

刘蓓一, 丁成龙, 许能祥, 等. 不同比例稻草和多花黑麦草混合青贮对饲料 pH、微生物数量及有氧稳定性的影响[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(1): 99-105.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2018.01.015

不同比例稻草和多花黑麦草混合青贮对饲料 pH、微生物数量及有氧稳定性的影响

刘蓓一¹, 丁成龙¹, 许能祥¹, 董臣飞¹, 张文洁¹, 顾洪如¹, 杨振峰²

(1. 江苏省农业科学院畜牧研究所, 江苏 南京 210014; 2. 江苏绿经园农业科技发展有限公司, 江苏 江阴 214400)

摘要: 为探究多花黑麦草和稻草以不同比例混合青贮对饲料 pH、微生物数量及有氧稳定性的影响, 设 5 个处理, 多花黑麦草和稻草比例分别为 5:5 (处理 A)、6:4 (处理 B)、7:3 (处理 C)、8:2 (处理 D) 和 9:1 (处理 E), 分析青贮过程和有氧暴露后青贮饲料的 pH 值、乳酸菌数量、酵母菌数量和霉菌数量的动态变化。结果表明, 在青贮过程中, 处理 B 的乳酸菌数量显著高于处理 D 和处理 E, 其中处理 B 的乳酸菌数量在青贮第 1 d 时达到 8.67×10^7 CFU/g, 在青贮第 5 d、12 d、21 d 时的乳酸菌数量显著高于其他 4 个处理。处理 B 的酵母菌数量均显著低于处理 D 和处理 E。青贮 61 d 时, 处理 B 和处理 C 的酵母菌数量小于 1.00×10^2 CFU/g。从青贮第 5 d 开始, 处理 B 和处理 C 的霉菌数量均小于 1.00×10^2 CFU/g。有氧暴露期间, 处理 B 的乳酸菌数量始终最多, 处理 B 和处理 C 的霉菌数量始终最少。结合 pH 值、微生物数量及有氧稳定性指标, 多花黑麦草和稻草以 6:4 或 7:3 的比例混合青贮最优。

关键词: 稻草; 多花黑麦草; 混合青贮; pH; 微生物数量; 有氧稳定性

中图分类号: S816.5⁺3

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2018)01-0099-07

Effect of different levels of rice straw addition on pH, microorganism of ryegrass and rice straw mixed silage and stability after aerobic exposure

LIU Bei-yi¹, DING Cheng-long¹, XU Neng-xiang¹, DONG Chen-fei¹, ZHANG Wen-jie¹, GU Hong-ru¹, YANG Zhen-feng²

(1. Institute of Animal Science, Jiangsu Academy of Agricultural Science, Nanjing 210014, China; 2. Jiangsu Lijingyuan Agricultural Science Development CO., Ltd., Jiangyin 214400, China)

Abstract: The purpose of the current study was to evaluate the effects of different levels of rice straw addition on pH, microorganism of ryegrass and rice straw mixed silage and stability after aerobic exposure. Treatments were randomly distributed, in which: (1) the ratio of ryegrass and rice straw = 5:5 (A); (2) the ratio of ryegrass and rice straw = 6:4

(B); (3) the ratio of ryegrass and rice straw = 7:3 (C); (4) the ratio of ryegrass and rice straw = 8:2 (D); (5) the ratio of ryegrass and rice straw = 9:1 (E). The value of pH, the number of lactic acid bacteria (LAB), yeasts and molds of ryegrass and rice straw mixed silage during fermentation and aerobic exposure were analyzed. The results showed that the number of LAB of group B was markedly higher than that of group D and E during silage.

收稿日期: 2017-07-11

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目 [CX(15)1003]; 公益性行业 (农业) 科研专项 (201303061); 江苏省现代农业项目 (BE2016311)

作者简介: 刘蓓一 (1984-), 女, 江苏武进人, 博士, 助理研究员, 主要从事饲草调制与草食动物营养研究。 (Tel) 15105198288; (E-mail) byliu1984@qq.com

通讯作者: 顾洪如, (E-mail) guhongrujs@163.com

The number of lactic acid bacteria in group B increased rapidly and reached 8.67×10^7 CFU/g at the first day, and the LAB had the highest number on the 5th, 12th and 21st days after ensiling compared with other groups. The number of yeasts of group B was significantly lower than that of group D and E. The number of yeasts of group B and C were less than 1.00×10^2 CFU/g on the 61st days after ensiling. The number of molds of group B and C were less than 1.00×10^2 CFU/g from the 5th day after ensiling. After aerobic exposure, the number of LAB was highest in group B, the number of molds was lowest in group B and group C. Taking into account pH, microorganism and aerobic stability, group B (the ratio of ryegrass and rice straw=6:4) and group C (the ratio of ryegrass and rice straw=7:3) were the better choice for silage production.

