

DOI: 10.11686/cyxb2025007

http://cyxb.magtech.com.cn

韦竣玲, 刘晓琪, 王宛青, 等. 玉米秸秆与毛豆茎叶混合比例对青贮发酵品质和微生物群落的影响. 草业学报, 2025, 34(12): 111-120.

WEI Jun-ling, LIU Xiao-qi, WANG Wan-qing, et al. Effect of the mix-ratio of corn stalk and edamame stems/leaves and added cellulase on the fermentation quality and microbial community of silage. Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(12): 111-120.

玉米秸秆与毛豆茎叶混合比例对青贮发酵品质和微生物群落的影响

韦竣玲^{**}, 刘晓琪^{**}, 王宛青, 邓铭, 孙宝丽, 郭勇庆^{*}

(华南农业大学动物科学学院, 广东广州 510642)

摘要: 为了研究不同比例玉米秸秆与毛豆茎叶混贮及添加纤维素酶对青贮品质和微生物多样性的影响, 本试验以玉米秸秆和毛豆茎叶为原料, 按照鲜重质量比 1:0、3:1、1:1 (分别用 10、31、11 表示) 混合青贮, 各混合比例设空白对照组 (CS) 和纤维素酶组 [CS(c), 添加量为 0.1%], 青贮 80 d 后进行感官评定, 分析其营养成分、发酵品质和微生物多样性。结果表明, 玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮比例为 3:1 时的感官评价优于其余两个比例。随着毛豆茎叶比例的增加, 混合青贮的 pH、氨态氮 (NH₃-N) 及粗蛋白 (CP) 含量显著升高 ($P < 0.05$), 而水溶性碳水化合物 (WSC)、中性洗涤纤维 (NDF)、酸性洗涤纤维 (ADF) 含量显著降低 ($P < 0.05$), 乳酸 (LA) 含量呈先升高后下降趋势。当混合青贮比例为 3:1 时, 乳酸含量最高。在相同混合比例条件下, 添加纤维素酶对青贮的发酵参数无显著影响 ($P > 0.05$), 但有降低 ADF 含量的趋势 ($P = 0.07$)。此外, 毛豆茎叶增加了混合青贮厚壁菌门和乳杆菌属的相对丰度, 减少了变形菌门的相对丰度。玉米秸秆和毛豆茎叶按 3:1 混合青贮品质优于其他比例, 添加纤维素酶可以改善混合青贮的发酵品质。

关键词: 玉米秸秆; 毛豆茎叶; 纤维素酶; 混合青贮; 发酵品质

Effect of the mix-ratio of corn stalk and edamame stems/leaves and added cellulase on the fermentation quality and microbial community of silage

WEI Jun-ling^{**}, LIU Xiao-qi^{**}, WANG Wan-qing, DENG Ming, SUN Bao-li, GUO Yong-qing^{*}

College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Abstract: The effects of cellulase on silage quality and microbial diversity of corn (*Zea mays*) stalk and edamame (*Glycine max*) stems and leaves were investigated. The ratios of corn stalk and edamame stems and leaves by weight were 1:0, 3:1, and 1:1 (10, 31, 11). Each mixture ratio was divided into a control group (CS) and a cellulase group [CS(c), adding 0.1%]. The nutrient composition, fermentation quality and microbial diversity of silage was evaluated after 80 days. It was found that the 3:1 mix-ratio of corn stalk and edamame stems and leaves resulted in better silage quality than the other two mix-ratios. As the proportion of edamame stems and leaves increased, the pH, ammonia nitrogen content, and crude protein content of the mixed silage significantly increased ($P < 0.05$), while the water-soluble carbohydrate, neutral detergent fiber and acid detergent fiber (ADF) were

收稿日期: 2025-01-08; 改回日期: 2025-03-10

基金项目: 广东省现代农业产业技术体系南方现代草牧业(羊)产业创新团队-饲料资源开发与利用岗位专家项目(2023KI127)和奶牛生产性能测定能力及高效服务体系提升项目(h20230549)资助。

作者简介: 韦竣玲(2001-), 女, 贵州黔南人, 在读硕士。E-mail: 602498917@qq.com。刘晓琪(2001-), 女, 江西赣州人, 在读硕士。E-mail: lxqscu0101@163.com。 **共同第一作者 These authors contributed equally to this work.

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: yongqing@scau.edu.cn

significantly decreased ($P < 0.05$). The lactic acid content was higher for CS31 than for CS10 or CS11. The addition of cellulase had no significant effect on the fermentation parameters of silage at a given mix-ratio ($P > 0.05$), but tended to reduce the ADF content ($P = 0.07$). Furthermore, the addition of edamame stems and leaves increased the relative abundance of Firmicutes and *Lactobacillus* while reducing the relative abundance of Proteobacteria in the mixed silage. In conclusion, the mixed silage CS31, with a 3:1 of corn stalk to edamame stems and leaves exhibited superior quality compared to other ratios, and the addition of cellulase improved the fermentation quality of the mixed silage.

Key words: corn stalk; edamame stems and leaves; cellulase; mixed silage; fermentation quality

随着养殖业的快速发展,饲料成本增加和饲料资源短缺的问题日益突出,严重阻碍了我国畜牧业的发展。因此,合理开发和利用非常规饲料资源是减少动物养殖成本和推动畜牧业发展的有效举措之一。玉米(*Zea mays*)秸秆作为我国农作物副产物之一,产量大,尤其是华南地区。但大部分的玉米秸秆未得到合理的利用,造成资源的浪费。玉米秸秆的营养价值丰富,但在枯萎和成熟过程中会迅速下降^[1]。因此,将玉米秸秆青贮不仅能减少储存过程中的营养损失,还能缓解饲料资源短缺的问题。由于玉米秸秆的水分和粗纤维含量较高,粗蛋白含量较低,单独青贮容易造成干物质损失^[2]。

