

DOI: 10.11686/cyxb2024074

http://cyxb.magtech.com.cn

马永霞, 代程程, 吴建平, 等. 不同乳酸菌制剂组合对油菜秸秆发酵品质和体外瘤胃发酵特性的影响. 草业学报, 2025, 34(1): 203-214.

MA Yong-xia, DAI Cheng-cheng, WU Jian-ping, et al. Effects of different *Lactobacillus* combinations on fermentation quality and *in vitro* rumen fermentation characteristics of rape straw. Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(1): 203-214.

## 不同乳酸菌制剂组合对油菜秸秆发酵品质和体外瘤胃发酵特性的影响

马永霞<sup>1\*\*</sup>, 代程程<sup>1\*\*</sup>, 吴建平<sup>2</sup>, 张康林<sup>2</sup>, 史海涛<sup>1</sup>, 黄艳玲<sup>1\*</sup>

(1. 西南民族大学畜牧兽医学院, 青藏高原动物遗传资源保护与利用教育部重点实验室, 动物科学国家民委重点实验室, 四川 成都 610041; 2. 四川省甘孜藏族自治州畜牧科学研究所, 四川 康定 626000)

**摘要:** 本试验旨在探究植物乳酸杆菌和布氏乳酸杆菌对油菜秸秆的常规营养成分、康奈尔净碳水化合物蛋白质体系组分(CNCPS)和牦牛体外瘤胃发酵参数的影响。以油菜秸秆为发酵底物, 共设置4个处理组, 分别为对照组(CON组, 不添加任何菌制剂)、LP组(添加 $1.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 植物乳酸杆菌)、LB组(添加 $1.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 布氏乳酸杆菌)和LPB组( $1.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 植物乳酸杆菌+ $1.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 布氏乳酸杆菌), 每个处理5个重复。油菜秸秆切短至2 cm并与菌制剂混合均匀后, 室温厌氧发酵45 d后取样。测定油菜秸秆营养成分、CNCPS和牦牛体外瘤胃发酵参数。结果表明: 1) 与CON组相比, LP、LB和LPB组pH值均降低( $P<0.05$ ), 乳酸含量升高( $P<0.05$ )且LPB组含量最高。2) 与CON组相比, LP、LB和LPB组的中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)及纤维素(cellulose)含量降低( $P<0.05$ ), 粗脂肪含量升高( $P<0.05$ ), 且LPB组NDF、ADF及酸性洗涤木质素(ADL)含量低于其他两个处理组( $P<0.05$ )。3) 与CON组相比, 各处理组的快速降解蛋白(PB1)和中速降解蛋白(PB2)无显著变化( $P>0.05$ ), LPB组的非蛋白氮(PA1)含量升高( $P<0.05$ ), 不可降解蛋白质(PC)含量显著降低( $P<0.05$ )。各处理组不可利用纤维(CC)含量均降低( $P<0.05$ ), 可利用纤维(CB2)和非结构性碳水化合物(NSC)含量显著升高( $P<0.05$ ), LPB组的CC含量低于CON、LP和LB组( $P<0.05$ )。4) 油菜秸秆经72 h体外产气后, 各组瘤胃液pH无显著差异( $P>0.05$ ), 各组 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量均低于CON组( $P<0.05$ ), LPB组的干物质降解率(DMD)和挥发性脂肪酸(VFA)含量高于CON组( $P<0.05$ )。综上, 菌制剂厌氧发酵油菜秸秆后, 提高了油菜秸秆的营养价值, 且不同种类菌制剂对油菜秸秆营养价值的改善作用不同, 经综合比较, 植物乳杆菌+布氏乳杆菌>植物乳杆菌>布氏乳杆菌。

**关键词:** 油菜秸秆; 康奈尔净碳水化合物蛋白质体系组分; 菌制剂; 体外发酵

## Effects of different *Lactobacillus* combinations on fermentation quality and *in vitro* rumen fermentation characteristics of rape straw

MA Yong-xia<sup>1\*\*</sup>, DAI Cheng-cheng<sup>1\*\*</sup>, WU Jian-ping<sup>2</sup>, ZHANG Kang-lin<sup>2</sup>, SHI Hai-tao<sup>1</sup>, HUANG Yan-ling<sup>1\*</sup>

1. Key Laboratory of Animal Science of National Ethnic Affairs Commission, Key Laboratory of Qinghai-Tibetan Plateau Animal Genetic Resources Reservation and Utilization, College of Animal and Veterinary Sciences, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China; 2. Institute of Animal Husbandry of Ganzi Tibetan Autonomous Prefecture of Sichuan Province, Kangding 626000, China

收稿日期: 2024-03-06; 改回日期: 2024-05-08

基金项目: 四川省科技厅重点研发项目: 油菜秸秆饲料化高效利用技术研究与应用(2022YFN0063), 四川肉牛创新团队建设项目(secxtd-2023-13)和牦牛高效养殖关键技术与集成应用研究资助。

作者简介: 马永霞(1998-), 女, 甘肃临夏人, 硕士。E-mail: 1457977838@qq.com; 代程程(1997-), 女, 四川德阳人, 硕士。E-mail: Decnanami@outlook.com. \*\* 共同第一作者 These authors contributed equally to this work.

\* 通信作者 Corresponding author. E-mail: swunylh@163.com

**Abstract:** This experiment was designed to investigate the effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brucei* on the conventional nutrient composition and protein fraction of rape (*Brassica campestris*) straw, and *in vitro* rumen fermentation parameters in yaks. Four treatment groups with five replicates in each group were set up, including a control group (CON; without any bacterial preparation), an LP group (with  $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  *L. plantarum*), an LB group (with  $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  *L. brucei*), and an LPB group (with  $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  *L. plantarum* +  $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  *L. brucei*). Rape straw was used as fermentation substrate. The rape straw was cut to 2 cm lengths and mixed well with the bacterial preparation, then packed into polyethylene bags. The bags were evacuated and anaerobically fermented at room temperature for 45 days. Samples were taken to determine the nutrient composition, Cornell net carbohydrate and protein (CNCPS) system data, and yak *in vitro* rumen fermentation parameters of the straws. The results showed that: 1) Compared with the CON group, the pH values of the LP, LB, and LPB groups were decreased ( $P < 0.05$ ), and lactic acid content was increased ( $P < 0.05$ ), with the highest values recorded in the LPB group. 2) Compared with the CON group, the neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), and cellulose content of the LP, LB, and LPB groups were decreased, and the ether extract content was increased ( $P < 0.05$ ). Furthermore, the NDF, ADF, and acid detergent lignin levels (ADL) in the LPB group were lower than those in the other two treatment groups ( $P < 0.05$ ). 3) Compared with the CON group, the rapidly degraded protein (PB1) and moderately degraded protein (PB2) in each treatment group did not change significantly ( $P > 0.05$ ). The content of non-protein nitrogen (PA1) in the LPB group increased ( $P < 0.05$ ), and the content of unavailable protein (PC) decreased ( $P < 0.05$ ). The content of unavailable fiber (CC) in each treatment group decreased ( $P < 0.05$ ), and the content of available fiber (CB2) and non-structural carbohydrates (NSC) increased ( $P < 0.05$ ), compared to CON. The content of CC in the LPB group was lower than that in CON, LP and LB groups ( $P < 0.05$ ). 4) After 72 hours *in vitro* gas production of rape straw, there was no significant difference in rumen fluid pH among the groups ( $P > 0.05$ ). The  $\text{NH}_3\text{-N}$  content in each group was lower than that in the CON group ( $P < 0.05$ ). The dry matter degradation rate (DMD) and volatile fatty acid (VFA) content in the LPB group were higher than those in the CON group ( $P < 0.05$ ). In conclusion, the anaerobic fermentation of rape straws inoculated with bacterial preparations improved the nutritional value of the rape straws, and different bacterial preparations differed in their efficacy. On a multivariate comparative score, the treatments ranked: *L. plantarum* + *L. brucei* > *L. plantarum* > *L. brucei*.