Key words: rice straw; ryegrass; mixed silage; pH; microbiology; aerobic stability

秸秆饲料化利用,是资源化利用的有效途径之一,也是促进农区畜牧业发展的重要措施^[1-3]。中国农作物秸秆总量达 5.2×10^8 t 以上,其中稻草 2.1×10^8 t^[4]。稻草与其他禾本科牧草青贮原料相比,其干物质含量高,但茎叶上自然附着的乳酸菌少,可溶性碳水化合物含量低^[5],所以常规青贮很难调制出高品质的青贮料。全林发等^[6]将菠萝皮与稻草混合青贮,增加了稻草青贮料中的乳酸菌含量,降低了 pH 值和氨态氮含量,菠萝皮添加量在 20% 以上时,稻草青贮发酵的品质得到改善,并且不影响稻草青贮料的有氧稳定性。许能祥等^[7]指出,稻秸与玉米秸秆混合青贮料品质最佳,最差的是稻秸与象草混合的青贮料。蒋慧等^[8]为改善含糖量低的水稻秸秆的青贮品质,将枯黄期骆驼刺与稻草混合青贮,当骆驼刺占混合青贮料的 40% 以上时,青贮料中丁酸的含量显著降低。多花黑麦草的可溶性碳水化合物含量高,纤维素和木质素含量低,但其含水量高,直接青贮容易产生大量渗出液,降低青贮饲料营养成分的含量^[9]。李君临等^[10]指出,黑麦草单独青贮不易成功,与水稻秸秆按 7:3 比例混合青贮时发酵品质最佳,显著降低了氨态氮与总氮的比值以及乙酸、丙酸和丁酸的含量。青贮饲料是一个复杂的微生物共生体系,主要包括乳酸菌、酵母菌、霉菌及其他腐败细菌^[11]。青贮饲料品质的优劣取决于乳酸菌的增殖及变化情况,发酵初期乳酸菌开始增殖,随着 pH 值的逐渐下降以及厌氧程度的加强,乳酸菌在数量上逐渐形成绝对优势,其他微生物的生长受到抑制,乳酸菌产生大量乳酸,使 pH 值进一步下降,其他微生物的活性进一步减弱,当 pH 值下降到一定程度以后,乳酸菌的活性也会受到抑制^[12]。由此可见,对青贮过程中微生物数量及其种群动态变化的研究十分重要。包慧芳等^[13]指出,玉米秸秆青贮饲料发酵过程中的优势菌主要有 *Lactococcus plantarum*、*Pediococcus pentosaceus* 和 *Lactococcus lactis*,采用

菌剂处理后青贮玉米秸秆 pH 值下降更快,其优势细菌种类更丰富。詹发强等^[14]发现,乳酸杆菌和片球菌是青贮玉米秸秆发酵的启动菌,但在发酵后期乳酸杆菌是玉米秸秆青贮过程中的主要菌群。杨云贵等^[15]指出,在玉米秸秆青贮过程中,主要微生物的数量随着青贮时间的延长而减少,乳酸菌的数量在青贮第 6 d 和第 7 d 时最高,之后呈缓慢下降的趋势。因此,从微生物角度来研究多花黑麦草和稻草以不同比例混合青贮对微生物数量及有氧稳定性的影响具有重要意义。

本研究拟通过探究稻草和多花黑麦草以不同比例混合青贮对饲料 pH 值、微生物数量及有氧稳定性的影响,进而筛选出适宜的混合青贮比例,以期调制出高品质的稻草青贮饲料提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 青贮饲料的制作与采样

将新鲜的多花黑麦草和稻草切短至 2~3 cm,按不同比例对多花黑麦草和稻草进行青贮,其比例分别为 5:5(处理 A),6:4(处理 B),7:3(处理 C),8:2(处理 D),9:1(处理 E)。用聚酯乙烯(52 cm×38 cm)密封青贮,每袋装至半袋(大约 500 g),不加添加剂,利用真空封口机封口,于青贮后 1 d、5 d、12 d、21 d、31 d、66 d、99 d、154 d 开袋取样。

1.2 青贮饲料 pH 值测定

称取 25 g 样品加入 200 ml 三角瓶里,加入 700 ml 蒸馏水后置于 4 ℃ 冰箱内浸提 24 h。然后采用 2 层纱布和滤纸过滤,测定滤液的 pH 值。

1.3 菌株分离培养方法

称取 10 g 样品,放入已灭菌的小三角瓶中,加入 90 ml 无菌生理盐水,密封,置于摇床上,120 r/min 培养 2 h。用 1 层无菌纱布过滤青贮草渣,做 10 倍梯度稀释,选择 3 个合适连续的稀释度,不同稀释梯度的悬浮液置于 MRS 培养基中,37 ℃ 厌氧

培养 48 h,计算乳酸菌数量。将悬浮液接种于葡萄糖麦芽浸膏培养基中,30 ℃ 培养 24 h,计算酵母菌数量。将悬浮液接种于马铃薯培养基中,30 ℃ 培养 24 h,计算霉菌数量。

选取 MRS 培养基上光滑、圆形的灰白色菌落进行乳酸菌计数。选取葡萄糖麦芽浸膏培养基上大且厚、湿润、表面光滑、不透明、黏稠、颜色单调的菌落进行酵母菌计数。选取马铃薯培养基上菌丝细长,菌落疏松,呈绒毛状、蜘蛛网状和棉絮状的菌落进行霉菌计数。对菌落数为 10~100 的培养皿进行有效性计数:

1 g 样品中活菌数=($N \times D$)/ W

其中, N 为菌落数, D 为稀释倍数, W 为取样量(g)。

1.4 有氧稳定性分析

青贮 61 d,打开青贮袋,将各组青贮饲料暴露于

空气中,分别在有氧暴露后的第 0 d、第 2 d、第 5 d、第 7 d、第 15 d 取样分析饲料的 pH 值以及乳酸菌数量、酵母菌数量和霉菌数量的变化。

1.5 统计分析

用 SPSS 18.0 软件对试验数据进行方差分析,采用 Duncan's 法对平均值进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同比例稻草和多花黑麦草混合青贮对饲料 pH 值的影响

表 1 显示,青贮 5 d 时,处理 A 的 pH 值最高,为 4.84,处理 B、处理 C、处理 D 和处理 E 的 pH 值分别为 4.44、4.75、4.55 和 4.28。青贮 61 d 时,处理 A 的 pH 值为 4.24,处理 B、处理 C、处理 D 和处理 E 的 pH 值分别为 4.15、4.22、4.19 和 4.15。处理 E 的 pH 值在青贮前期的下降速度比其他处理快。

表 1 不同比例稻草和多花黑麦草混合青贮对饲料 pH 值的影响

Table 1 Effect of different levels of rice straw addition on pH in ryegrass and rice straw mixed silage

处理	青贮不同时间后饲料的 pH 值							
	1 d	5 d	12 d	21 d	31 d	61 d	99 d	154 d
A	5.90±0.03a	4.84±0.05a	4.65±0.06a	4.71±0.04a	4.36±0.05a	4.24±0.02a	4.23±0.05a	4.27±0.08a
B	5.58±0.03b	4.44±0.03c	4.33±0.05c	4.27±0.03b	4.16±0.02b	4.15±0.04b	4.13±0.02bc	4.16±0.03b
C	5.62±0.03b	4.75±0.03a	4.46±0.05b	4.30±0.04b	4.27±0.08a	4.22±0.03a	4.11±0.04c	4.13±0.06b
D	5.50±0.01c	4.55±0.03b	4.26±0.09c	4.08±0.06c	4.09±0.08b	4.19±0.04ab	4.16±0.02bc	4.19±0.03ab
E	5.48±0.02c	4.28±0.09d	4.23±0.05c	4.13±0.04c	4.15±0.04b	4.15±0.04b	4.17±0.03ab	4.19±0.03ab

A:多花黑麦草和稻草按5:5的比例进行青贮处理;B:多花黑麦草和稻草按6:4的比例进行青贮处理;C:多花黑麦草和稻草按7:3的比例进行青贮处理;D:多花黑麦草和稻草按8:2的比例进行青贮处理;E:多花黑麦草和稻草按9:1的比例进行青贮处理。同列数据后不同小写字母表示同一青贮时间下不同处理间饲料 pH 值差异显著($P<0.05$)。

2.2 不同比例稻草和多花黑麦草混合青贮对微生物数量的影响

表 2 显示,处理 A 的乳酸菌数量在青贮后第 12 d 达到最高峰,为 2.32×10^7 CFU/g。处理 B 的乳酸菌数量在青贮后第 5 d 达到最高峰,为 8.28×10^8 CFU/g。处理 C 的乳酸菌数量在青贮后第 5 d 达到最高峰,为 9.60×10^7 CFU/g。处理 D 的乳酸菌数量在青贮后第 1 d 达到最高峰,为 5.87×10^7 CFU/g。处理 E 的乳酸菌数量在青贮后第 5 d 达到最高峰,为 6.87×10^7 CFU/g。

处理 A 的乳酸菌数量随青贮时间延长呈先升高后下降的趋势,到青贮 154 d 时乳酸菌数量只有 1.63×10^3 CFU/g。处理 B 的乳酸菌数量随

时间延长呈先升高后下降的趋势,到青贮 99 d 和 154 d 时乳酸菌数量为 5.48×10^5 CFU/g 和 4.47×10^5 CFU/g。处理 C 的乳酸菌数量随时间延长呈先升高后下降的趋势,到青贮 154 d 时乳酸菌数量只有 5.17×10^3 CFU/g。处理 D 的乳酸菌数量随时间延长呈下降的趋势,到青贮 99 d 和 154 d 时乳酸菌数量为 8.65×10^4 CFU/g 和 6.13×10^3 CFU/g。处理 E 的乳酸菌数量随时间延长呈先升高,后下降,再升高,再下降的趋势,到青贮 99 d 和 154 d 时乳酸菌数量为 6.57×10^4 CFU/g 和 7.38×10^3 CFU/g。在青贮 1~154 d,处理 B 的乳酸菌数量均显著高于处理 A、处理 C、处理 D 和处理 E。

表 2 不同比例稻草和多花黑麦草混合青贮对饲料中乳酸菌数量的影响

Table 2 Effect of different levels of rice straw addition on the number of lactic acid bacteria in ryegrass and rice straw mixed silage