毛豆(*Glycine max*)茎叶作为一种天然的优质饲料资源,与玉米秸秆相比,其纤维含量较低,适口性较好,营养价值高,尤其是粗蛋白含量在12.5%左右^[3]。但毛豆具有高缓冲能力和低可溶性碳水化合物等特点,单独青贮容易导致丁酸含量过高,进而发酵失败^[4]。而混合青贮有助于原料间养分互补,能有效提高青贮品质。张霞等^[5]研究发现,将甜叶菊(*Folium steviae*)秆和玉米秸秆按不同比例混合青贮显著提高了青贮的干物质、粗蛋白和乳酸含量,其中,当玉米秸秆和甜叶菊秆混合比例为9:1时发酵品质最好。

添加剂能有效改善青贮的发酵特性和营养价值^[6]。研究发现,添加纤维素酶能促进象草(*Pennisetum purpureum*)青贮饲料中乳酸的发酵,降低pH和氨态氮含量^[7]。因此,本试验研究了不同比例玉米秸秆与毛豆茎叶混贮及添加纤维素酶对青贮发酵品质和微生物多样性的影响,以期筛选出最佳的混合青贮比例,探究纤维素酶的作用效果,为玉米秸秆和毛豆茎叶的开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验原料

玉米秸秆和毛豆茎叶于2023年收获于广东省湛江市豆邦农业科技有限公司种植基地。其中玉米秸秆为甜玉米籽实乳熟期收获除去果穗的秸秆,留茬高度为20 cm;毛豆茎叶为刈割的鲜食毛豆经机器摘除毛豆后的茎叶部分,留茬高度为15 cm。收获后立即运往实验室用铡草机切成1~2 cm。纤维素酶(酶活性为43万U·g⁻¹FW)由广东溢多利生物科技股份有限公司提供。

1.2 试验设计

采用单因素试验设计,将玉米秸秆与毛豆茎叶以鲜重质量比1:0、3:1、1:1进行混合;各混合比例设置无添加剂组(CS)、纤维素酶组[CS(c),纤维素酶添加量为0.1%],共6个处理,每个处理3个重复。

1.3 青贮调制

将切碎的原料按照设计比例进行混合,将添加剂溶解至20 mL蒸馏水中,使用小型喷壶均匀喷洒到混合青贮原料上,对照组喷洒等量的蒸馏水,将各组处理好的混合青贮料放入20 cm×30 cm的聚乙烯袋中,每袋300 g,真空封口后于室温(25℃)条件下避光、干燥保存,青贮80 d后取样分析。

1.4 样品分析

1.4.1 感官评定分析 根据德国农业协会(Deutsche Landwirtschafts Gesellschaft, DLG)对青贮感官的评价方法及等级标准,分别从气味、结构和色泽3个方面对玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮进行感官评价。综合得分等级为:16~20分为1级(优良);10~15分为2级(尚好);5~9分为3级(中等);0~4分为4级(腐败)。

1.4.2 发酵品质分析 取5 g样品于50 mL离心管中并加入45 mL蒸馏水稀释,随后放入4 °C冰箱冷冻24 h。用4层纱布和滤纸过滤,测定滤液的pH、氨态氮(ammonia nitrogen, NH₃-N)和挥发性脂肪酸(volatile fatty acid, VFA)的含量。采用pH计(Germany sartorius PB-10,德国)测定pH;采用苯酚一次氯酸钠比色法测定NH₃-N含量^[8];采用高效气相色谱仪(安捷伦 7890B,美国)测定饲料样品中的VFA含量^[9];采用对羟基联苯比色法测定乳酸(lactic acid, LA)含量^[10]。

1.4.3 化学成分分析 取出青贮样品放入65 °C烘箱中烘48 h,然后放入105 °C烘箱中烘2 h后取出,冷却至室温后称重,计算干物质(dry matter, DM)含量。之后将烘干的饲料原料及混贮饲料样品用粉碎机粉碎后过0.45 mm筛,存放于密封袋中。用凯氏定氮仪(Hanon K9840,济南海能仪器股份有限公司)测定粗蛋白质(crude protein, CP)含量;用Van Soest等^[11]的方法测定中性洗涤纤维(neutral detergent fiber, NDF)和酸性洗涤纤维(acid detergent fiber, ADF)含量;采用蒽酮法^[12]测定水溶性碳水化合物(water soluble carbohydrates, WSC)含量。

1.4.4 微生物多样性分析 取5 g混合青贮样品,采用HiPure Stool DNA试剂盒用引物341F(CCTACGGGNGGCWGCAG)与806R(GGACTACHVGGGTATCTAAT)扩增核糖体RNA基因16S rDNA的V3-V4区^[13]。扩增子从2%琼脂糖凝胶中提取,使用AxyPrep DNA凝胶提取试剂盒纯化,并使用QuantiFluor-ST进行定量,所有纯化的扩增子在Illumina PE 250平台上进行测序。

1.5 统计分析

采用IBM SPSS Statistics 26分析混合比例和纤维素酶对玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮化学成分及发酵品质的影响,结果采用单因素方差分析和Duncan法多重比较检验。在 $P < 0.05$ 水平上具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 青贮原料的化学成分

玉米秸秆的DM、WSC、CP含量分别为17.52%、13.53%、11.05%,毛豆茎叶分别为20.95%、2.79%、21.10%(表1)。玉米秸秆的DM、CP含量低于毛豆茎叶,WSC含量高于毛豆茎叶。

2.2 玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮感官评定

各组混合青贮料密封80 d后开包,品质良好,均无霉变现象。不同比例的玉米秸秆与毛豆茎叶混合青贮后,感官评分均为16~20分(表2)。其中混合青贮以3:1评分最高,为20分,评定等级为1级(优良)。各组混合青贮感官评分随着毛豆茎叶比例的增加而降低,添加纤维素酶组的感官评分和对照组一致。