**Key words:** rape straw; Cornell net carbohydrate and protein system; bacterial preparation; *in vitro* fermentation

近年来,反刍动物饲养量的提高使得粗饲料的需求不断提升,优质粗饲料的供应是发展反刍动物等草食畜牧业的关键。粗饲料在反刍动物的日粮组成中占40%~80%,其分解为挥发性脂肪酸(volatile fatty acid, VFA)、二氧化碳和甲烷等产物,为反刍动物提供能量。且粗饲料中含量丰富的纤维对反刍动物起到刺激反刍和咀嚼、唾液分泌、维持瘤胃正常pH的功能。因此粗饲料是反刍动物正常生长发育所必需的。我国优质粗饲料资源短缺是制约畜牧业发展的重要因素之一,尤其在青藏高原地区饲草严重匮乏,在这种情况下,利用非常规粗饲料来替代饲草,对反刍动物养殖发展具有重要意义<sup>[1-2]</sup>。

油菜(*Brassica campestris*)秸秆是油菜的附属物,由纤维素、半纤维素和木质素三部分构成,在我国的经济作物中占有重要比重。研究显示,我国油菜资源产量高达 $1445.8 \text{ 万 t} \cdot \text{a}^{-1}$ ,远远超过全世界油菜总产量的 $1/5$ <sup>[3]</sup>。四川是农业大省,也是产秸秆大省,其中油菜秸秆占总产量的12.1%,将油菜秸秆作为粗饲料运用到反刍动物生产中可弥补粗饲料短缺的不足。然而,油菜秸秆组成中的木质素具有高度疏水性,会干扰反刍动物瘤胃中的纤维素酶对纤维的分解。此外,纤维素、半纤维素和木质素之间的酯化键限制了瘤胃微生物对秸秆的消化,严重阻碍了油菜秸秆的推广和应用。研究发现,通过物理、化学及微生物发酵油菜秸秆,均可不同程度地改善其营养价值。董春晓等<sup>[4]</sup>研究了粉碎风干玉米(*Zea mays*)秸秆、玉米芯、葵花(*Helianthus annuus*)籽壳和油菜秸秆饲喂湖羊,结

果发现粉碎油菜秸秆组不仅降低了育肥湖羊日增重,且中性洗涤纤维(neutral detergent fiber, NDF)消化率低于玉米秸秆和玉米芯处理组,这说明物理粉碎法处理的油菜秸秆饲喂湖羊效果不佳。Ma等<sup>[5]</sup>采用氨化处理稻(*Oryza sativa*)草,结果表明氨化提高了稻草粗蛋白(crude protein, CP)、干物质降解率(dry matter degradation rate, DMD)、VFA和体外累积产气量,并且降低了NDF含量,但饲喂过量氨化处理的秸秆会导致家畜氨中毒,没有被利用的氨释放到空气中,会造成污染,对人体健康造成危害。因此在实际生产中的应用并不是很广泛。周闯<sup>[6]</sup>采用绿色木霉、产朊假丝酵母和戊糖片球菌密封发酵处理油菜秸秆,发现日粮20%发酵油菜秸秆替代大豆(*Glycine max*)秸秆能提高山羊日增重,降低料重比,提高营养物质消化率和抗氧化能力。许兰娇等<sup>[7]</sup>比较了不同微贮制剂处理油菜秸秆对肉牛生产性能及养分消化率的影响,结果发现油菜秸秆经过乳酸菌(lactic acid bacteria)+酵母菌(yeast bacteria)和益生菌(probiotics bacteria)+螯合微量元素联合处理后,饲喂锦江黄牛效果最好,可提高其总能、CP以及酸性洗涤纤维(acid detergent fiber, ADF)的表观消化率。随着生物技术的迅速发展,微生物发酵秸秆易操作、成本低,已成为国内外研究的热点。

菌制剂是一种青贮添加剂,如白腐真菌(*Phanerochaete chrysosporium*)和乳酸菌等<sup>[8]</sup>,其通过厌氧发酵能将可溶性碳水化合物(soluble carbohydrate, WSC)转化为有机酸,降低pH值,抑制有害微生物活性,从而可以保持甚至提高粗饲料的营养价值<sup>[9-12]</sup>。谢全喜等<sup>[13]</sup>采用植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)和布氏乳杆菌(*Lactobacillus brucei*)发酵小麦(*Triticum aestivum*)秸秆,结果显示发酵后小麦秸秆NDF和ADF含量降低,乳酸含量增加,但以上研究大多集中于玉米秸秆、小麦秸秆及水稻秸秆,研究者虽对油菜秸秆饲料化利用做了一些探索,但缺乏系统性研究,应用效果不一致,大部分研究停留在常规营养成分分析层面,没有系统地通过康奈尔净碳水化合物蛋白质体系组分(Cornell net carbohydrate and protein system, CNCPS)体系评价油菜秸秆经不同方法处理后估测饲料的可利用粗蛋白、预测瘤胃内可消化有机物、微生物蛋白质合成及未消化饲料的流向。因此,本试验添加不同菌制剂厌氧发酵油菜秸秆,探究其对油菜秸秆发酵品质、常规营养成分、CNCPS组分和瘤胃体外发酵参数的影响,旨在探究菌制剂对厌氧发酵油菜秸秆饲用价值的影响,以期对油菜秸秆在反刍动物中的饲料化利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本试验选用风干脱籽油菜秸秆(收获于5月中旬,采于四川省德阳市,品种为德油5号);菌制剂为植物乳杆菌(活力 $1.4 \times 10^9$  cfu·g<sup>-1</sup>)及布氏乳杆菌(活力 $3 \times 10^8$  cfu·g<sup>-1</sup>),购自北京精准动物营养研究中心有限公司,菌制剂冻干粉于4℃冰箱贮存,油菜秸秆原样常规营养成分见表1。

### 1.2 试验设计

试验以油菜秸秆为发酵底物,共设置对照组(CON组,不添加任何菌制剂)、LP组(添加 $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 植物乳杆菌)、LB组(添加 $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 布氏乳酸杆菌)和LPB组( $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 植物乳杆菌+ $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 布氏乳杆菌,LPB),每个处理5个重复,每个重复200 g油菜秸秆,试验设计见表2。

### 1.3 试验方法

2022年5月在德阳市通过5点采样法选取油菜秸秆堆垛中5个以上不同部位的点进行采样,每点采样200 g左右,茎叶比例均匀,将采取的样品带回西南民族大学实验室剪成2~3 cm长度,用蒸馏水将水分含量控制在65%~75%。各组取分析样品约200 g,将菌制剂溶于蒸馏水,均匀喷洒在处理组的油菜秸秆上,对照组添加等体积蒸馏水,样品均装入青贮袋中,抽真空后置于室温下厌氧发酵45 d后开袋。试验时间为2022年5月15

表1 油菜秸秆营养成分(风干基础)

Table 1 Nutritional composition of rape straw (air-dry basis, %)

| 项目 Items                             | 含量 Content |
|--------------------------------------|------------|
| 干物质 Dry matter (DM)                  | 94.80      |
| 粗灰分 Crude ash (ash)                  | 6.57       |
| 粗脂肪 Ether extract (EE)               | 2.01       |
| 粗蛋白质 Crude protein (CP)              | 3.91       |
| 中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber (NDF) | 74.70      |
| 酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber (ADF)    | 54.80      |
| 酸性洗涤木质素 Acid detergent lignin (ADL)  | 11.20      |

