵局限，为高木质素秸秆饲料化利用提供新技术路径。该体系形成真菌–细菌–酵母跨界功能互补的协同代谢模式，丰富了复合微生物降解木质素的协同机制理论；通过分步优化确定标准化发酵工艺，明确各因素作用顺序，解决了现有研究工艺模糊、难以产业化的问题；打破单一木质素降解目标，实现木质素降解与饲料营养品质提升的一体化调控，形成秸秆饲料化营养优化的可复制模式。本研究仅完成体外工艺优化与营养评价，尚未开展动物体内饲喂试验，未验证其对动物生产性能、养分消化的实际效果，也未探究对肠道微生态的调控作用。后续将开展动物饲喂试验，结合分子生物学技术解析其对肠道菌群的调控效应，完善饲用价值评价体系，为该技术在畜牧养殖中的规模化应用提供全面的理论与数据支撑。

4　结论

构建以白腐真菌、枯草芽胞杆菌和毕赤酵母为核心的三菌复合发酵体系，最佳发酵条件为温度30 ℃、含水量45%、接种量3%，发酵21 d后，玉米芯ADL降解率达63.42%，显著优于白腐真菌单菌降解效果（42.19%）。发酵过程中，3种木质素降解酶活性持续提升，玉米芯致密结构被破坏形成多孔形态，同时CP含量显著增加，NDF和ADF含量大幅降低，RFQ和RFV分别提高82.80%和17.21%，营养品质与饲用价值得到全面提升。

参考文献

[1] Zeko-Pivač A, Bošnjaković A, Planinić M, et al. Improvement of the nutraceutical profile of brewer's spent grain after treatment with *Trametes versicolor* [J]. Microorganisms, 2022, 10(11): 2295.

[2] 李森, 罗霄天, 秦心儿, 等. 高粱秸秆栽培大球盖菇的品质、产量与优势分析 [J]. 生物资源, 2024, 46(1): 32-38.
Li S, Luo XT, Qin XE, et al. Analysis of quality, yield and advantages of *Stropharia rugosoannulata* cultivated with sorghum straw [J]. Biotic Resour, 2024, 46(1): 32-38.

[3] Nazar M, Tian JP, Wang X, et al. Effect of biological lignin depolymerization on rice straw enzymatic hydrolysis, anerobic fermentation characteristics and *in vitro* ruminal digestibility [J]. Int J Biol Macromol, 2025, 305: 141664.

[4] Liu WX, Zhao MY, Li MX, et al. Laccase activities from three white-rot fungal species isolated from their native habitat in North China using solid-state fermentation with lignocellulosic biomass [J]. BioResources, 2022, 17(1): 1533-1550.

[5] Ahmad Khan N, Khan M, Sufyan A, et al. Biotechnological processing of sugarcane bagasse through solid-state fermentation with white rot fungi into nutritionally rich and digestible ruminant feed [J]. Fermentation, 2024, 10(4): 181.

[6] 杨莉, 杨义, 郑碧君, 等. 木质素降解菌的筛选及其对酒糟的预处理研究 [J]. 生物质化学工程, 2024, 58(5): 45-52.
Yang L, Yang Y, Zheng BJ, et al. Screening of lignin-degrading fungal strain and its pretreatment of distillers' grains [J]. Biomass Chem Eng, 2024, 58(5): 45-52.

[7] Singh J, Mandal A, Nandabalan YK. Synergistic effect on lignolytic enzyme production through co-culturing of white rot fungi during solid state fermentation of agricultural residues [J]. Bull Natl Res Cent, 2025, 49: 3.

[8] Campos AO, Asevedo EA, Souza Filho PF, et al. Extraction of cellulases produced through solid-state fermentation by *Trichoderma reesei* CCT-2768 using green coconut fibers pretreated by steam explosion combined with alkali [J]. Biomass, 2024, 4(1): 92-106.

[9] Zhu DC, Zhang PP, Xie CX, et al. Biodegradation of alkaline lignin by *Bacillus ligniniphilus* L1 [J]. Biotechnol Biofuels, 2017, 10: 44.