处理	青贮不同时间后饲料中乳酸菌数量(CFU/g)							
	1 d	5 d	12 d	21 d	31 d	61 d	99 d	154 d
A	$(6.67 \pm 0.61) \times 10^6$ e	$(1.55 \pm 0.53) \times 10^7$ d	$(2.32 \pm 0.69) \times 10^7$ b	$(8.68 \pm 0.35) \times 10^6$ b	$(8.67 \pm 0.31) \times 10^6$ b	$(6.72 \pm 0.40) \times 10^6$ b	$(1.85 \pm 0.05) \times 10^5$ b	$(1.63 \pm 0.11) \times 10^3$ b
B	$(8.67 \pm 0.57) \times 10^7$ a	$(8.28 \pm 0.75) \times 10^8$ a	$(2.40 \pm 0.46) \times 10^8$ a	$(2.73 \pm 0.25) \times 10^7$ a	$(9.92 \pm 0.60) \times 10^6$ a	$(8.27 \pm 0.25) \times 10^6$ a	$(5.48 \pm 0.37) \times 10^5$ a	$(4.47 \pm 0.38) \times 10^5$ a
C	$(2.53 \pm 0.59) \times 10^7$ d	$(9.60 \pm 0.46) \times 10^7$ bc	$(4.55 \pm 0.35) \times 10^7$ b	$(8.60 \pm 0.26) \times 10^6$ b	$(3.80 \pm 0.36) \times 10^6$ c	$(3.68 \pm 0.19) \times 10^6$ d	$(1.75 \pm 0.04) \times 10^5$ b	$(5.17 \pm 0.45) \times 10^3$ b
D	$(5.87 \pm 0.35) \times 10^7$ b	$(5.30 \pm 0.70) \times 10^7$ cd	$(2.63 \pm 0.42) \times 10^7$ b	$(7.72 \pm 0.20) \times 10^6$ b	$(2.68 \pm 0.20) \times 10^6$ d	$(2.37 \pm 0.31) \times 10^6$ e	$(8.65 \pm 0.31) \times 10^4$ c	$(6.13 \pm 0.32) \times 10^3$ b
E	$(4.20 \pm 0.72) \times 10^7$ c	$(6.87 \pm 0.65) \times 10^7$ cd	$(4.05 \pm 0.55) \times 10^7$ b	$(3.30 \pm 0.53) \times 10^6$ c	$(4.52 \pm 0.40) \times 10^6$ c	$(4.48 \pm 0.50) \times 10^6$ c	$(6.57 \pm 0.21) \times 10^4$ c	$(7.38 \pm 0.40) \times 10^3$ b

A、B、C、D、E 见表 1 注。同列数据后不同小写字母表示同一青贮时间下不同处理间乳酸菌数量差异显著 ($P < 0.05$)。

表 3 显示,各处理的酵母菌数量在青贮第 1 d 时达到最大。处理 A、处理 B 和处理 E 的酵母菌数量均随发酵时间的延长而减少,青贮 12 d 时,处理 B 的酵母菌数量减到 1.00×10^3 CFU/g 数量级,青贮 31 d 时,处理 B 的酵母菌数量小于 1.00×10^2 CFU/g。青贮 61

d 时,处理 C 的酵母菌数量小于 1.00×10^2 CFU/g,而青贮 99 d 和 154 d 时,处理 C 的酵母菌数量分别增加到 2.16×10^2 CFU/g 和 1.07×10^2 CFU/g。青贮第 1 d 时,处理 A 的酵母菌数量最高。青贮 154 d 时,处理 E 的酵母菌数量最高,为 1.09×10^3 CFU/g。

表 3 不同比例稻草和多花黑麦草混合青贮对饲料中酵母菌数量的影响

Table 3 Effect of different levels of rice straw addition on the number of yeast in ryegrass and rice straw mixed silage

处理	青贮不同时间后饲料中酵母菌数量(CFU/g)							
	1 d	5 d	12 d	21 d	31 d	61 d	99 d	154 d
A	$(3.22 \pm 0.26) \times 10^7$ a	$(3.27 \pm 0.35) \times 10^6$ a	$(8.33 \pm 0.23) \times 10^5$ a	$(3.12 \pm 0.35) \times 10^4$ a	$(2.15 \pm 0.15) \times 10^4$ a	$(4.77 \pm 0.80) \times 10^3$ a	$(5.18 \pm 0.60) \times 10^2$ c	$(1.44 \pm 0.08) \times 10^2$ b
B	$(5.30 \pm 0.53) \times 10^6$ c	$(7.48 \pm 0.37) \times 10^4$ c	$(5.38 \pm 0.46) \times 10^3$ c	$(4.13 \pm 0.25) \times 10^2$ d	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$
C	$(7.45 \pm 0.25) \times 10^6$ bc	$(2.63 \pm 0.51) \times 10^5$ bc	$(3.30 \pm 0.17) \times 10^4$ c	$(1.58 \pm 0.10) \times 10^3$ d	$(1.08 \pm 0.08) \times 10^3$ c	$< 1.00 \times 10^2$	$(2.16 \pm 0.10) \times 10^2$ c	$(1.07 \pm 0.07) \times 10^2$ b
D	$(8.53 \pm 0.45) \times 10^6$ b	$(5.13 \pm 0.42) \times 10^5$ b	$(3.17 \pm 0.47) \times 10^4$ c	$(1.47 \pm 0.08) \times 10^4$ c	$(1.21 \pm 0.05) \times 10^4$ b	$(3.25 \pm 0.41) \times 10^3$ b	$(5.07 \pm 0.47) \times 10^3$ a	$(1.75 \pm 0.14) \times 10^2$ b
E	$(9.03 \pm 0.25) \times 10^6$ b	$(5.35 \pm 0.41) \times 10^5$ b	$(3.75 \pm 0.35) \times 10^5$ b	$(2.32 \pm 0.08) \times 10^4$ b	$(2.08 \pm 0.08) \times 10^4$ a	$(5.42 \pm 0.50) \times 10^3$ a	$(3.05 \pm 0.51) \times 10^3$ b	$(1.09 \pm 0.11) \times 10^3$ a