表2 试验设计

Table 2 The design of experiment ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )

| 原料 Raw material    | 处理组 Treatment | 菌制剂 Bacterial preparation                          | 添加量 Additive amount |
|--------------------|---------------|--|---------------------|
| 油菜秸秆<br>Rape straw | CON           | 无添加 No additives                                   | 0                   |
|                    | LP            | 植物乳杆菌 <i>L. plantarum</i>                          | 1                   |
|                    | LB            | 布氏乳杆菌 <i>L. brucei</i>                             | 1                   |
|                    | LPB           | 植物乳杆菌+布氏乳杆菌 <i>L. plantarum</i> + <i>L. brucei</i> | 1+1                 |

日—2023年1月26日。开袋后将样品均匀混合,取部分样品用于发酵品质指标的测定,剩余样品经65℃烘干,过0.425 mm筛,保存于自封袋中,用于测定常规营养成分、CNCPS组分。

瘤胃液的采集与制备:于2022年11月3日在四川省甘孜州理塘县,晨饲前采集3头雌性牦牛[年龄为3岁,体重为(300±20) kg]的瘤胃液1500 mL,均匀混合后通入CO<sub>2</sub>,迅速带回实验室,在39℃水浴锅中经4层纱布过滤,并持续通入CO<sub>2</sub>,保证瘤胃液处于厌氧状态。体外发酵试验参照Menke等<sup>[14]</sup>的方法进行,配制缓冲液后,将瘤胃液和缓冲液按1:2比例均匀混合成培养液。准确称量1 g底物置于一次性注射器内(100 mL),在每个注射器中加入50 mL混合培养液,摇匀,并转入39℃摇床中发酵72 h,在8、16、24、36、48、72 h记录相应的累积产气量。

#### 1.4 指标测定及分析

**1.4.1 发酵指标的测定** 取20 g样品,剪碎,置于200 mL烧杯中,加入180 mL蒸馏水,匀浆1 min,保鲜膜封口后置于4℃冰箱,24 h后经4层纱布过滤。使用梅特勒—托利多pH计(FE38,上海微川精密仪器有限公司)测滤液pH<sup>[15]</sup>,剩余滤液分装于10 mL离心管,保存于-20℃冰箱,用于测定NH<sub>3</sub>-N含量<sup>[16]</sup>、WSC含量<sup>[17]</sup>,采用安捷伦7890B气相色谱仪(美国)测定VFA含量<sup>[18]</sup>和对羟基联苯比色法<sup>[19]</sup>测定乳酸含量。

**1.4.2 营养成分的测定** 发酵后的样品在65℃下烘48 h,粉碎,过0.425 mm筛,用于测定各营养成分:依据《饲料分析及饲料质量检测技术》<sup>[20]</sup>测定干物质(dry matter, DM)、粗蛋白质(crude protein, CP)、粗灰分(crude ash, Ash)及粗脂肪(ether extract, EE)含量;有机物(organic matter, OM)=DM-Ash;中性洗涤纤维(neutral detergent fiber, NDF)、酸性洗涤纤维(acid detergent fiber, ADF)及酸性洗涤木质素(acid detergent lignin, ADL)含量参照Van Soest等<sup>[21]</sup>的洗涤纤维素分析法测定;纤维素(cellulose, CE)=ADF-ADL;半纤维素(hemicellulose, HE)=NDF-ADF;中性洗涤不溶蛋白质(neutral detergent insoluble protein, NDIP)含量:选取测定中性洗涤纤维后的样品,依据《饲料分析及饲料质量检测技术》<sup>[20]</sup>测定粗蛋白即为中性洗涤不溶蛋白;酸性洗涤不溶蛋白(acid detergent insoluble protein, ADIP)含量:选取测定酸性洗涤纤维后的样品,使用凯氏定氮法测定粗蛋白即为酸性洗涤不溶蛋白<sup>[22]</sup>。可溶性蛋白(soluble protein, SP)和非蛋白氮(non protein nitrogen, NPN)含量参照Krishnamoorthy等<sup>[23]</sup>的方法测定,具体方法为称取0.5 g样品置于125 mL三角瓶内,加入50 mL BP缓冲液(磷酸二氢钠1.22 g+十水硼酸钠0.89 g+叔丁醇100 mL,混匀)和10%叠氮化钠1 mL,室温放置3 h后过滤,将剩余物连同滤纸一同进行凯氏定氮,测得饲料中不溶于BP缓冲液的蛋白含量,饲料中CP含量减去此数值即为饲料中的可溶性蛋白含量。称取0.5 g样品置于125 mL三角瓶内,加入50 mL蒸馏水,静置30 min,加入10%三氯乙酸(trichloroacetic acid, TCA)溶液10 mL,静置20 min,然后用定量滤纸过滤,将剩余物连同滤纸一起进行凯氏定氮即为非蛋白氮;淀粉(starch)含量通过Megazyme淀粉试剂盒(爱尔兰)进行测定。

**1.4.3 CNCPS各组分的计算方法** CNCPS各组分的计算方法如表3所示。

#### 1.5 体外发酵参数的测定

将培养管取出放入冰袋中使发酵停止,用pH计(FE38,上海微川精密仪器有限公司)测定发酵液pH值。参考汤少勋等<sup>[24]</sup>的方法读取累积产气量。发酵液转移至10 mL的离心管,离心(4℃,8500 r·min<sup>-1</sup>,15 min),取上清液分装至10 mL的离心管,用于测定乙酸、丙酸、丁酸、NH<sub>3</sub>-N和微生物蛋白(microbial proteins, MCP)含量<sup>[25]</sup>,并用蒸馏水冲洗培养管中剩余的残渣和对应样品离心的沉淀物,用尼龙布过滤,在65℃烘干48 h,称重,并计算样品DMD<sup>[26]</sup>。

表 3 康奈尔净碳水化合物蛋白质体系组分计算公式

Table 3 Calculation formula of Cornell net carbohydrate and protein system component

| 项目 Items   | 计算公式 Formula  |
|--|---|
| 总碳水化合物 Carbohydrate (CHO, %DM)                     | $100 - \text{CP}(\% \text{DM}) - \text{EE}(\% \text{DM}) - \text{Ash}(\% \text{DM})$  |
| 不可利用纤维 Unavailable fiber (CC, %CHO)                | $100 \times [\text{NDF}(\% \text{DM}) \times 0.01 \times \text{ADL}(\% \text{NDF}) \times 2.4] / \text{CHO}(\% \text{DM})$  |
| 可利用纤维 Available fiber (CB2, %CHO)                  | $\text{NSC}(\% \text{DM}) - \text{CA1}(\% \text{DM}) - \text{CA2}(\% \text{DM}) - \text{CA3}(\% \text{DM}) - \text{CA4}(\% \text{DM}) - \text{CB1}(\% \text{DM})$ |
| 非结构性碳水化合物 Non-structural carbohydrates (NSC, %CHO) | $\text{CHO}(\% \text{DM}) - \text{NDF}(\% \text{DM})$   |
| 非蛋白氮 Non-protein nitrogen (PA1, %CP)               | $\text{N}(\% \text{SP}) \times [\text{SP}(\% \text{CP}) / 100] \times [\text{CP}(\% \text{DM}) / 100]$  |
| 快速降解蛋白质 Rapidly degraded protein (PB1, %CP)        | $\text{CP}(\% \text{DM}) - \text{PA1}(\% \text{DM}) - \text{PA2}(\% \text{DM}) - \text{PB2}(\% \text{DM}) - \text{PC}(\% \text{DM})$                              |
| 中速降解蛋白质 Moderately degraded protein (PB2, %CP)     | $\text{NDIP}(\% \text{CP}) - \text{ADIP}(\% \text{CP}) \times \text{CP}(\% \text{DM}) \times 100$   |
| 可溶性真蛋白质 Soluble true protein (PA2, %CP)            | $[\text{SP}(\% \text{CP}) \times \text{CP}(\% \text{DM})] / 100 - \text{PA1}(\% \text{DM})$   |
| 不可降解蛋白质 Unavailable protein (PC, %CP)              | $\text{ADIP}(\% \text{CP}) \times \text{CP}(\% \text{DM}) / 100$  |

CP: 粗蛋白质 Crude protein; EE: 粗脂肪 Ether extract; Ash: 粗灰分 Crude ash; NDF: 中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber; ADL: 酸性洗涤木质素 Acid detergent lignin; CA1: 挥发性脂肪酸 Volatile fatty acids; CA2: 乳酸 Lactic acid; CA3: 其他有机酸 Other organic acids; CA4: 水溶性碳水化合物 Water soluble carbohydrates; CB1: 淀粉 Starch; NDIP: 中性洗涤不溶蛋白 Neutral detergent insoluble protein; ADIP: 酸性洗涤不溶蛋白 Acid detergent insoluble protein; SP: 可溶性蛋白 Soluble protein. 下同 The same below.

