

添加乳酸菌、糖蜜和无机酸对羊草青贮饲料发酵品质及体外干物质消失率的影响

黄秋连 周 昕 王 健 张嘉宾 曹 阳*

(黑龙江八一农垦大学动物科技学院, 黑龙江省寒区饲料资源高效利用与营养调控重点实验室,
粮食副产物加工与利用教育部工程研究中心, 大庆 163319)

摘 要: 本试验旨在探讨添加乳酸菌、糖蜜和无机酸对羊草青贮饲料发酵品质及体外干物质消失率的影响。采用单因子完全随机设计, 在羊草青贮时设置如下 5 个处理: 1) 无添加(对照组, C 组); 2) 添加 0.000 25% 乳酸菌(LAB 组); 3) 添加 4% 糖蜜(M 组); 4) 添加 4% 无机酸(IA 组); 5) 添加 0.000 25% 乳酸菌+4% 糖蜜(LAB+M 组)。各青贮添加剂的添加量均为鲜重基础, 每个处理设置 3 个重复, 青贮 120 d 后取样分析羊草青贮饲料的发酵品质及体外干物质消失率。结果显示: 所有组发酵品质均优良, 且均未检测出丁酸、大肠杆菌、霉菌和梭菌; 与对照组相比, 各添加剂组 pH 显著降低($P<0.05$); LAB+M 组的乳酸含量显著高于其他各组($P<0.05$); 与对照组相比, 所有添加剂组的氨态氮/总氮均有不同程度的下降; M 组和 LAB+M 组的干物质含量显著高于对照组($P<0.05$); IA 组的粗蛋白质含量显著高于其他各组($P<0.05$); LAB+M 组的中性洗涤纤维含量显著低于其他各组($P<0.05$); LAB+M 组的产气量最高, 显著高于 M 组($P<0.05$); LAB+M 组的体外干物质消失率显著高于对照组和 LAB 组($P<0.05$)。综上所述, 本试验所使用的青贮添加剂均能在不同程度上改善羊草青贮饲料的发酵品质和体外干物质消失率, 综合考虑, 以同时添加乳酸菌和糖蜜的效果最好。

关键词: 羊草; 青贮; 乳酸菌; 糖蜜; 无机酸; 发酵品质; 体外干物质消失率

中图分类号: S816

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2021)01-0420-08

羊草(*Leymus chinensis*)为禾本科多年生冷季型牧草, 广泛生长于亚洲北温带地区, 是中国北方、蒙古高原、西伯利亚西部和东部的主要天然牧草^[1], 具有适应性强、产量高、富含蛋白质等特点。目前我国大部分地区通常将羊草加工成干草产品^[2]。但是, 在黑龙江绝大多数地区, 在羊草的收获季节, 晾晒时正逢雨季, 常常遭受雨淋, 导致营养物质流失和发霉变质^[3], 调制干草较困难, 因此青贮方式是贮藏羊草更有效的措施, 能避免因雨淋导致营养成分的流失^[4]。但由于羊草的水溶性碳水化合物(WSC)含量较低, 难以调制出优质青

贮饲料, 需要进行添加剂青贮。

通常在乳酸菌数量至少达到 10^5 CFU/g FM 时, 才能保证牧草良好的发酵品质并得以长期保存^[5]。然而大多数牧草附着的乳酸菌数量均低于 10^5 CFU/g FM, 因此需要添加外源乳酸菌来获得优质青贮饲料。20 世纪 70 年代就已证明添加乳酸菌有益于青贮饲料的发酵, 特别是同型发酵乳酸菌, 可以确保牧草青贮以乳酸发酵为主导, 从而提高牧草的发酵品质^[6-7]。Cai 等^[5, 8-9]研究表明, 植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) Chikuso-1 是一种很有潜力的全株水稻青贮乳酸菌添加剂。

收稿日期: 2020-06-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31772673); 国家重点研发计划项目(2018YFD0502100); 黑龙江省饲草饲料协同创新推广体系岗位专家项目(黑农厅函[2019]766号-2019-04-02)

作者简介: 黄秋连(1994—), 女, 四川南江人, 硕士研究生, 研究方向为饲料资源开发与利用。E-mail: 18328815985@163.com

* 通信作者: 曹 阳, 教授, 博士生导师, E-mail: hbdkaoyang@163.com

Cao 等^[10-11]报道,与对照组相比,*Lactobacillus plantarum* Chikuso-1 处理的青贮饲料 pH 降低,乳酸含量和干物质消失率提高。李苗苗等^[12]将乳酸菌添加到油莎草青贮中,可有效地改善油莎草青贮发酵品质,提高其营养价值。糖蜜可为乳酸菌提供更多的发酵底物,使乳酸发酵迅速占据主导地位,已作为一种绿色、安全的发酵促进剂被广泛使用。Alli 等^[13]报道,银合欢青贮过程中添加糖蜜可以降低 pH,减少干物质损失,增加乳酸和水溶性碳水化合物含量。靳思玉等^[14]研究显示,添加糖蜜可以提高油莎草的青贮发酵品质和黄酮含量。在新鲜牧草青贮初期,由于 pH 较高,并有部分氧气存在,植物表面附着的好氧性微生物活跃,消耗青贮原料中的养分^[11],因此如何迅速降低 pH,抑制好氧性微生物的活性,减少养分损失,对于成功青贮至关重要。张志登等^[15]研究发现,添加无机酸可提高黄贮玉米秸秆发酵品质和体外干物质消失率,减少甲烷生成量。靳思玉等^[16]报道,苜蓿青贮时添加无机酸,可以抑制有害微生物的增殖,显著提高苜蓿青贮发酵品质。