A、B、C、D、E 见表 1 注。同列数据后不同小写字母表示同一青贮时间下不同处理间酵母菌数量差异显著 ($P < 0.05$)。

表 4 显示,青贮过程中随着发酵时间的延长,霉菌数量迅速减少。在青贮第 5 d 时,处理 B 和处理 C 的霉菌数量均小于 1.00×10^2 CFU/g。在青贮第

12 d 时,处理 A、处理 D 和处理 E 的霉菌数量也均小于 1.00×10^2 CFU/g。

表 4 不同比例稻草和多花黑麦草混合青贮对饲料中霉菌数量的影响

Table 4 Effect of different levels of rice straw addition on the number of molds in ryegrass and rice straw mixed silage

处理	青贮不同时间后饲料中霉菌数量(CFU/g)							
	1 d	5 d	12 d	21 d	31 d	61 d	99 d	154 d
A	$(4.83 \pm 0.65) \times 10^6$ a	$(3.18 \pm 0.30) \times 10^3$ c	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$
B	$(3.00 \pm 0.20) \times 10^5$ d	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$
C	$(2.42 \pm 0.43) \times 10^5$ d	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$
D	$(1.19 \pm 0.05) \times 10^6$ c	$(3.00 \pm 0.46) \times 10^4$ b	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$
E	$(3.00 \pm 0.36) \times 10^6$ b	$(5.03 \pm 0.25) \times 10^4$ a	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$

A、B、C、D、E 见表 1 注。同列数据后不同小写字母表示同一青贮时间下不同处理间霉菌数量差异显著 ($P < 0.05$)。

2.3 不同比例稻草和多花黑麦草混合青贮对饲料有氧稳定性的影响

表 5 显示,有氧暴露后各处理饲料的 pH 值均有所升高,并且在有氧暴露的前 5 d 各处理饲料的

pH 值均上升缓慢。有氧暴露 15 d 时,只有处理 B 和处理 C 饲料 pH 值在 5.00 以下。

表 6 显示,有氧暴露 0 d 时,各处理乳酸菌数量均为 1.00×10^6 CFU/g 数量级,有氧暴露 7 d 时,处理

B 饲料中乳酸菌数量还是维持在 1.00×10^6 CFU/g 数量级,但是处理 A、处理 D 和处理 E 饲料中乳酸菌数量只有 1.00×10^4 CFU/g 或 1.00×10^3 CFU/g 数量级。有氧暴露 15 d 时,处理 B 饲料中乳酸菌数量最

高,为 6.38×10^5 CFU/g,其次是处理 C,饲料中乳酸菌数量为 1.01×10^5 CFU/g,处理 E 饲料中乳酸菌数量最低,为 3.88×10^3 CFU/g。

表 5 有氧暴露期间 pH 值的变化

Table 5 Changes of pH during the aerobic exposure of ryegrass and rice straw mixed silage

处理	不同有氧暴露时间下饲料 pH 值				
	0 d	2 d	5 d	7 d	15 d
A	4.24±0.02a	4.36±0.06a	4.53±0.07a	4.99±0.09b	5.39±0.05c
B	4.15±0.04b	4.20±0.05c	4.30±0.06b	4.48±0.10c	4.71±0.08d
C	4.22±0.03a	4.22±0.03bc	4.34±0.05b	4.59±0.07c	4.82±0.10d
D	4.19±0.04ab	4.28±0.03ab	4.49±0.03a	5.05±0.05ab	5.53±0.03b
E	4.15±0.04b	4.37±0.06a	4.58±0.05a	5.16±0.04a	5.71±0.08a

A、B、C、D、E 见表 1 注。同列数据后不同小写字母表示同一有氧暴露时间下不同处理间饲料 pH 值差异显著 ($P < 0.05$)。

有氧暴露 5 d 时,处理 D 和处理 E 饲料中酵母菌数量分别为 5.27×10^5 CFU/g 和 3.23×10^5 CFU/g,而处理 B 和处理 C 饲料中酵母菌数量只有 1.00×10^3 CFU/g 数量级。有氧暴露 15 d 时,处理 D 和处理 E 饲料中酵母菌数量达到了 1.00×10^6 CFU/g 数量级,处理 B 饲料中酵母菌数量最少,为 2.17×10^4 CFU/g,处理 C 饲料中酵母菌数量也较少,为 5.63×10^4 CFU/g(表 6)。