## 1.6 数据统计分析

采用 SAS 9.4 MIXED 程序进行单因素方差分析(One-way ANOVA),以 LSD 法比较各组间差异显著性,差异显著性水平为  $P < 0.05$ ,结果以平均值和标准误表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同菌制剂处理对油菜秸秆发酵品质的影响

与对照组相比,3种不同菌制剂处理组 pH 值均显著降低( $P < 0.05$ );LB 和 LPB 组乳酸含量均升高,并且 LPB 组乳酸含量显著高于其他两个菌制剂处理组( $P < 0.05$ ),各处理组  $\text{NH}_3\text{-N}$  和乙酸含量无显著差异( $P > 0.05$ ),各处理组均未检测到丙酸和丁酸(表 4)。

表 4 不同菌制剂对油菜秸秆发酵品质的影响

Table 4 Effects of different bacterial preparations on the fermentation quality of rape straw ( $n=5$ )

| 项目<br>Items  | 处理 Treatment |       |       |       | 标准误<br>Standard error | P 值<br>P-value |
|--|--------------|-------|-------|-------|-----------------------|----------------|
|  | CON          | LP    | LB    | LPB   |                       |                |
| pH   | 5.56a        | 4.76c | 4.73c | 5.09b | 0.11                  | 0.001          |
| 乳酸 Lactic acid ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )             | 4.13c        | 4.61c | 5.02b | 5.56a | 0.07                  | 0.001          |
| 乙酸 Acetic acid ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )             | 3.93         | 3.86  | 4.11  | 4.51  | 0.35                  | 0.564          |
| 氨态氮 $\text{NH}_3\text{-N}$ ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) | 3.78         | 3.77  | 3.10  | 2.95  | 0.15                  | 0.176          |

同行不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),下同。Different lowercase letters of the same row mean significant difference ( $P < 0.05$ ). The same below.

### 2.2 不同菌制剂处理对油菜秸秆常规营养成分的影响

与对照组相比,各菌制剂处理组 Ash、NDF、ADF 和 CE 含量均降低,其中 LPB 处理组的 NDF、ADF 含量显著低于 LP 和 LB 组( $P < 0.05$ ,表 5)。与对照组相比,各菌制剂处理组的 CP 和有机物含量无显著差异( $P > 0.05$ ),LP 和 LB 组粗脂肪含量均显著升高( $P < 0.05$ ),LB 和 LPB 组可溶性碳水化合物含量均显著升高( $P < 0.05$ ),LP 组的半纤维素含量显著降低( $P < 0.05$ )。

表5 不同菌制剂对油菜秸秆营养成分的影响

Table 5 Effects of different bacterial preparations on the nutrient composition of rape straw ( $n=5$ , %)

| 项目<br>Items                          | 处理 Treatment |       |        |        | 标准误<br>Standard error | P 值<br>P-value |
|--------------------------------------|--------------|-------|--------|--------|-----------------------|----------------|
|                                      | CON          | LP    | LB     | LPB    |                       |                |
| 有机物 Organic matter (OM)              | 86.8         | 87.0  | 87.0   | 86.1   | 0.53                  | 0.642          |
| 粗灰分 Crude ash (Ash)                  | 9.69a        | 8.13c | 7.47d  | 8.47b  | 0.37                  | 0.004          |
| 粗脂肪 Ether extract (EE)               | 1.84c        | 2.77a | 2.53ab | 2.11bc | 0.20                  | 0.023          |
| 粗蛋白质 Crude protein (CP)              | 4.73         | 4.42  | 4.70   | 4.82   | 0.14                  | 0.256          |
| 中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber (NDF) | 72.5a        | 67.7b | 65.8c  | 63.2d  | 0.20                  | 0.001          |
| 酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber (ADF)    | 52.9a        | 49.0b | 46.9c  | 42.6d  | 0.31                  | 0.003          |
| 可溶性碳水化合物 Soluble carbohydrates (WSC) | 1.44b        | 1.48b | 1.60a  | 1.67a  | 0.04                  | 0.021          |
| 半纤维素 Hemicelluloses (HE)             | 19.6b        | 18.7c | 18.9bc | 20.6a  | 0.22                  | 0.001          |
| 纤维素 Cellulose (CE)                   | 43.5a        | 42.4b | 40.5c  | 36.3d  | 0.29                  | 0.004          |

## 2.3 不同菌制剂处理对油菜秸秆 CNCPS 组分碳水化合物的影响

在 CNCPS 组分中,与对照组相比,各处理组的酸性洗涤不溶蛋白含量下降( $P<0.05$ ),LPB 组的酸性洗涤木质素含量降低,LB 和 LPB 组的可溶性蛋白、LP 和 LPB 组的中性洗涤不溶蛋白含量下降( $P<0.05$ ),各组淀粉和非蛋白氮含量无显著差异( $P>0.05$ ,表 6)。

表6 不同菌制剂下油菜秸秆的康奈尔净碳水化合物蛋白质体系组分

Table 6 Effects of different bacterial preparations on the Cornell net carbohydrate and protein system components of rape straw ( $n=5$ )

| 项目<br>Items  | 处理 Treatment |        |        |       | 标准误<br>Standard error | P 值<br>P-value |
|--|--------------|--------|--------|-------|-----------------------|----------------|
|  | CON          | LP     | LB     | LPB   |                       |                |
| 淀粉 Starch (%NSC)   | 0.61         | 0.65   | 0.68   | 0.65  | 0.030                 | 0.342          |
| 酸性洗涤木质素 Acid detergent lignin (ADL, %NDF)                | 9.43ab       | 9.87a  | 9.57a  | 8.94b | 0.190                 | 0.025          |
| 非蛋白氮 None-protein nitrogen (PA1, %CP)                    | 2.19         | 2.00   | 1.80   | 2.01  | 0.002                 | 0.653          |
| 可溶性蛋白 Soluble protein (SP, %CP)                          | 2.71a        | 2.16ab | 1.96b  | 1.88b | 0.001                 | 0.041          |
| 中性洗涤不溶蛋白 Neutral detergent insoluble protein (NDIP, %CP) | 1.99a        | 1.52bc | 1.61ab | 1.19c | 0.001                 | 0.001          |
| 酸性洗涤不溶蛋白 Acid detergent insoluble protein (ADIP, %CP)    | 1.32a        | 0.86b  | 0.97b  | 0.84b | 0.050                 | 0.001          |

在 CNCPS 碳水化合物组分中,与对照组相比,各处理组 CHO 含量无显著差异( $P>0.05$ ,表 7),CB2 含量均显著升高( $P<0.05$ ),CC 和 CB3 含量均降低,其中 LPB 组的 CC 含量低于 LP 和 LB 组( $P<0.05$ )。LB 和 LPB 组的 NSC 含量较对照组均显著升高( $P<0.05$ )。

表7 根据康奈尔净碳水化合物蛋白质体系组分计算的碳水化合物组分含量

Table 7 Carbohydrate content calculated based on Cornell net carbohydrate and protein system components ( $n=5$ )

| 项目<br>Items  | 处理 Treatment |       |       |       | 标准误<br>Standard error | P 值<br>P-value |
|--|--------------|-------|-------|-------|-----------------------|----------------|
|  | CON          | LP    | LB    | LPB   |                       |                |
| 可利用纤维 Available fiber (CB2, %CHO)                  | 2.24d        | 11.9c | 14.0b | 16.2a | 0.68                  | 0.013          |
| 可消化纤维 Digestible fiber (CB3, %CHO)                 | 57.5a        | 53.5b | 52.7b | 51.6c | 0.28                  | 0.001          |
| 不可利用纤维 Unavailable fiber (CC, %CHO)                | 23.5a        | 17.7b | 17.0b | 15.2c | 0.41                  | 0.001          |
| 非结构性碳水化合物 Non-structural carbohydrates (NSC, %CHO) | 11.0c        | 12.7c | 14.8b | 17.0a | 0.67                  | 0.001          |
| 总碳水化合物 Carbohydrates (CHO, %DM)                    | 83.4         | 83.9  | 84.4  | 83.7  | 0.50                  | 0.562          |

CB3(%DM)=NDF(%DM)-CC(%DM).