2.3 玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮的营养成分

不同青贮混合比例对玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮的营养成分有显著影响($P < 0.05$),其中,DM和CP含量随着毛豆茎叶比例的增加逐渐升高(表3, $P < 0.05$),WSC、NDF、ADF含量随着毛豆茎叶比例的增加逐渐降低($P < 0.05$);在相同混合比例条件下,添加纤维素酶未对混合青贮的DM、CP和NDF含量有显著影响($P > 0.05$),但ADF含量有下降趋势($P = 0.07$);添加纤维素酶与不同青贮混合比例的交互作用对混合青贮的营养成分无显著影响($P > 0.05$)。

2.4 玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮的发酵参数

不同青贮混合比例对玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮的pH、NH₃-N和乙酸(acetic acid, AA)含量有显著影响(表4, $P < 0.05$),其中,CS11和CS11(c)组的pH、NH₃-N含量均显著高于其他处理($P < 0.05$),AA含量显著高于

表1 玉米秸秆和毛豆茎叶的化学成分

Table 1 Chemical composition of corn stalk and edamame stems/leaves

化学成分 Chemical composition	玉米秸秆 Corn stalk	毛豆茎叶 Edamame stem and leave
干物质 Dry matter (DM, %)	17.52	20.95
粗蛋白质 Crude protein (%DM)	11.05	21.10
中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber (%DM)	66.07	53.79
酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber (%DM)	34.40	29.30
可溶性碳水化合物 Water soluble carbohydrates (%DM)	13.53	2.79

CS10 和 CS10(c) 组 ($P < 0.05$); LA 含量未受到混合比例显著影响 ($P > 0.05$), 但是在混合比例为 3:1 的无添加剂处理下, LA 含量最高; 在相同混合比例条件下, 添加纤维素酶未对混合青贮的发酵参数有显著影响 ($P > 0.05$); 添加纤维素酶与不同青贮混合比例的交互作用对混合青贮的发酵参数无显著影响 ($P > 0.05$)。此外, 混合青贮中未检测出丙酸 (propionic acid, PA) 和丁酸 (butyric acid, BA) 含量。

2.5 玉米秸秆与毛豆茎叶混合青贮的细菌群落

2.5.1 不同比例玉米秸秆与毛豆茎叶混合青贮对细菌群落 α 多样性的影响

所有青贮处理的测序覆盖率都大于 0.99, 表明样本数据的测序结果可以代表大部分的细菌群落。不同青贮混合比例对玉

表 2 玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮饲料感官评定

Table 2 Sensory evaluation of mixed silage of corn stalk and edamame stems/leaves

项目 Item	处理 Treatment						P 值 P value		
	CS10	CS31	CS11	CS10(c)	CS31(c)	CS11(c)	R	T	R×T
气味 Odour	14	14	12	14	14	12	0.000	0.39	0.443
结构 Structure	4	4	3	4	4	3	0.000	0.67	0.686
色泽 Colour	1	2	1	1	2	1	0.000	0.21	0.941
总分 Total	19	20	16	19	20	16	0.000	0.25	0.853
等级 Grade	1	1	1	1	1	1	0.000	0.07	0.563

CS: 不加添加剂的玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮 Mixed silage of corn stalk and edamame stems and leaves without additives; CS(c): 添加纤维素酶的玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮 Mixed silage of corn stalk and edamame stems and leaves with cellulase; 10, 31, 11: 玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮比例分别为 1:0, 3:1, 1:1 The ratio of corn stalk and edamame stems and leaves mixed silage is 1:0, 3:1, 1:1, respectively; 下同 The same below.

表 3 玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮的化学成分

Table 3 Chemical composition of mixed silage of corn stalk and edamame stems/leaves

项目 Item	处理 Treatment						P 值 P value		
	CS10	CS31	CS11	CS10(c)	CS31(c)	CS11(c)	R	T	R×T
干物质 Dry matter (DM, %)	17.02±0.13b	17.34±0.17b	17.76±0.18a	17.09±0.07b	17.27±0.08b	18.08±0.21a	0.000	0.39	0.443
粗蛋白质 Crude protein (%DM)	11.61±1.24c	14.11±0.27b	17.63±0.25a	10.70±0.19c	14.26±0.23b	17.67±0.80a	0.000	0.67	0.686
可溶性碳水化合物 WSC (%DM)	1.28±0.08a	0.62±0.06b	0.35±0.01c	1.16±0.11a	0.56±0.07b	0.27±0.03c	0.000	0.21	0.941
中性洗涤纤维 NDF (%DM)	66.16±0.28a	58.73±0.48b	55.60±0.75c	64.96±0.11a	58.23±0.46b	55.14±1.32c	0.000	0.25	0.853
酸性洗涤纤维 ADF (%DM)	38.45±0.06a	34.78±0.25b	33.53±0.48c	36.93±0.32a	34.42±0.36b	32.84±0.95c	0.000	0.07	0.563

WSC: Water soluble carbohydrates; NDF: Neutral detergent fiber; ADF: Acid detergent fiber; R: 比例 Ratio; T: 处理 Additives; R×T: 比例×处理 Ratio×additives; 同行不同小写字母表示相同处理不同比例间差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示相同比例不同处理间差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercase letters in the same row indicate significant difference among different ratios for the same treatment ($P < 0.05$), different capital letters indicate significant differences between different treatments at the same ratio ($P < 0.05$); 下同 The same below.