有氧暴露的前 2 d,各处理饲料中霉菌数量均小于 1.00×10^2 CFU/g,有氧暴露 5 d 时,处理 D 和处理 E 饲料中霉菌数量快速增加,达到 1.00×10^3 CFU/g 数量级。有氧暴露 15 d 时,处理 E 饲料中霉菌数量达到 1.72×10^5 CFU/g,显著高于其他处理 ($P < 0.05$),处理 B 和处理 C 饲料中霉菌数量最低,分别为 2.97×10^3 CFU/g 和 3.57×10^3 CFU/g(表 6)。

表 6 有氧暴露期间饲料中各微生物数量的变化

Table 6 Microbial analysis during the aerobic exposure of ryegrass and rice straw mixed silage

微生物	处理	不同有氧暴露时间下饲料中不同微生物数量(CFU/g)				
		0 d	2 d	5 d	7 d	15 d
乳酸菌	A	$(6.72 \pm 0.40) \times 10^6$ b	$(2.33 \pm 0.10) \times 10^6$ b	$(5.97 \pm 0.74) \times 10^5$ c	$(8.28 \pm 0.86) \times 10^4$ c	$(5.55 \pm 0.87) \times 10^4$ c
	B	$(8.27 \pm 0.25) \times 10^6$ a	$(7.42 \pm 0.52) \times 10^6$ a	$(6.73 \pm 0.71) \times 10^6$ a	$(3.78 \pm 0.30) \times 10^6$ a	$(6.38 \pm 0.50) \times 10^5$ a
	C	$(3.68 \pm 0.19) \times 10^6$ d	$(1.71 \pm 0.10) \times 10^6$ c	$(2.08 \pm 0.09) \times 10^6$ b	$(8.75 \pm 0.58) \times 10^5$ b	$(1.01 \pm 0.10) \times 10^5$ b
	D	$(2.37 \pm 0.31) \times 10^6$ e	$(1.25 \pm 0.09) \times 10^6$ d	$(4.78 \pm 0.86) \times 10^5$ c	$(7.93 \pm 0.91) \times 10^4$ c	$(1.67 \pm 0.21) \times 10^4$ cd
	E	$(4.48 \pm 0.50) \times 10^6$ c	$(6.77 \pm 0.61) \times 10^5$ e	$(3.48 \pm 0.92) \times 10^5$ c	$(4.80 \pm 0.98) \times 10^4$ c	$(3.88 \pm 0.60) \times 10^3$ d
酵母菌	A	$(4.77 \pm 0.80) \times 10^3$ a	$(5.67 \pm 0.57) \times 10^3$ b	$(6.83 \pm 0.81) \times 10^4$ c	$(2.97 \pm 0.83) \times 10^5$ c	$(4.73 \pm 0.71) \times 10^5$ c
	B	$< 1.00 \times 10^2$	$(6.30 \pm 0.46) \times 10^2$ c	$(1.88 \pm 0.16) \times 10^3$ c	$(6.00 \pm 0.62) \times 10^3$ d	$(2.17 \pm 0.14) \times 10^4$ c
	C	$< 1.00 \times 10^2$	$(5.63 \pm 0.67) \times 10^2$ c	$(3.80 \pm 0.46) \times 10^3$ c	$(8.03 \pm 0.42) \times 10^3$ d	$(5.63 \pm 0.65) \times 10^4$ c
	D	$(3.25 \pm 0.41) \times 10^3$ b	$(6.17 \pm 0.60) \times 10^3$ b	$(5.27 \pm 0.50) \times 10^5$ a	$(1.75 \pm 0.14) \times 10^6$ b	$(3.63 \pm 0.40) \times 10^6$ b
	E	$(5.42 \pm 0.50) \times 10^3$ a	$(2.24 \pm 0.12) \times 10^4$ a	$(3.23 \pm 0.81) \times 10^5$ b	$(7.77 \pm 1.03) \times 10^6$ a	$(5.30 \pm 0.56) \times 10^6$ a
霉菌	A	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$(6.17 \pm 0.96) \times 10^2$ b	$(4.33 \pm 0.76) \times 10^3$ c	$(5.57 \pm 0.55) \times 10^4$ b
	B	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$(2.97 \pm 0.64) \times 10^3$ c
	C	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$(3.57 \pm 0.51) \times 10^3$ c
	D	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$(1.27 \pm 0.09) \times 10^3$ b	$(3.63 \pm 1.29) \times 10^4$ b	$(6.23 \pm 0.31) \times 10^4$ b
	E	$< 1.00 \times 10^2$	$< 1.00 \times 10^2$	$(5.70 \pm 0.60) \times 10^3$ a	$(8.70 \pm 0.75) \times 10^4$ a	$(1.72 \pm 0.08) \times 10^5$ a