[10] Naranjo CA, Jivan AD, Vo MN, et al. Role of *BGS13* in the secretory mechanism of *Pichia pastoris* [J]. Appl Environ Microbiol, 2019, 85(24): e01615-e01619.

[11] Arora D, Sharma A, Singh S, et al. The Bacterial degradation of lignin—a Review [J]. Crit Rev Biotechnol, 2010, 30(4): 326-341.

[12] Hardianto D, Safarrida A, Prayoga GS, et al. Increasing the production of insulin glargine in *Pichia pastoris* through medium modification [J]. BIO Web Conf, 2024, 127: 06001.

[13] 李强, 吴晓青, 张新建. 微生物降解秸秆木质素的研究进展 [J]. 微生物学报, 2023, 63(11): 4118-4132.
Li Q, Wu XQ, Zhang XJ. Research progress in microbial degradation of straw lignin [J]. Acta Microbiol Sin, 2023, 63(11): 4118-4132.

[14] Cui TW, Yuan B, Guo HW, et al. Enhanced lignin biodegradation by consortium of white rot fungi: microbial synergistic effects and product mapping [J]. Biotechnol Biofuels, 2021, 14: 162.

[15] Jiménez-Barrera D, Chan-Cupul W, Fan ZL, et al. Fungal co-culture increases ligninolytic enzyme activities: statistical optimization

using response surface methodology [J]. Prep Biochem Biotechnol, 2018, 48(9): 787-798.

[16] 司欣雨, 李佳琪, 周梦含, 等. 多功能复合菌剂的构建及盐碱胁迫下促生效果 [J]. 农业工程学报, 2024, 40(21): 82-90.
Si XY, Li JQ, Zhou MH, et al. Constructing multifunctional composite microbial agents for promoting crop growth under saline-alkali stress [J]. Trans Chin Soc Agric Eng, 2024, 40(21): 82-90.

[17] 杨斌, 殷引, 张浩博, 等. 洗涤剂法测定烟草及烟草制品中中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、酸性洗涤木质素的研究 [J]. 中国烟草学报, 2012, 18(3): 10-15.
Yang B, Yin Y, Zhang HB, et al. Determination of NDF, ADF and ADL in tobacco and tobacco products with detergent method [J]. Acta Tabacaria Sin, 2012, 18(3): 10-15.

[18] 王光荣, 高世霞, 于晓锋, 等. 改性玉米芯对Zn^{2+}和Cu^{2+}的吸附性能研究 [J]. 轻工学报, 2019, 34(2): 56-62.
Wang GR, Gao SX, Yu XF, et al. Research of modified corn cob on the adsorption properties of Zn^{2+}, Cu^{2+} [J]. J Light Ind, 2019, 34(2): 56-62.

[19] 刘宽庆, 张以恒. 木质素的生物降解和生物利用 [J]. 合成生物学, 2024, 5(6): 1264-1278.
Liu KQ, Zhang YH. Biological degradation and utilization of lignin [J]. Synth Biol J, 2024, 5(6): 1264-1278.

[20] 杨航, 宋福超, 王诗涛, 等. 固态发酵平菇-青稞秸秆菌糠饲料化利用研究 [J]. 草地学报, 2025, 33(4): 1289-1298.
Yang H, Song FC, Wang ST, et al. Research on the utilization of solid-state fermented oyster mushroom-highland barley straw fungus-bran as feed [J]. Acta Agrestia Sin, 2025, 33(4): 1289-1298.

[21] 罗俊杰, 肖燕子, 侯美玲, 等. 不同添加剂对苜蓿与羊草混合青贮品质及维生素含量的影响 [J]. 草地学报, 2025, 33(3): 992-1000.
Luo JJ, Xiao YZ, Hou ML, et al. Effects of different additives on quality and vitamin content of mixed silage of alfalfa and *Leymus chinensis* [J]. Acta Agrestia Sin, 2025, 33(3): 992-1000.