米秸秆和毛豆茎叶混合青贮的 Shannon 和 Simpson 指数呈先降低后升高的趋势 (表 5, $P < 0.05$), 其中, CS31 和 CS11 组的 Shannon 指数显著低于 CS10 组 ($P < 0.05$); 在相同混合比例条件下, 添加纤维素酶显著降低了混合青贮的 Ace 和 Chao1 指数 ($P < 0.05$); 添加纤维素酶与不同青贮混合比例的交互作用对混合青贮的营养成分无显著影响 ($P > 0.05$)。

表 4 玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮的发酵参数

Table 4 Fermentation parameters of mixed silage of corn stalk and edamame stems/leaves

项目 Item	处理 Treatment						P 值 P value		
	CS10	CS31	CS11	CS10(c)	CS31(c)	CS11(c)	R	T	R×T
pH	3.63±0.00c	3.77±0.01b	4.28±0.00a	3.65±0.01c	3.79±0.02b	4.26±0.03a	0.000	0.709	0.395
氨态氮 $\text{NH}_3\text{-N}$ (%DM)	0.49±0.08c	0.79±0.11b	1.32±0.28a	0.52±0.07c	0.86±0.10b	1.34±0.10a	0.000	0.757	0.983
乳酸 Lactic acid (%DM)	8.84±0.84a	9.81±1.01a	6.98±0.75a	9.12±0.56a	9.21±1.01a	8.51±0.20a	0.618	0.208	0.552
乙酸 Acetic acid (%DM)	2.64±0.02b	2.94±0.16ab	3.85±0.08a	2.78±0.10b	2.94±0.12ab	3.36±0.23a	0.041	0.087	0.193
丙酸 Propionic acid (%DM)	ND	ND	ND	ND	ND	ND			
丁酸 Butyric acid (%DM)	ND	ND	ND	ND	ND	ND			

DM: 干物质 Dry matter; ND: 未检测到 Not detected.

表 5 玉米秸秆与毛豆茎叶混合青贮的细菌群落 α 多样性指数

Table 5 The α diversity index of bacterial communities in silage mixed with corn stalk and edamame stems/leaves

指数 Index	处理 Treatment						P 值 P value		
	CS10	CS31	CS11	CS10(c)	CS31(c)	CS11(c)	R	T	R×T
香农指数 Shannon	6.11±2.05a	3.64±0.94b	4.05±0.33b	4.83±0.35ab	3.50±0.62b	3.68±0.62b	0.014	0.230	0.599
辛普森指数 Simpson	0.92±0.10a	0.72±0.13c	0.85±0.02abc	0.89±0.01ab	0.76±0.04bc	0.84±0.04abc	0.007	0.975	0.677
覆盖度估计值 Ace	916.69±35.75aA	909.33±134.63aA	862.86±61.12aA	599.44±77.90aB	464.14±29.21aB	625.00±137.32aB	0.380	<0.001	0.187
赵氏指数 Chao1	876.42±29.74aA	882.88±133.94aA	842.27±44.08aA	564.66±66.22aB	452.87±4.39aB	605.27±137.22aB	0.470	<0.001	0.176
覆盖率 Goods_coverage	0.9983±0.00	0.9979±0.00	0.9977±0.00	0.9987±0.00	0.9989±0.00	0.9981±0.00	0.153	0.025	0.497

2.5.2 不同比例玉米秸秆与毛豆茎叶混合青贮对细菌群落 β-多样性的影响 PCoA1 和 PCoA2 分别为 34.80% 和 23.65% (图 1)。添加毛豆茎叶的青贮样品明显从单一玉米青贮中分离出来,纤维素酶处理组也与对照组出现了分离,说明添加毛豆茎叶和纤维素酶对青贮过程中细菌群落有影响。

2.5.3 不同比例玉米秸秆与毛豆茎叶混合青贮门水平上细菌群落分析 对照组和纤维素酶组的主要菌门为厚壁菌门、变形菌门、蓝藻菌门、拟杆菌门。除了 CS10 组外,其余所有组均以厚壁菌门为主(图 2)。与对照组相比,纤维素酶处理组的厚壁菌门相对丰度增加,其中,CS31(c) 组厚壁菌门最高,达到了 82.72%。混合青贮中随着毛豆茎叶比例的增加,变形菌门的相对丰度减少,蓝藻菌门增加。

2.5.4 不同比例玉米秸秆与毛豆茎叶混合青贮属水平上细菌群落分析 对照组和处理组的主要菌属有乳杆菌属、肠杆菌属和未分类菌属。除 CS10 组以外,其余 5 个组的优势菌属均为乳杆菌属,其中,CS31(c) 组的乳杆菌属相对丰度最高,为 75.69% (图 3)。混合青贮中随着毛豆茎叶比例的增加,乳杆菌属相对丰度增加,肠杆菌属减少。与对照组相比,纤维素酶组中的乳杆菌属丰度先增加后减少,CS31(c) 组乳杆菌属最高,这与门水平上厚壁菌门的动态变化一致。

2.5.5 玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮的 16S rDNA 基因功能预测分析 随着毛豆茎叶比例的增加,上调的代谢通路有碳水化合物代谢、折叠、分类和降解、核苷酸代谢、其他氨基酸代谢、脂质代谢(图 4);下调的代谢通路有信号传导、辅助因子和维生素的代谢、能量代谢。添加纤维素酶后上调的代谢通路有碳水化合物代谢、核苷酸代谢、其他次生代谢物的生物合成、萜类化合物和聚酮的代谢;下调的代谢通路有辅助因子和维生素的代谢、能量代谢。