#### 2.4 不同菌制剂处理对油菜秸秆 CNCPS 组分蛋白质的影响

添加菌制剂后,在 CNCPS 蛋白质组分中,与对照组相比,各处理组 PA2 含量均升高( $P < 0.05$ ),PC 含量降低( $P < 0.05$ ),PB1 和 PB2 含量均无显著差异( $P > 0.05$ ),其中 LPB 组的 PC 含量低于 LP 和 LB 组,LPB 组 PA1 含量显著高于其余各组( $P < 0.05$ ,表 8)。

表 8 根据康奈尔净碳水化合物蛋白质体系组分计算的蛋白质组分含量

Table 8 Protein component content calculated based on Cornell net carbohydrate and protein system components ( $n=5$ , %)

| 项目<br>Items                               | 处理 Treatment |       |       |       | 标准误<br>Standard error | P 值<br>P-value |
|---|--------------|-------|-------|-------|-----------------------|----------------|
|   | CON          | LP    | LB    | LPB   |                       |                |
| 非蛋白氮 Non-protein nitrogen (PA1)           | 27.0b        | 27.5b | 28.8b | 30.9a | 1.35                  | 0.003          |
| 可溶性真蛋白 Soluble true protein (PA2)         | 11.0b        | 25.8a | 26.3a | 25.9a | 1.45                  | 0.001          |
| 快速降解蛋白质 Rapidly degraded protein (PB1)    | 11.20        | 7.41  | 7.41  | 12.24 | 2.68                  | 0.321          |
| 中速降解蛋白质 Moderately degraded protein (PB2) | 15.5         | 11.2  | 13.6  | 14.9  | 2.46                  | 0.614          |
| 不可降解蛋白质 Unavailable protein (PC)          | 26.4a        | 19.5b | 20.7b | 17.9b | 1.14                  | 0.004          |

#### 2.5 不同菌制剂对油菜秸秆体外发酵参数的影响

与对照组相比,各处理组瘤胃液 pH 无显著变化,8 和 16 h 累积产气量均无显著变化( $P > 0.05$ ,表 9);24 和 48 h LP 和 LPB 组的产气量显著升高,36 h 各处理组的产气量均显著升高,72 h LPB 组的产气量显著升高( $P < 0.05$ )。72 h 各组累积产气量从大到小排序为:LPB > LB > LP > CON。与对照组相比,各处理组  $\text{NH}_3\text{-N}$  含量显著降低( $P < 0.05$ );DMD 含量均显著升高,LP 和 LPB 组乙酸和丙酸含量均显著升高,LPB 组丁酸含量显著升高( $P < 0.05$ )。其中,LP、LB 和 LPB 组的 DMD 含量分别提高 9.5%、6.9%、12.7%,LP 和 LPB 组的乙酸含量分别提高 39.1% 和 56.5%,LP 和 LPB 组的丙酸含量分别提高 31.3% 和 54.7%,LPB 组丁酸含量提高 102%。各组微生物蛋白含量无显著差异( $P > 0.05$ )。从体外发酵数据来看,LPB 组的体外发酵效果最佳。

表 9 不同菌制剂对油菜秸秆体外发酵参数的影响

Table 9 Effects of different bacterial preparations on *in vitro* fermentation parameters of rape straw ( $n=5$ )

| 项目<br>Items  | 处理 Treatment |        |         |        | 标准误<br>Standard error | P 值<br>P-value |
|--|--------------|--------|---------|--------|-----------------------|----------------|
|  | CON          | LP     | LB      | LPB    |                       |                |
| 产气量 Gas production (mL)  |              |        |         |        |                       |                |
| 8 h  | 7.4          | 7.5    | 7.6     | 8.1    | 0.61                  | 0.852          |
| 16 h   | 12.1         | 13.5   | 13.6    | 15.7   | 1.09                  | 0.184          |
| 24 h   | 41.8b        | 59.4a  | 48.7b   | 62.4a  | 3.49                  | 0.002          |
| 36 h   | 57.3c        | 77.4ab | 70.9b   | 85.8a  | 3.99                  | 0.001          |
| 48 h   | 72.9c        | 88.3ab | 85.9bc  | 102.5a | 4.74                  | 0.004          |
| 72 h   | 86.5b        | 99.1ab | 102.3ab | 115.1a | 5.54                  | 0.024          |
| 干物质降解率和发酵指标 Dry matter degradation rate and fermentation index |              |        |         |        |                       |                |
| pH   | 6.48         | 6.46   | 6.47    | 6.55   | 0.02                  | 0.072          |
| 干物质降解率 Dry matter degradation rate (DMD, %)                    | 37.9c        | 41.5ab | 40.5b   | 42.7a  | 0.01                  | 0.001          |
| 氨态氮 $\text{NH}_3\text{-N}$ ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) | 16.2a        | 14.0b  | 12.0c   | 13.1bc | 0.62                  | 0.001          |
| 微生物蛋白 Microprotein (MCP, $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )     | 4.45         | 5.14   | 4.89    | 4.69   | 0.17                  | 0.063          |
| 乙酸 Acetate ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )                 | 36.1c        | 50.2ab | 42.6bc  | 56.5a  | 3.33                  | 0.002          |
| 丙酸 Propionate ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )              | 21.4c        | 28.1ab | 25.2bc  | 33.1a  | 1.66                  | 0.011          |
| 丁酸 Butyrate ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )                | 2.56b        | 3.72ab | 3.51b   | 5.19a  | 0.55                  | 0.034          |

### 3 讨论

#### 3.1 不同菌制剂处理对油菜秸秆发酵品质的影响

秸秆发酵的质量一般与饲料中微生物的数量、类型以及WSC的可用性有关<sup>[27]</sup>。乳酸生成量是反映秸秆发酵质量的重要指标,也是影响pH的主要因素。pH是影响发酵品质的重要因素,pH越低,酸度越大,发酵饲料越容易储存。丙酸和丁酸具有刺激性气味,其含量过高会影响适口性,严重降低发酵品质。You等<sup>[28]</sup>研究发现,用植物乳杆菌发酵苜蓿(*Medicago sativa*),其发酵液pH和NH<sub>3</sub>-N含量降低,提高了苜蓿的发酵品质。谢文斌等<sup>[29]</sup>研究发现,用布氏杆菌发酵玉米秸秆,可降低发酵液pH,并提高了发酵液中乳酸和乙酸的含量。黄志鹏<sup>[30]</sup>研究发现,布氏乳杆菌处理全株玉米后,乳酸含量升高,pH降低。王玉荣<sup>[31]</sup>使用布氏杆菌和植物杆菌联合发酵水稻秸秆后,发酵液pH降低,乳酸和乙酸含量升高。关于乳杆菌发酵油菜秸秆的研究内容未见报道,但其在玉米、苜蓿上研究较多。本试验与上述研究结果基本一致。本试验采用植物乳杆菌和布氏乳杆菌发酵油菜秸秆后,乳酸含量上升,pH降低。但不同处理组之间有所差异,植物乳杆菌和布氏乳杆菌联合应用产生的乳酸含量最高。本试验选取不同乳杆菌发酵油菜秸秆均未检测到丙酸和丁酸。乳酸菌的添加加快了发酵进程,产生了更多的乳酸,短期内产生的低酸环境抑制了有害微生物的活动,限制了有害微生物对营养成分的分解。植物乳杆菌单独使用产生的乳酸低于布氏乳杆菌组及联合使用组。不同处理组之间乳酸含量的差异可能与两种不同的乳杆菌在发酵过程中不同功能有关。植物乳杆菌属于同型发酵乳酸菌,在发酵底物为葡萄糖等己糖时发酵产物几乎只有乳酸。布氏乳杆菌属于异型发酵乳酸菌,在发酵过程中可产生乳酸和乙酸,乙酸具有抗真菌作用,可提高青贮饲料有氧稳定性。两种乳酸菌联合使用产生的乳酸、乙酸含量更高可能是两者之间具有协同作用,植物乳杆菌产生的乳酸可降低pH值,抑制有害微生物的生长,布氏乳杆菌促进乳酸向乙酸的转化,因此两种菌联合使用更能抑制有害菌的生长,更有利于改善油菜秸秆的发酵特性。