[22] 郝迎辰, 黄钰, 张洪瑞, 等. 品种和添加剂对三江源区燕麦青贮品质和CNCPS蛋白组分的影响 [J]. 草地学报, 2025, 33(4): 1274-1280.
Hao YC, Huang Y, Zhang HR, et al. Effects of varieties and additives on silage quality and CNCPS protein fractions of oats in the Sanjiangyuan area [J]. Acta Agrestia Sin, 2025, 33(4): 1274-1280.

[23] 梁文斌, 尹国丽, 陈三冬, 等. 全株玉米青贮过程中品质及真菌群落组成特征 [J]. 草地学报, 2024, 32(12): 3722-3732.
Liang WB, Yin GL, Chen SD, et al. Characteristics of quality and fungal community composition during whole-plant corn silage [J]. Acta Agrestia Sin, 2024, 32(12): 3722-3732.

[24] Sun Y, Liu WC, Shi X, et al. Inducing secondary metabolite production of *Aspergillus sydowii* through microbial co-culture with *Bacillus subtilis* [J]. Microb Cell Fact, 2021, 20: 42.

[25] Datsomor O, Yan Q, Opoku-Mensah L, et al. Effect of different inducer sources on cellulase enzyme production by white-rot basidiomycetes *Pleurotus ostreatus* and *Phanerochaete chrysosporium* under submerged fermentation [J]. Fermentation, 2022, 8(10): 561.

[26] Yang J, Zhao J, Jiang JC, et al. Isolation and characterization of *Bacillus* sp. capable of degradating alkali lignin [J]. Front Energy Res, 2021, 9: 807286.

[27] Chen KJ, Tang JC, Xu BH, et al. Degradation enhancement of rice straw by co-culture of *Phanerochaete chrysosporium* and *Trichoderma viride* [J]. Sci Rep, 2019, 9: 19708.

[28] Niu C, Sun LN, Tang R. Preparation of a bacterial consortium for straw degradation and optimization of conditions for its return to the field [J]. Agronomy, 2025, 15(8): 1947.

[29] Zhang SZ, Duan Y, Teng CC, et al. Fast and selective degradation of biomass for xylose, glucose and lignin under mild conditions [J]. Molecules, 2023, 28(8): 3306.

[30] 蔡吉, 陈文聪, 刘军, 等. 基于两步法制备生物发酵蛋白工艺的研究 [J]. 中国酿造, 2022, 41(10): 207-212.
Cai J, Chen WC, Liu J, et al. Preparation technology of bio-fermented protein based on two-step method [J]. China Brew, 2022, 41(10): 207-212.

[31] 夏欣欣, 林海, 杨谷良, 等. 混菌固态发酵米糠产谷维素的工艺及抗氧化活性评估 [J]. 食品与机械, 2023, 39(9): 154-161.
Xia XX, Lin H, Yang GL, et al. Process study on mixed bacterial solid-state fermentation of rice bran for the preparation of oryzanol and evaluation of its antioxidant activity [J]. Food Mach, 2023, 39(9): 154-161.

[32] Xu XQ, Xu ZQ, Shi S, et al. Lignocellulose degradation patterns, structural changes, and enzyme secretion by *Inonotus obliquus* on straw biomass under submerged fermentation [J]. Bioresour Technol, 2017, 241: 415-423.

[33] Xu QQ, Zhao MJ, Yu ZZ, et al. Enhancing enzymatic hydrolysis of corn cob, corn stover and sorghum stalk by dilute aqueous ammonia combined with ultrasonic pretreatment [J]. Ind Crops Prod, 2017, 109: 220-226.

[34] Tuyen DV, Phuong HN, Cone JW, et al. Effect of fungal treatments of fibrous agricultural by-products on chemical composition and *in vitro* rumen fermentation and methane production [J]. Bioresour Technol, 2013, 129: 256-263.

[35] 杜云龙, 潘金石, 冯鑫, 等. 基于体外产气法的吉林省食用菌菌糠的营养价值评定 [J]. 中国畜牧兽医, 2024, 51(4): 1520-1529.
Du YL, Pan JS, Feng X, et al. Evaluation of nutritional value of fungus bran in Jilin Province based on *in vitro* gas production method [J]. China Anim Husb Vet Med, 2024, 51(4): 1520-1529.

（责任编辑　朱琳峰）