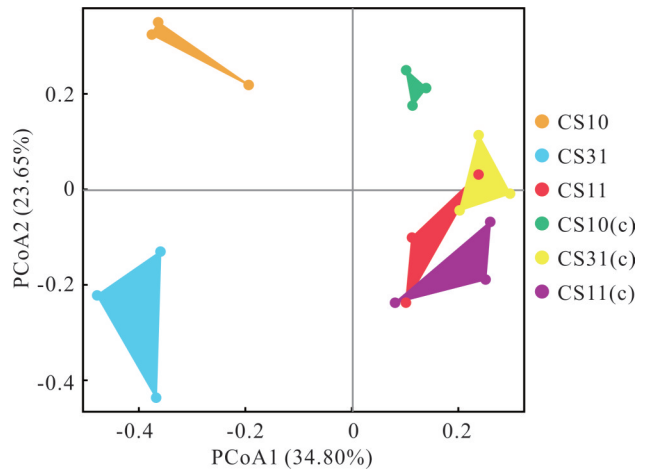


图 1 混合青贮的细菌 PCoA 分析

Fig. 1 PCoA analysis of bacteria in mixed silage

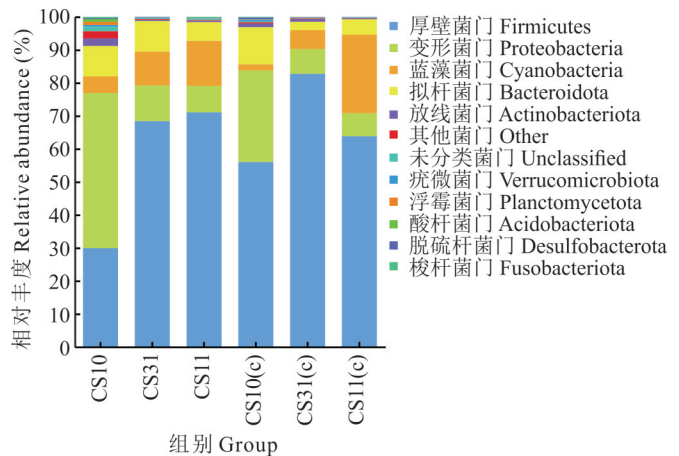


图 2 混合青贮中门水平上细菌群落相对丰度

Fig. 2 Relative abundance of bacterial community at phylum level in mixed silage

3 讨论

3.1 不同比例玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮对感官评定的影响

感官评定是对青贮质量的一种最简单和直观的评定方法,从颜色、气味、色泽等方面对青贮饲料进行评定,进而判定青贮是否成功。本研究中,以1:1混合青贮的饲料样品质地更柔软,水分较多,容易粘手,相比之下,以3:1混合青贮的饲料样品质地更松散,手感略微湿润容易分离。说明因毛豆茎叶的蛋白含量高和纤维含量低,所以在青贮时容易结块,导致青贮饲料品质变差。