#### 3.2 不同菌制剂处理对油菜秸秆常规营养成分的影响

大量研究发现,不同来源的秸秆饲料经菌制剂发酵后,均可降低秸秆NDF、ADF和ADL含量,其营养价值能得到明显改善<sup>[13,26,29,32]</sup>。NDF的含量与动物的采食量呈负相关,而ADF不易被动物消化吸收,其含量越低,可消化干物质就越高。WSC含量可在一定程度上反映微生物的生长状况,好氧微生物会将青贮饲料中的WSC分解为二氧化碳和水等,使得营养成分流失。司华哲<sup>[32]</sup>研究发现添加布氏杆菌和植物杆菌发酵苜蓿秸秆,其WSC和EE含量高于对照组;傅彤<sup>[33]</sup>研究发现,植物杆菌和布氏杆菌联合处理玉米秸秆,能降低玉米秸秆NDF、ADF和ADL含量;You等<sup>[28]</sup>研究发现,苜蓿秸秆经植物乳杆菌发酵后,其NDF和ADF含量降低;吕文龙等<sup>[34]</sup>研究发现,添加植物乳杆菌发酵玉米秸秆,提高了DM的含量;陶莲等<sup>[35]</sup>研究显示,玉米秸秆经植物杆菌和布氏杆菌发酵处理后,其NDF、ADF和ADL含量均降低。本研究与上述研究结果相似,本试验中添加乳酸菌后,NDF和ADF含量下降,WSC含量上升,两种菌联合使用NDF和ADF含量最低。添加乳酸菌还降低了油菜秸秆的粗灰分,提高了粗脂肪含量,两菌联用组还提高了半纤维素含量。原因可能是在发酵过程中植物乳杆菌获取能量和维持低pH,减少了有害菌对营养物质的破坏,而布氏乳杆菌增加了发酵产物的稳定性,抑制有害菌的生长,减少了WSC的损失,为反刍动物保留更多可被瘤胃微生物利用的碳水化合物。乳酸菌的添加促进微生物的活动,促进了纤维向单糖或双糖的分解。制约油菜秸秆饲料化应用的主要因素是高NDF、ADF含量,本试验中两种菌联合应用可最大程度降低NDF和ADF含量。综合分析发现植物乳酸杆菌和布氏乳酸杆菌联合使用,NDF、ADF及纤维素含量最低,WSC和半纤维素含量最高。

#### 3.3 不同菌制剂处理对油菜秸秆CNCPS组分的影响

CNCPS体系是一个基于瘤胃功能、微生物生长、动物生理、消化和饲料流动等基本原理的饲料评价模型,对于了解饲料在瘤胃中的真实代谢具有一定的参考意义<sup>[36]</sup>。吕路芳等<sup>[37]</sup>使用CNCPS比较杂交狼尾草(*Pennisetum alopecuroides*)与羊草(*Leymus chinensis*)、玉米秸秆之间的营养成分差异,李菲菲<sup>[38]</sup>使用CNCPS比较不同茬次、刈割期对苜蓿青贮发酵的影响。在蛋白质组分中,PA1属于NPN部分,能快速被瘤胃降解,不能到达小肠,PB1是快速降解的真蛋白,在瘤胃中基本被降解;PB2为中速降解的真蛋白,分为两部分,一部分在瘤胃被发酵,另一部

分进入后肠道为动物提供过瘤胃蛋白。非降解蛋白质PC部分属于反刍动物瘤胃中不能被降解、利用的结合蛋白,其后肠道也不能被利用,当粗饲料中ADL含量过高时,会导致PC与木质素紧密结合,不能被动物所利用。在本试验中,油菜秸秆经植物杆菌、布氏杆菌发酵后,PC含量降低,两菌联用组ADL含量降低,表明油菜秸秆经菌制剂发酵处理后木质素被降解,结合蛋白及其所处的结构同样也被降解,从而提高油菜秸秆的利用率,且两种菌的复合效果更佳。综上,在蛋白质组分的变化上,LPB组发酵后的油菜秸秆的蛋白质营养特性略高于单一添加LB和LP组。碳水化合物是反刍动物的主要能量来源,本试验中总碳水化合物含量均在83%以上,这与兰贵生等<sup>[39]</sup>的研究结果相似。CNCPS碳水化合物中有些组分不能被瘤胃微生物消化,无法为反刍动物提供能量,如不可利用纤维(CC)。本试验中,经不同组合菌制剂处理后,各处理组CB2均高于对照组,非结构性碳水化合物也升高,各处理组CC含量均降低。CB1在瘤胃中属于中速降解部分,其在油菜秸秆中并未检测到。这与兰贵生等<sup>[39]</sup>、游济豪<sup>[40]</sup>用CNCPS体系评价油菜秸秆的研究结果相似,表明添加菌制剂发酵油菜秸秆能提高其碳水化合物的利用率,且LPB组使用效果最好。

#### 3.4 不同菌制剂对油菜秸秆体外发酵参数的影响

瘤胃发酵参数能全面反映瘤胃内发酵条件和环境变化,维持正常瘤胃生理机能的反刍动物pH值为6.0~7.0<sup>[41]</sup>。在本研究中,油菜秸秆经不同菌制剂厌氧发酵后,瘤胃液pH无显著变化,均属于正常范围内(6.46~6.55)。粗饲料经体外发酵后产生的气体主要来源于饲料中的碳水化合物,其次是蛋白质<sup>[42]</sup>。陈亮等<sup>[43]</sup>研究显示,玉米秸秆经植物乳杆菌处理后,提高了产气速率和累积产气量;张玉琳等<sup>[44]</sup>研究也发现全株杂交构树(*Broussonetia papyrifera*)经植物杆菌发酵后能提高累积产气量。与上述研究结果相似,本试验中,在发酵16 h后,两种乳杆菌处理组均可提高产气量,联合使用组产气量最高,这是因为加入菌制剂后,植物乳杆菌和布氏乳杆菌通过分解原料干物质,增加了对干物质的利用率并提高产气量,且联合菌制剂处理组产气量更高可能是因为两种菌存在互补效应,保证发酵条件稳定性,减少有害菌对原料的破坏,从而提高产气量。产气量与干物质降解率成正比关系,如张群英等<sup>[45]</sup>研究发现牧草经体外发酵后,随着产气量升高,DMD也随之升高。在本试验中,油菜秸秆经体外发酵72 h后,各处理组发酵液VFA和DMD含量均升高,且复合菌组的效果优于单一菌组,可能是植物乳杆菌和布氏杆菌复合添加后对油菜秸秆细胞壁结构的破坏作用加强,提高了瘤胃微生物对DM的降解能力。此外,本研究发现添加乳杆菌发酵油菜秸秆后,NH<sub>3</sub>-N含量降低,同时MCP含量升高,与Zhang等<sup>[46]</sup>的研究结果部分一致,可能是由于乳杆菌促进了牦牛瘤胃微生物对秸秆纤维的消化,产生VFA,为MCP的合成提供能量,从而促进了氨氮的分解和MCP的合成。