本试验采用小规模发酵法,以羊草为原料,研究乳酸菌、糖蜜、无机酸作为青贮添加剂对羊草青贮饲料营养成分含量、发酵品质及体外瘤胃干物质消失率的影响,为优质羊草青贮饲料的生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验所用羊草的供给地为黑龙江省大庆市天然草场,羊草侧短至 1~2 cm,水分含量调整为 60%;青贮添加剂:乳酸菌制剂(*Lactobacillus plantarum* Chikuso-1),由日本某研究所提供,活菌数约为 10^5 CFU/g;糖蜜:由成都某商贸有限公司提供,总糖(蔗糖+还原糖)含量 $\geq 40\%$,波美度($^{\circ}\text{Bé}$) ≥ 33.333 ;无机酸:由 1 mol/L H_2SO_4 和 2 mol/L HCl 以体积比 4:1 混合而成的混合酸。

1.2 试验设计

采用单因子完全随机设计,在羊草青贮时设置 5 个处理:1)无添加(C 组,作为对照组);2)添加 0.000 25%乳酸菌(LAB 组);3)添加 4%糖蜜(M 组);4)添加 4%无机酸(IA 组);5)添加 0.000 25%乳酸菌+4%糖蜜(LAB+M 组)。青贮添加剂的添加量均为鲜重基础,每个处理设置 3

个重复,将羊草与青贮添加剂混匀后装入 16 cm×25 cm 聚乙烯袋(每袋约 200 g),抽真空密封,室温下保存 120 d 后开封取样分析。

1.3 测定指标和方法

1.3.1 感官品质

开封后鉴定羊草青贮饲料的颜色、气味、质地、霉变等感官品质,判定标准参考文献[17]。

1.3.2 发酵品质

称取 10 g 羊草青贮饲料,加入 90 mL 蒸馏水,于均质器(BAGMIXER[®] 400,日本)内拍打 90 s,经滤纸过滤,滤液用于测定 pH 与有机酸、氨态氮含量。pH 使用便携式 pH 计(FG2-FK 型,上海梅特勒-托利多仪器有限公司)测定。滤液在高压下通过 0.22 μm 滤膜,经液相色谱分析仪测定有机酸,包括乳酸(lactic acid, LA)、乙酸(acetic acid, AA)、丙酸(propionic acid, PA)和丁酸(butyric acid, BA)含量,分析条件:色谱柱 Shodex RS-Pak KC-811;柱温 60 $^{\circ}\text{C}$;检测器, Jasco UV-2070, 450 nm;洗脱液为 3 mmol/L HClO_4 ,流速 1.0 mL/min;试剂为 0.2 mmol/L 溴麝香草酚蓝+8 mmol/L Na_2HPO_4 + 2 mmol/L NaOH,流速 1.0 mL/min^[10]。采用苯酚-次氯酸钠比色法^[18]测定氨态氮含量,采用凯氏定氮法测定总氮含量^[19],并计算氨态氮/总氮。

1.3.3 微生物培养及计数

称取 10 g 羊草青贮饲料,与 90 mL 蒸馏水混匀过滤,在无菌操作环境中,用蒸馏水将浸出液从 10^{-1} 连续梯度稀释到 10^{-5} 备用。乳酸菌采用 MRS 肉汤培养基(30 $^{\circ}\text{C}$ 厌氧,48 h),梭菌孢子采用 Clostridia Count Agar 培养基(30 $^{\circ}\text{C}$ 厌氧,48 h),霉菌和酵母菌采用 Potato Dextrose Agar 培养基(30 $^{\circ}\text{C}$,48 h),好氧性细菌和芽孢杆菌采用 Nutrient Agar 培养基(30 $^{\circ}\text{C}$,48 h),大肠杆菌采用 Blue Light Broth 培养基(30 $^{\circ}\text{C}$,48 h)培养后,采用平板菌落计数法计算各菌落总数,用每克新鲜样品中菌落形成单位的对数表示 [$\lg(\text{CFU/g FM})$]^[20]。所用培养基均由青岛海博生物有限公司提供。

1.3.4 体外瘤胃发酵参数

用 2 个装瘤胃瘘管的成年羯羊(平均初始体重 32.0 kg)作为瘤胃液供体。饲料供应参照《肉羊饲养标准》(NY/T 816—2004),每天 06:00 和 18:00 分别饲喂 1 次,自由饮水^[12]。饲喂后 2 h 经瘤胃瘘管取瘤胃液,4 层纱布过滤后,以相同的体