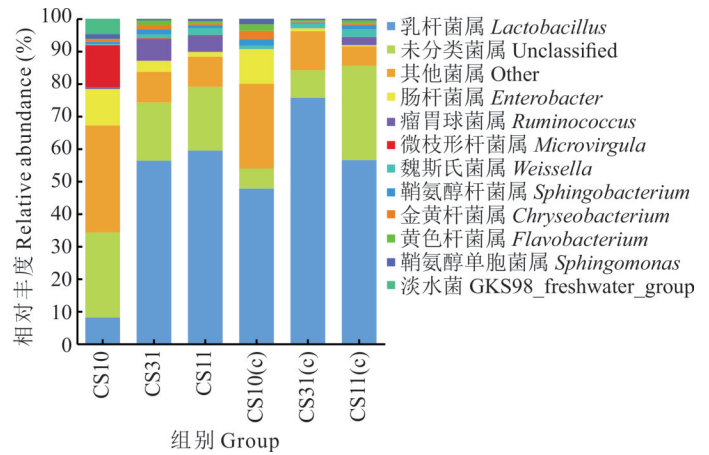


图3 混合青贮中属水平上细菌群落相对丰度

Fig. 3 Relative abundance of bacterial community at genus level in mixed silage

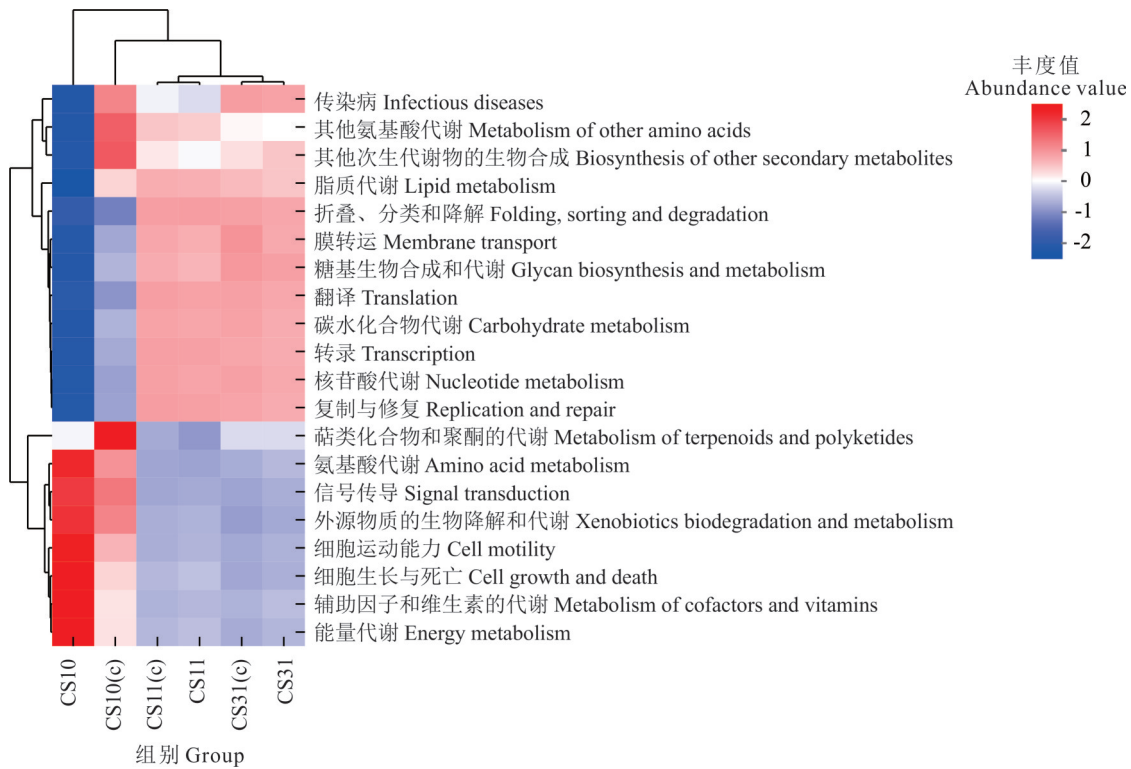


图4 混合青贮 16S rDNA 基因功能预测热图

Fig. 4 Heat map of mixed silage 16S rDNA gene function prediction

3.2 不同比例玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮对营养成分的影响

青贮原料的水分含量是决定发酵质量的关键因素。水分含量不同会影响微生物活性进而影响青贮品质^[14]。研究表明,理想状态下干物质含量为30%~35%^[15]。在Zhang等^[16]进行玉米秸秆和大豆(*Glycine max*)秸秆混合青贮的研究中,玉米秸秆的干物质含量较低,仅为18.39%,本研究中,玉米秸秆干物质含量也较低,这可能与青贮原料收获时期及气候和地理位置有关。随着毛豆茎叶比例的增加,混合青贮的干物质含量升高,这个变化趋势与Carpici^[17]研究结果相似,说明毛豆茎叶与玉米秸秆混贮能够弥补玉米秸秆在营养成分上的不足,提高混合青贮的营养价值。WSC是青贮中的重要发酵底物,其含量大于5%是保证发酵品质的关键^[18]。本研究中,玉米秸秆

单独青贮时,其高WSC含量为发酵过程提供了充足的底物,但CP含量较低易导致营养物质不足。加入毛豆茎叶能显著提高CP含量,这与Yang等^[19]的研究一致,主要是由于毛豆茎叶中粗蛋白质含量较高。随着毛豆茎叶比例的增加,混合青贮的WSC含量显著降低,可能是由毛豆茎叶本身的WSC含量偏低不能及时提供充足的发酵底物所导致。CS31组WSC含量显著高于CS11组,这说明CS31组有利于乳酸的生成,进而提高混合青贮的发酵品质。NDF和ADF含量是衡量饲草品质的重要营养指标,含量过高会影响反刍动物的消化吸收能力^[20]。本研究中,随着毛豆茎叶比例的增加,NDF和ADF含量显著降低,可能是由于毛豆茎叶的细胞壁易被降解,从而降低了混合青贮中纤维含量^[21]。添加纤维素酶后,混合青贮的ADF含量降低,可能是因为纤维素酶能将纤维素、半纤维素降解为单糖,降低青贮饲料的NDF和ADF含量,为乳酸菌发酵提供更多底物,从而提高饲料青贮品质。

3.3 不同比例玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮对发酵参数的影响

pH是反映青贮发酵质量的重要指标^[22],一般情况下,优质青贮的pH在4.2左右^[23]。本研究中,混合青贮的pH在4.2以下或接近4.2,可以保证混合青贮的品质。随着毛豆茎叶在混合青贮中比例的增加pH显著升高,乳酸含量呈先升高后降低趋势。这可能是由于混合青贮中WSC含量的显著下降导致发酵底物不足。CS31组乳酸含量较高,说明该组青贮品质优于其他组。此外,随着毛豆茎叶比例的增加,混合青贮中的乙酸含量虽有升高,但均在正常范围内,发酵品质良好,在混合青贮中没有检测到丙酸、丁酸的含量。 $\text{NH}_3\text{-N}$ 是衡量青贮品质的重要指标,通常是由微生物发酵对蛋白质的分解所产生的^[24]。本试验中,随着毛豆茎叶比例的升高, $\text{NH}_3\text{-N}$ 的含量显著提高,这说明混合青贮中蛋白质的分解程度越来越大。因此,在保证混合青贮优良发酵品质的条件下,玉米秸秆的比例应在50%及以上为好。

3.4 不同比例玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮对微生物群落的影响

α 多样性通常用来度量细菌群落物种的丰富度和多样性,Chao1指数和Ace指数代表了物种丰富度,Shannon指数和Simpson指数代表了物种多样性^[25]。本研究中,CS31和CS11组的Shannon指数显著低于CS10组,CS(c)组的Ace和Chao1指数显著低于CS组,说明毛豆茎叶和纤维素酶的添加降低了混合青贮的物种丰富度和物种多样性。Xu等^[26]报道,当乳酸菌等优势菌丰富度增加时, α 多样性下降。本研究发现,随着毛豆茎叶和纤维素酶的添加,乳杆菌属成为优势菌属,这可能是导致细菌群落多样性下降的原因。Li等^[27]根据玉米秸秆和木薯(*Manihot esculenta*)混合青贮的 β -多样性分析结果显示,单独青贮和混合青贮之间出现了分离,说明混合青贮对细菌群落有影响。本研究各组之间细菌群落的差异性表明毛豆茎叶和纤维素酶的添加使得混合青贮的发酵效果较好,进而导致CS31和CS31(c)发酵效果较好。

本研究中,在细菌群落门水平上,对照组和处理组主要菌门有厚壁菌门、变形菌门、蓝藻菌门、拟杆菌门。这与Zhao等^[28]的研究结果一致。厚壁菌门和变形菌门都发挥着重要的作用,厚壁菌门能在低pH环境下增殖,并且可以分泌纤维素酶、蛋白酶和脂肪酶的酸性水解微生物,变形菌门能消化有机物^[29]。添加纤维素酶的处理组中,厚壁菌门的丰富度先增加后减少,并在CS31(c)组达到峰值(82.72%),变形菌门丰富度减少,说明纤维素酶的添加能促进厚壁菌门的生长和抑制不良菌的增殖。这和Mu等^[30]的研究一致。随着毛豆茎叶比例的增加,对照组和纤维素酶组蓝藻菌门的丰富度逐渐增加。蓝藻菌门是一种能进行光合作用的细菌门,可以促进蛋白质的合成,这也可能证明了添加毛豆茎叶组的蛋白质保存比较好^[31]。在细菌群落属水平上,5个组的优势菌属为乳杆菌属。乳酸菌能够耐酸性环境产生有机酸降低pH,并在青贮过程中持续成为优势菌属,表明了青贮的发酵水平良好^[32]。本研究中随着毛豆茎叶的添加,乳杆菌属的丰度也在增加,说明混合青贮发酵水平较高。在添加纤维素酶的处理组中,乳杆菌属丰度先增加后减少,CS31(c)组乳杆菌属丰度最高,这与门水平上厚壁菌门的动态变化一致,而乳杆菌属相对丰度的减少可能是由于其他细菌属与其争夺底物所致。与对照组相比,添加了纤维素酶的处理组肠杆菌属相对丰度逐渐降低,魏斯氏菌属相对丰度增加,说明纤维素酶的添加抑制了有害菌的增殖。