## 4 结论

本试验结果表明,添加植物杆菌和布氏杆菌均能降低油菜秸秆NDF、ADF,降低不可降解蛋白、不可利用纤维的含量,提高体外产气量、DMD和MCP含量,两种乳酸菌联用可降低ADL含量,从而提高油菜秸秆的发酵品质,两者联合添加的效果优于单一菌种。

## 参考文献 References:

- [1] Xu T W, Zhao X Q, Zhang X L, *et al.* Sustainable development of ecological grass-based livestock husbandry in Qinghai-Tibet Plateau alpine area: principle, technology and practice. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(18): 6324-6337.  
徐田伟, 赵新全, 张晓玲, 等. 青藏高原高寒地区生态草牧业可持续发展: 原理、技术与实践. *生态学报*, 2020, 40(18): 6324-6337.
- [2] Gan J, Wang W, Fang D H, *et al.* Analysis of the current situation of development and utilization of cattle roughage resources in agricultural areas of Sichuan. *Sichuan Animal and Veterinary Sciences*, 2021, 48(3): 43.  
甘佳, 王巍, 方东辉, 等. 四川农区牛粗饲料资源开发利用现状分析. *四川畜牧兽医*, 2021, 48(3): 43.
- [3] Wang L, Wang Y J, Gao C Y, *et al.* Estimation and utilization of rape straw resources in China//Institute of Agricultural Resources and Regional Planning. *Proceedings of the 2015 Annual Conference of the Chinese Society of Agricultural Resources and Regional Planning*. Xining: Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, 2015: 458-466.

- 王磊, 王亚静, 高春雨, 等. 中国油菜秸秆资源量估算及其资源化利用//中国农业资源与区划学会. 2015年中国农业资源与区划学会学术年会论文集. 西宁: 中国农业资源与区划学会, 2015: 458—466.
- [4] Dong C X, Lv J Y, Zhang Z A, *et al.* Effects of four different dietary roughages on feed apparent dry matter digestibility, animal body weight gain, and rumen bacterial populations, when finishing Hu lambs. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(4): 106—115.  
董春晓, 吕佳颖, 张智安, 等. 饲料来源对育肥湖羊生产性能、养分消化及瘤胃微生物组成的影响. *草业学报*, 2019, 28(4): 106—115.
- [5] Ma Y, Chen X, Zahoor K M, *et al.* The impact of ammoniation treatment on the chemical composition and *in vitro* digestibility of rice straw in Chinese holsteins. *Animals*, 2020, 10(10): 1854.
- [6] Zhou C. Optimization of fermentation conditions in rape straw and its effects on growth performances and rumen fermentation in goats. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2019.  
周闯. 油菜秸秆发酵条件优化及对山羊生长性能、瘤胃发酵的影响. 南京: 南京农业大学, 2019.
- [7] Xu L J, Wang L, Liu M Z, *et al.* Effects of different micro-storage preparation treatments of rapeseed straw on production performance and nutrient digestibility of beef cattle. *Grain Oil and Feed Technology*, 2017(1): 1—3.  
许兰娇, 王亮, 刘明珠, 等. 不同微贮制剂处理油菜秸秆对肉牛生产性能及养分消化率影响. *江西饲料*, 2017(1): 1—3.
- [8] Leonowicz A, Matuszewska A, Luterek J, *et al.* Biodegradation of lignin by white rot fungi. *Fungal Genetics and Biology*, 1999, 27(2/3): 175—185.
- [9] Ni K, Zhao J, Zhu B, *et al.* Assessing the fermentation quality and microbial community of the mixed silage of forage soybean with crop corn or sorghum. *Bioresource Technology*, 2018, 265: 563—567.
- [10] Jin L, Duniere L, Lynch J P, *et al.* Impact of ferulic acid esterase producing lactobacilli and fibrolytic enzymes on conservation characteristics, aerobic stability and fiber degradability of barley silage. *Animal Feed Science and Technology*, 2015, 207: 62—74.
- [11] Xie X X, Du H F, Chen S Q, *et al.* Application and outlook of exogenous enzymes in ruminants. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, 28(4): 1011—1019.  
解祥学, 杜红方, 陈书琴, 等. 外源酶制剂在反刍动物上的应用与展望. *动物营养学报*, 2016, 28(4): 1011—1019.
- [12] Wang Y R, Tao L, Xu G S, *et al.* The microstructure of straw lignocellulose and its decomposition method. *China Feed*, 2016(12): 38—41.  
王玉荣, 陶莲, 许贵善, 等. 秸秆木质纤维素微观结构及其裂解方法. *中国饲料*, 2016(12): 38—41.
- [13] Xie Q X, Xin G Q, Gu W, *et al.* Effect of fermentation with bacterial enzyme compound preparation on nutritional quality of wheat straw. *Guangdong Feed*, 2021, 30(12): 28—30.  
谢全喜, 辛国芹, 谷巍, 等. 菌酶复合制剂发酵对小麦秸秆营养品质的影响. *广东饲料*, 2021, 30(12): 28—30.
- [14] Menke K H, Raab L, Salewski A. 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*. *The Journal of Agricultural Science*, 1979, 93(1): 217—222.
- [15] Tan L, Li Y L, Gao X Z, *et al.* Determination of anthocyanidins in different plant origin foods by improved pH differential method. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(21): 276—285.  
谭亮, 李玉林, 杲秀珍, 等. 改进pH示差法检测不同植物源性食品中花青素的方法. *食品与发酵工业*, 2022, 48(21): 276—285.
- [16] 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.
- [17] Yang S, Xu L, Liu H M, *et al.* Determination of protein and water soluble sugar content in potato. *Farm Products Processing*, 2022(9): 70—72, 78.  
杨森, 徐莲, 刘洪明, 等. 马铃薯蛋白质和水溶性糖含量测定. *农产品加工*, 2022(9): 70—72, 78.
- [18] Xu Q F, Zhou H, Yu Z, *et al.* The effect of different storage time and dilution previous fermented juice on bagged alfalfa silage. *Acta Agrestia Sinica*, 2006(2): 129—133.  
许庆方, 周禾, 玉柱, 等. 贮藏期和添加绿汁发酵液对袋装苜蓿青贮的影响. *草地学报*, 2006(2): 129—133.
- [19] Liang Q, Lu M B, Lu Z D, *et al.* Determination of lactic acid in fermentation broth by p-hydroxybiphenol colorimetry. *Food Science*, 2008(6): 357—360.  
梁琼, 鲁明波, 卢正东, 等. 对羟基联苯法定量测定发酵液中的乳酸. *食品科学*, 2008(6): 357—360.