A、B、C、D、E 见表 1 注。同一种微生物同列数据后不同小写字母表示同一有氧暴露时间下不同处理间饲料中微生物数量差异显著 ($P < 0.05$)。

3 讨论

青贮后饲料 pH 值的大小是决定青贮是否成功的重要指标, pH 值在 4.00 以下, 青贮饲料品质优等; pH 值为 4.10~4.30, 青贮饲料品质良好; pH 值为 4.40~5.00, 青贮饲料品质一般; pH 值在 5.00 以上, 青贮饲料品质劣等。本试验结果表明, 青贮第 5 d 时, 饲料 pH 值在 4.40 到 5.00 之间, 青贮第 61 d 时, pH 值降到 4.10 至 4.30 之间。万学瑞等^[16]指出, 添加乳酸菌后, 青贮第 3 d 玉米的 pH 值降至 4.00 以下, 对照组的 pH 值为 4.20, 青贮第 7 d 时, 对照组的 pH 值也降至 4.00 以下。杨云贵等^[15]指出, 玉米青贮饲料的 pH 值在青贮第 2 d 下降到 4.00 以下, 然后稳定在 3.50 左右, 这可能与牧草种类及牧草本身的含水量有关。处理 E 饲料的 pH 值下降速度比较快, 青贮第 5 d 时 pH 值降至 4.28, 青贮 61 d 时, 处理 E 饲料的 pH 值最低, 可能是由处理 E 的高水分含量导致的。王慧丽^[17]发现, 发酵 56 d 后全混合日粮的 pH 值降至 4.20 以下, 并随着水分含量的升高而逐渐降低。

乳酸菌是在青贮中起主要作用的益生菌, 它在厌氧状态下会将原料中的碳水化合物转化为乳酸。本试验中处理 B、处理 C 和处理 E 的乳酸菌数量在青贮第 5 d 达到最高峰, 然后逐渐下降, 青贮 61 d 时乳酸菌数量维持在 1.00×10^6 CFU/g 数量级。此结果与杨云贵等^[15]试验中玉米青贮过程中乳酸菌数量变化结果的趋势相似。但 Li 等^[18]指出, 凋萎多花黑麦草青贮过程中乳酸菌数量先增加, 第 7 d 时数量最多, 随后降低, 然后增加, 最后降低, 但是羊草青贮过程中乳酸菌数量在第 3 d 时达到最高峰, 随着青贮时间的延长, 乳酸菌数量的变化趋势比较缓和。处理 B 的乳酸菌数量在青贮第 1 d 时为 8.67×10^7 CFU/g, 青贮第 5 d 时达到最高峰, 为 8.28×10^8 CFU/g, 显著高于其他处理, 说明多花黑麦草和稻草以 6:4 的比例混合青贮能使乳酸菌很好地定殖和繁殖。

酵母菌属于真菌, 在青贮中可以利用青贮料中的糖分进行生长繁殖, 增加饲料中蛋白质的含量, 同时生成乙醇等物质, 使青贮饲料具有酒香味。酵母菌只在青贮的发酵初期生长繁殖, 随着青贮料中氧气的耗尽, 乳酸菌数量增加, 有机酸积累等, 使酵母菌因环境改变而停止生长活动。如果酵母菌在青贮

过程中发生剧烈活动, 会引起青贮饲料倾向于发生二次发酵, 对青贮是不利的。试验中各处理的酵母菌数量在青贮第 1 d 时达到最大, 之后各处理饲料的酵母菌数量都随发酵时间的延长而减少。王慧丽^[17]指出, 发酵 56 d 后, 酵母菌的数量处于检测线以下。本试验中, 青贮 12 d 时处理 B 饲料中酵母菌数量减至 1.00×10^3 CFU/g 数量级, 青贮 31 d 时酵母菌数量低于 1.00×10^2 CFU/g, 说明多花黑麦草和稻草以 6:4 的比例混合青贮更能抑制酵母菌在青贮中的活动。

如果青贮时密封不好或没有压实, 霉菌就会大量生长, 大部分霉菌能产生毒素, 从而降低青贮饲料品质, 导致动物适口性下降, 所以青贮饲料中霉菌数量越少越好, 消失的时间越早越好。本试验中, 各处理的霉菌数量都随时间的延长而减少, 青贮第 5 d 时处理 B 和处理 C 中霉菌数量小于 1.00×10^2 , 说明多花黑麦草和稻草以 6:4 或 7:3 的比例混合青贮时霉菌消失的最早。

有氧暴露后, 处理 A、处理 B、处理 D 和处理 E 的乳酸菌总数随有氧暴露时间延长逐渐减少, 处理 A、处理 B、处理 C 和处理 D 的酵母菌数量随有氧暴露时间延长逐渐增加, 全部处理的霉菌数量均随有氧暴露时间的延长逐渐增加。有氧暴露 15 d 时, 处理 B 和处理 C 的乳酸菌数均显著高于处理 D 和处理 E, 酵母菌和霉菌数量均显著低于处理 D 和处理 E。这一结果与王慧丽^[17]研究的结果一致。