微生物群落的功能预测能在一定程度上反映微生物在青贮过程中的作用。由于和PICRUSt相比,Tax4Fun功能预测的相关性更高^[33],因此本研究中采用Tax4Fun预测玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮细菌群落的基因功能。据报道,青贮发酵与碳水化合物代谢、核苷酸代谢、能量代谢、氨基酸代谢以及辅助因子和维生素的代谢有

关^[34]。Bai等^[35]认为碳水化合物代谢与青贮中乳酸菌相对丰度有关,乳酸菌相对丰度增加,碳水化合物代谢途径也会增加,本研究中随着毛豆茎叶比例的增加,乳杆菌属相对丰度增加,添加纤维素酶后,乳杆菌属相对丰度也增加,这可能是导致碳水化合物代谢上调的原因。氨基酸代谢途径与氮和氨基酸降解有关。随着毛豆茎叶比例的增加,NH₃-N含量显著升高,和氨基酸代谢上调保持一致,Li等^[36]也报道了类似的研究结果。Kilstrup等^[37]研究表明,大多数代谢反应与细菌对核苷酸的利用有关。因此,乳杆菌属相对丰度的增加可能会导致核苷酸代谢途径的上调。本研究中,毛豆茎叶和纤维素酶的添加抑制了辅助因子和维生素的代谢,因为在青贮过程中维生素会被降解^[38],这和Wang等^[39]的研究结果一致。从基因功能预测的结果来看,毛豆茎叶的添加对玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮的发酵质量有一定影响。

4 结论

本研究得出,与玉米秸秆单独青贮相比,玉米秸秆和毛豆茎叶混合青贮能够提高DM、CP及pH、NH₃-N和AA含量,降低NDF、ADF、WSC含量,改变了青贮中微生物群落的多样性,厚壁菌门和乳杆菌属的相对丰度增加,变形菌门和肠杆菌属的相对丰度减少,其中以25%毛豆茎叶混合青贮时品质最佳。与对照组相比,添加纤维素酶有降低ADF含量的趋势。综合青贮的品质可以得出,玉米秸秆和毛豆茎叶按3:1混合青贮效果最好,添加纤维素酶可以改善混合青贮的发酵品质。

参考文献 References:

- [1] Zhou X, Ouyang Z, Zhang X, *et al.* Sweet corn stalk treated with *Saccharomyces cerevisiae* alone or in combination with *Lactobacillus plantarum*: Nutritional composition, fermentation traits and aerobic stability. *Animals*, 2019, 9(9): 598.
- [2] Wang X, Song J, Liu Z, *et al.* Fermentation quality and microbial community of corn stover or rice straw silage mixed with soybean curd residue. *Animals*, 2022, 12(7): 919.
- [3] Zhao X Y, Li Z Y, Ma G G, *et al.* Study on fattening effect of adding soybean leaf powder on pigs. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2022, 41(2): 68–70.
赵晓阳, 李宗宇, 马更京, 等. 添加大豆叶粉对生猪育肥效果的研究. *畜牧兽医杂志*, 2022, 41(2): 68–70.
- [4] Meng H, Jiang Y, Wang L, *et al.* Effects of different soybean and maize mixed proportions in a strip intercropping system on silage fermentation quality. *Fermentation*, 2022, 8(12): 696.
- [5] Zhang X, Jiao T, Ma S M, *et al.* Silage quality and *in vitro* rumen fermentation characteristics of stevia and corn stalks. *Pratacultural Science*, 2023, 40(2): 539–550.
张霞, 焦婷, 马淑敏, 等. 甜叶菊秆与玉米秸秆混合青贮品质和体外瘤胃发酵特性. *草业科学*, 2023, 40(2): 539–550.
- [6] Ma J, Fan X, Ma Z, *et al.* Silage additives improve fermentation quality, aerobic stability and rumen degradation in mixed silage composed of amaranth and corn straw. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1189747.
- [7] Wu Q F, Chen C, Huang Q J, *et al.* A effects of cellulase and high-temperature tolerant lactic acid bacteria on structural carbohydrate of (*Pennisetum ameri-canum*×*P. purpureum*)×*P. durpureum* Schum. *Acta Agrestia Sinica*, 2024, 32(7): 2314–2322.
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. *草地学报*, 2024, 32(7): 2314–2322.
- [8] 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.
- [9] Erwin E S, Marco G J, Emery E M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science*, 1961, 44(9): 1768–1771.
- [10] Madrid J, Martínez-Teruel A, Hernández F, *et al.* A comparative study on the determination of lactic acid in silage juice by colorimetric, high-performance liquid chromatography and enzymatic methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1999, 79(12): 1722–1726.
- [11] 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.
- [12] McDonald P, Henderson A R. Determination of water-soluble carbohydrates in grass. *Journal of the Science of Food and*