- [20] Zhang L Y. Feed analysis and quality test technology (The 4th edition). Beijing: China Agricultural University Press, 2016.  
张丽英. 饲料分析及饲料质量检测技术(第4版). 北京: 中国农业大学出版社, 2016.
- [21] 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.
- [22] Sniffen C J, O'connor J D, Soest P, *et al.* A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, 1992, 70(11): 3562–3577.
- [23] Krishnamoorthy U, Sniffen C J, Stern M D, *et al.* Evaluation of a mathematical model of rumen digestion and an *in vitro* simulation of rumen proteolysis to estimate the rumen-undegraded nitrogen content of feedstuffs. *British Journal of Nutrition*, 1983, 50(3): 555–568.
- [24] Tang S X, Jiang H L, Zhou C S, *et al.* Effects of different forage species on *in vitro* gas production characteristics. *Acta Prataculturae Sinica*, 2005(3): 72–77.  
汤少勋, 姜海林, 周传社, 等. 不同牧草品种对体外发酵产气特性的影响. 草业学报, 2005(3): 72–77.
- [25] Su H Y. Study on associative effects between mulberry leaves (*Morus alba*) and oil-seed meals in ruminants. Hangzhou: Zhejiang University, 2002.  
苏海涯. 反刍动物日粮中桑叶与饼粕类饲料间组合效应的研究. 杭州: 浙江大学, 2002.
- [26] Zhou X, Huang Q L, Wang J, *et al.* Effects of adding lactic acid bacteria and molasses on fermentation quality and *in vitro* dry matter disappearance rate of *Rumex hanus* by silage with different moisture contents. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(3): 1594–1606.  
周昕, 黄秋连, 王健, 等. 添加乳酸菌剂和糖蜜对不同含水量食叶草青贮发酵品质及体外干物质消失率的影响. 动物营养学报, 2021, 33(3): 1594–1606.
- [27] Nascimento A M C, Gomes Pereira O, Paula R A D, *et al.* Novel lactic acid bacteria strains as inoculants on alfalfa silage fermentation. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 8007.
- [28] You L J, Bao W C, Yao C Q, *et al.* Changes in chemical composition, structural and functional microbiome during alfalfa (*Medicago sativa*) ensilage with *Lactobacillus plantarum* PS-8. *Animal Nutrition*, 2022, 9: 100–109.
- [29] Xie W B, Chen J J, Tian B, *et al.* Effect of *Lactobacillus buchneri* on quality and *in vitro* digestibility of corn straw silage. *Feed Research*, 2022, 45(21): 122–126.  
谢文斌, 陈娟娟, 田斌, 等. 布氏乳杆菌对玉米秸秆青贮品质和体外消化率的影响. 饲料研究, 2022, 45(21): 122–126.
- [30] Huang Z P. Effects of feeding whole-plant corn silage inoculated with *Lactobacillus plantarum* or *Lactobacillus buchneri* on growth performance and rumen microflora of lambs. Lanzhou: Lanzhou University, 2020.  
黄志鹏. 饲喂添加植物乳杆菌和布氏乳杆菌的全株玉米青贮对羔羊生长性能及瘤胃菌群的影响. 兰州: 兰州大学, 2020.
- [31] Wang Y R. Effects of different microbial ecological preparations on microstructure and *in-situ* ruminal degradability of rice straw. Alaer: Tarim University, 2017.  
王玉荣. 不同微生态制剂对稻秸分子结构及瘤胃降解特性的影响. 阿拉尔: 塔里木大学, 2017.
- [32] Si H Z. Effect of different lactic acid bacteria on fermentation characteristics and bacteria diversity of alfalfa silage. Changchun: Jilin Agricultural University, 2016.  
司华哲. 不同乳酸菌对紫花苜蓿青贮发酵品质及菌群动态变化的影响研究. 长春: 吉林农业大学, 2016.
- [33] Fu T. The effects of microbial inoculants on the fermentation process and quality of corn silage. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2005.  
傅彤. 微生物接种剂对玉米青贮饲料发酵进程及其品质的影响. 北京: 中国农业科学院, 2005.
- [34] Lv W L, Diao Q Y, Yan G L, *et al.* Effect of *Lactobacillus buchneri* on the quality and aerobic stability of green corn-stalk silages. *Acta Prataculturae Sinica*, 2011, 20(3): 143–148.  
吕文龙, 刁其玉, 闫贵龙, 等. 布氏乳杆菌对青玉米秸青贮发酵品质和有氧稳定性的影响. 草业学报, 2011, 20(3): 143–148.
- [35] Tao L, Feng W X, Wang Y R, *et al.* Effects of microecological agents on fermentation quality, nutrition composition and *in situ* ruminal degradability of corn stalk silage. *Acta Prataculturae Sinica*, 2016, 25(9): 152–160.  
陶莲, 冯文晓, 王玉荣, 等. 微生态制剂对玉米秸秆青贮发酵品质、营养成分及瘤胃降解率的影响. 草业学报, 2016, 25(9): 152–160.
- [36] Russell J B, O'connor J D, Fox D G, *et al.* A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. *Journal of Animal Science*, 1992, 70(11): 3551–3561.

- [37] Lv L F, Jiang N, Pan C Y, *et al.* Evaluation of CNCPS and GI characteristics of *Hybrid pennisetum*, *Leymus chinensis* and corn straw. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary*, 2019, 586(22): 109–113.  
吕路芳, 姜宁, 潘春媛, 等. 杂交狼尾草与羊草、玉米秸秆 CNCPS 和 GI 特性评价. *黑龙江畜牧兽医*, 2019, 586(22): 109–113.
- [38] Li F F. Study on CNCPS protein composition and feeding value of hay and silage in different haze/probiotic period. Shihezi: Shihezi University, 2019.  
李菲菲. 不同茬次、刈割期对苜蓿干草/青贮 CNCPS 蛋白组分和品质的影响. 石河子: 石河子大学, 2019.
- [39] Lan G S, Wang F B, Zhang Z A, *et al.* Using Cornell net carbohydrate-protein system and cluster analysis technique to evaluate the nutritional value of rape straw. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(4): 1877–1886.  
兰贵生, 王芳彬, 张智安, 等. 利用康奈尔净碳水化合物-蛋白质体系与聚类分析技术评价油菜秸秆营养价值. *动物营养学报*, 2019, 31(4): 1877–1886.
- [40] You J H. Research on evaluation of efficiency of stalks degraded by white rot fungi with CNCPS. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2013.  
游济豪. 利用 CNCPS 法评估白腐真菌降解秸秆效率的研究. 南京: 南京农业大学, 2013.
- [41] Cotta M A, Russell J B. Effect of peptides and amino acids on efficiency of rumen bacterial protein synthesis in continuous culture. *Journal of Dairy Science*, 1982, 65(2): 226–234.
- [42] Zhou C S, Tang S X, Jiang H L, *et al.* *In vitro* fermentation characteristics of crop straws and their combined utilization. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(10): 1862–1867.  
周传社, 汤少勋, 姜海林, 等. 农作物秸秆体外发酵营养特性及其组合利用研究. *应用生态学报*, 2005, 16(10): 1862–1867.
- [43] Chen L, Ren A, Li B, *et al.* Effect of *Lactobacillus plantarum* on *in vitro* rumen fermentation characteristics of maize straw and rice straw. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(2): 678–689.  
陈亮, 任傲, 李斌, 等. 植物乳杆菌对玉米秸秆和水稻秸秆体外发酵特性的影响. *动物营养学报*, 2017, 29(2): 678–689.
- [44] Zhang Y L, Yang Z Y, Li C C, *et al.* Effect of *Lactobacillus plantarum* on fermentation quality, aerobic stability and rumen *in vitro* gas production characteristics of whole-plant hybrid *Broussonetia papyrifera* silage. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(11): 6320–6329.  
张玉琳, 杨泽毅, 李超程, 等. 植物乳杆菌对全株杂交构树青贮品质、有氧稳定性及瘤胃体外产气特性的影响. *动物营养学报*, 2021, 33(11): 6320–6329.
- [45] Zhang Q Y, Li J, Hao L Z, *et al.* Evaluation of forage nutritional value of alpine meadow grassland in different phenological periods in Zeku county of Qinghai province by *in vitro* method. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(3): 1415–1423.  
张群英, 李捷, 郝力壮, 等. 体外法评价青海省泽库县高寒草甸草场不同物候期牧草的营养价值. *动物营养学报*, 2020, 32(3): 1415–1423.
- [46] Zhang W, Pan K, Liu C, *et al.* Recombinant *Lentinula edodes* xylanase improved the hydrolysis and *in vitro* ruminal fermentation of soybean straw by changing its fiber structure. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 151: 286–292.