大量研究结果^[19-22]表明, 酵母菌是引起青贮饲料好氧变质的重要微生物。刘秦华^[23]指出, 酵母菌会引起燕麦青贮的好氧变质, 且主要是利用乳酸能力较强的酿酒酵母、东方伊萨酵母和马克斯克鲁维酵母。在本试验中, 有氧暴露后各处理青贮饲料的酵母菌数量均逐渐增加, 处理 D 和处理 E 增加的最快, 有氧暴露 5 d 时酵母菌数量已分别达到 5.27×10^5 CFU/g 和 3.23×10^5 CFU/g, 而处理 B 和处理 C 的酵母菌数量只有 1.00×10^3 CFU/g 数量级。有氧暴露 15 d 时, 处理 D 和处理 E 的酵母菌数量达到了 1.00×10^6 CFU/g 数量级, 处理 B 和处理 C 的酵母菌数量最少, 分别为 2.17×10^4 CFU/g 和 5.63×10^4 CFU/g。说明稻草和多花黑麦草以不同比例混合青贮, 影响饲料的有氧稳定性, 且处理 B 和处理 C 的有氧稳定性最好。

多花黑麦草和稻草以 6:4 或 7:3 的比例混合

青贮时能够提高青贮饲料的有氧稳定性。综合饲料 pH、微生物数量及有氧稳定性指标,多花黑麦草和稻草以 6:4 或 7:3 比例混合青贮最优。

参考文献:

- [1] 常志州,靳红梅,黄红英,等. “十三五”江苏省秸秆综合利用策略与秸秆产业发展的思考[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(3): 534-541.
- [2] 涂远璐,孟梅娟,白云峰,等. 南方农区小麦秸秆与非常规饲料的组合利用[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(1): 166-173.
- [3] 玛里兰·毕克塔依尔,刘克正,艾比布拉·伊马木. 玉米秸秆为主 TMR 发酵饲料的发酵品质和粒度评价[J]. 山东农业科学, 2017, 49(2): 151-155.
- [4] WANG Y J, BI Y Y, GAO C Y. The assessment and utilization of straw resources in China [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2010, 9(12): 1807-1815.
- [5] 许能祥,丁成龙,顾洪如,等. 添加乳酸菌和米糠对水稻秸秆青贮品质的影响[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(6): 1308-1312.
- [6] 全林发,李 勃,刘 学,等. 菠萝皮添加对稻草青贮品质的影响[J]. 饲料研究, 2014(13): 85-88.
- [7] 许能祥,丁成龙,顾洪如,等. 稻秸与玉米秸、杂交狼尾草及象草混合青贮的研究[J]. 中国草地学报, 2012, 34(2): 93-98.
- [8] 蒋 慧,张 玲,马金萍,等. 枯草期骆驼刺与稻草混贮对青贮饲料品质的影响[J]. 草业学报, 2011, 20(2): 109-116.
- [9] 许庆方,韩建国,玉 柱. 青贮渗出液的研究进展[J]. 草业科学, 2005, 22(11): 90-95.
- [10] 李君临,张新全,玉 柱,等. 多花黑麦草与水稻秸秆混合青贮品质的研究[J]. 草地学报, 2014, 22(4): 915-918.
- [11] PITT R E, MUCK R E, LEIBENSPERGER R Y. A quantitative model of the ensilage process in lactate silages[J]. *Grass and Forage Science*, 1985, 40(3): 279-303.
- [12] 张大伟,陈林海,朱海霞,等. 青贮饲料中主要微生物对青贮品质的影响[J]. 饲料研究, 2007(3): 65-68.
- [13] 包慧芳,王 炜,王 宁,等. 玉米秸秆青贮过程中优势细菌多样性分析[J]. 微生物学通报, 2010, 37(8): 1247-1251.
- [14] 詹发强,包慧芳,崔卫东,等. 玉米青贮过程中乳酸菌动态变化[J]. 微生物学通报, 2010, 37(6): 834-838.
- [15] 杨云贵,张越利,杜 欣,等. 2 种玉米青贮饲料青贮过程中主要微生物的变化规律研究[J]. 畜牧兽医学报, 2012, 43(3): 397-403.
- [16] 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[J]. 草业学报, 2016, 25(4): 204-211.
- [17] 王慧丽. TMR 在发酵过程中及有氧状态下酵母菌群落演替规律研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- [18] LI Y, NISHINO N. Changes in the bacterial community and composition of fermentation products during ensiling of wilted Italian ryegrass and wilted guinea grass silages[J]. *Animal Science Journal*, 2013, 84(8): 607-612.
- [19] WOOLFORD M K. The detrimental effects of air on silage[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 1990, 68(2): 101-116.
- [20] BORREANI G, PIANO S, TABACCO E. Aerobic stability of maize silage stored under plastic films with different oxygen permeability[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2014, 94(13): 2684-2690.
- [21] MIDDELHOVEN W J, FRANZEN M M. The yeast flora of ensiled whole-crop maize[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1986, 37(9): 855-861.
- [22] TABACCO E, PIANO S, REVELLO-CHION A, et al. Effect of *Lactobacillus buchneri* LN4637 and *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability, fermentation products, and microbial populations of corn silage under farm conditions[J]. *Journal of Dairy Science*, 2011, 94(11): 5589-5598.
- [23] 刘秦华. 影响青贮料好氧变质的因素及乳酸菌抑制变质的机理研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2012.

(责任编辑:王 妮)