- Agriculture, 1964, 15(6): 395–398.
- [13] Guo M, Wu F, Hao G, *et al.* *Bacillus subtilis* improves immunity and disease resistance in rabbits. *Frontiers in Immunology*, 2017, 8: 354.
- [14] Hu W, Schmidt R J, McDonell E E, *et al.* The effect of *Lactobacillus buchmeri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92(8): 3907–3914.
- [15] Lyu R L, Jiang R K, Zhang Y S, *et al.* Effects of different fermentation time, moisture and additives on fermentation quality of passion fruit peels. *Feed Industry*, 2024, 45(18): 106–113.
吕仁龙, 蒋睿珂, 张雨书, 等. 不同青贮时间、水分和添加剂对百香果果皮发酵品质的影响. *饲料工业*, 2024, 45(18): 106–113.
- [16] Zhang Z, Zhao K, Yang S, *et al.* Analysis on fermentation quality, chemical composition and bacterial communities of corn straw and soybean straw mixed silage. *Fermentation*, 2023, 9(6): 500.
- [17] Carpici E B. Nutritive values of soybean silages ensiled with maize at different rates. *Legume Research*, 2016, 39(5): 810–813.
- [18] 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.
- [19] Yang M, Wang F, Xu W, *et al.* Effects of the fermentation quality and microbial community of waxy maize mixed with fodder soybean silage. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1405018.
- [20] Wang Q, Li Z J, Li J, *et al.* Evaluation of agronomic and forage quality traits of a range of oat cultivars. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(12): 149–158.
王茜, 李志坚, 李晶, 等. 不同类型燕麦农艺和饲草品质性状分析. *草业学报*, 2019, 28(12): 149–158.
- [21] Mao J H, Tao L, Liu R, *et al.* Effects of living bacteria preparation and compound enzymes preparation on chemical composition and microstructure of fibers of silage corn stover. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(7): 2763–2771.
毛建红, 陶莲, 刘融, 等. 活菌制剂和复合酶制剂对青贮玉米秸秆化学组成及纤维微观结构的影响. *动物营养学报*, 2018, 30(7): 2763–2771.
- [22] Cheng F F, Yang J H, Xia M L, *et al.* Effect of different raw materials moisture and additives on the quality of alfalfa silage. *Feed Research*, 2020, 43(12): 106–109.
程方方, 杨君辉, 夏茂林, 等. 不同原料水分含量和添加剂对紫花苜蓿青贮品质的影响. *饲料研究*, 2020, 43(12): 106–109.
- [23] Li F F, Zhang F F, Wang X Z, *et al.* Effects of homo- and heterofermentative lactic acid bacteria on the nutritional quality and ruminal degradation rate of the whole plant maize silage. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(6): 128–136.
李菲菲, 张凡凡, 王旭哲, 等. 同/异型发酵乳酸菌对全株玉米青贮营养成分和瘤胃降解特征的影响. *草业学报*, 2019, 28(6): 128–136.
- [24] Blajman J E, Paez R B, Vinderola C G, *et al.* A Meta-analysis on the effectiveness of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria for corn silage. *Journal of Applied Microbiology*, 2018, 125(6): 1655–1669.
- [25] Zhao M, Wang Z, Du S, *et al.* *Lactobacillus plantarum* and propionic acid improve the fermentation quality of high-moisture amaranth silage by altering the microbial community composition. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 1066641.
- [26] Xu D, Wang N, Rinne M, *et al.* The bacterial community and metabolome dynamics and their interactions modulate fermentation process of whole crop corn silage prepared with or without inoculants. *Microbial Biotechnology*, 2021, 14(2): 561–576.
- [27] Li M, Zi X, Sun R, *et al.* Co-ensiling whole-plant cassava with corn stalk for excellent silage production: Fermentation characteristics, bacterial community, function profile, and microbial ecological network features. *Agronomy*, 2024, 14(3): 501.
- [28] Zhao G, Wu H, Li L, *et al.* Effects of applying cellulase and starch on the fermentation characteristics and microbial communities of Napier grass (*Pennisetum purpureum* Schum.) silage. *Journal of Animal Science and Technology*, 2021, 63(6): 1301–1313.
- [29] Qiu C, Liu N, Diao X, *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. *Microorganisms*, 2024, 12(3): 561.
- [30] Mu L, Xie Z, Hu L, *et al.* Cellulase interacts with *Lactobacillus plantarum* to affect chemical composition, bacterial communities, and aerobic stability in mixed silage of high-moisture amaranth and rice straw. *Bioresource Technology*, 2020,

315: 123772.

- [31] Chi Z, Deng M, Tian H, *et al.* Effects of mulberry leaves and *Pennisetum* hybrid mix-silage on fermentation parameters and bacterial community. *Fermentation*, 2022, 8(5): 197.
- [32] Huang R, Cai B, Chen Y, *et al.* Bacterial community structure and metabolites after ensiling paper mulberry mixed with corn or wheat straw. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2024, 8: 1356705.
- [33] ABhauer K P, Wemheuer B, Daniel R, *et al.* Tax4Fun: predicting functional profiles from metagenomic 16S rRNA data. *Bioinformatics*, 2015, 31(17): 2882–2884.
- [34] Bai J, Franco M, Ding Z, *et al.* Effect of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis* on fermentation, dynamics of bacterial community and their functional shifts of whole-plant corn silage. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2022, 13: 1–14.
- [35] Bai J, Ding Z, Ke W, *et al.* Different lactic acid bacteria and their combinations regulated the fermentation process of ensiled alfalfa: Ensiling characteristics, dynamics of bacterial community and their functional shifts. *Microbial Biotechnology*, 2021, 14: 1171–1182.
- [36] Li X, Chen F, Wang X, *et al.* Innovative utilization of herbal residues: Exploring the diversity of mechanisms beneficial to regulate anaerobic fermentation of alfalfa. *Bioresource Technology*, 2022, 360: 127429.
- [37] Kilstrop M, Hammer K, Røhdel P, *et al.* Nucleotide metabolism and its control in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 2005, 29(3): 555–590.
- [38] Liu Q H, Wu J X, Shao T. Roles of microbes and lipolytic enzymes in changing the fatty acid profile, α -tocopherol and β -carotene of whole-crop oat silages during ensiling and after exposure to air. *Animal Feed Science and Technology*, 2019, 253: 81–92.
- [39] Wang S, Shao T, Li J, *et al.* A survey of fermentation parameters, bacterial community compositions and their metabolic pathways during the ensiling of sorghum. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 132(5): 3563–3577.