积混合转入塑料瓶。将混合后的滤液通入 CO₂ 气体,以 1:4 的体积比与 McDougal 缓冲液(pH 6.8)混合形成瘤胃缓冲液,然后将 50 mL 瘤胃缓冲液转移到 128 mL 的含 0.5 g 羊草青贮饲料样品的血清瓶中,通入 CO₂ 气体排出空气。用丁基橡胶塞和铝盖将血清瓶密封后于恒温培养振荡摇床(39 ℃,100 r/min)培养 48 h 后,测定 pH、产气量、干物质消失率^[10]。所用仪器及设备均由黑龙江省寒区饲料资源高效利用与营养调控重点实验室提供。

1.3.5 营养成分含量

将剩余的羊草青贮饲料于电热恒温鼓风干燥箱(65 ℃,48 h)烘至恒重后,粉碎并过 2 mm 筛后分析营养成分。采用 AOAC(1990)^[19] 的 934.01、976.05、920.39 和 942.05 方法,分析干物质(dry matter,DM)、粗蛋白质(crude protein,CP)、粗脂肪

(ether extract, EE) 和粗灰分(Ash)含量。参照 Van Soest 等^[21] 的方法,分析中性洗涤纤维(neutral detergent fiber,NDF)和酸性洗涤纤维(acid detergent fiber,ADF)含量。

1.4 数据分析与统计

试验数据采用 Excel 2010 计算与整理后,使用 SAS 9.4 进行方差分析,并用 Tukey 法进行多重比较,差异显著性水平为 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 羊草青贮饲料的感官品质

由表 1 可知,对照组的羊草青贮饲料以黄褐色为主,各添加剂组均为黄绿色;各添加剂组的羊草青贮饲料比对照组的酸味更浓;各组羊草青贮饲料总体为质地柔软、湿润不黏手、无霉变。

表 1 羊草青贮饲料的感官品质
Table 1 Sensory quality of *Leymus chinensis* silage

项目 Items	组别 Groups				
	C	LAB	M	IA	LAB+M
气味 Odor	中酸味	浓酸味	浓酸味	浓酸味	浓酸味
颜色 Color	黄褐色	黄绿色	黄绿色	黄绿色	黄绿色
质地 Texture	柔软、湿润不黏手	柔软、湿润不黏手	柔软、湿润不黏手	柔软、湿润不黏手	柔软、湿润不黏手
霉变 Mildew	无	无	无	无	无

2.2 青贮前羊草及其经不同处理青贮后的营养成分含量

由表 2 可知,试验所用羊草青贮前 DM、CP、EE、NDF、ADF、Ash 含量分别为 34.10%、7.90%、2.23%、66.16%、29.95%和 6.99%。添加不同青贮添加剂进行青贮后,M 组和 LAB+M 组的 DM 含

量显著高于对照组($P<0.05$);IA 组的 CP 含量显著高于其他各组($P<0.05$);LAB+M 组的 NDF 含量显著低于其他各组($P<0.05$);各添加剂组的 ADF 含量均显著低于对照组($P<0.05$);各组间 EE 和 Ash 含量无显著差异($P>0.05$)。

表 2 青贮前羊草及其经不同处理青贮后的营养成分含量
Table 2 Nutrient contents of *Leymus chinensis* before silage and after silage with different treatments

项目 Items	青贮前	组别 Groups					SEM	P 值
	Before silage	C	LAB	M	IA	LAB+M		P-value
干物质 DM/%FM	34.10 ^c	46.01 ^b	45.84 ^b	47.43 ^a	45.55 ^b	47.97 ^a	0.166	<0.000 1
粗蛋白质 CP/%DM	7.90 ^e	7.26 ^f	8.32 ^d	9.15 ^b	10.31 ^a	8.64 ^c	0.054	<0.000 1
粗脂肪 EE/%DM	2.23	2.15	2.10	2.16	2.24	2.15	0.073	0.411 6
中性洗涤纤维 NDF/%DM	66.16 ^a	64.16 ^b	63.51 ^b	63.67 ^b	63.91 ^b	61.33 ^c	0.221	<0.000 1
酸性洗涤纤维 ADF/%DM	29.95 ^d	33.49 ^a	32.18 ^{ab}	30.40 ^{cd}	31.41 ^{bcd}	31.53 ^{bc}	0.323	<0.000 1
粗灰分 Ash/%DM	6.99 ^b	7.99 ^a	7.67 ^a	7.97 ^a	7.50 ^{ab}	7.57 ^{ab}	0.129	0.001 5

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),相同或无字母表示差异不显著($P>0.05$)。下表同。
In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$). The same as below.

2.3 羊草青贮饲料的发酵品质

由表 3 可知,各添加剂组 pH 均显著低于对照组 ($P<0.05$),其中 IA 组 pH 最低,为 4.41;LAB+M 组的乳酸含量显著高于其他各组 ($P<0.05$);与

对照组相比,所有添加剂组的氨态氮/总氮都有不同程度的下降,其中 M 组和 IA 组的氨态氮/总氮显著低于其他各组 ($P<0.05$);各组均未检出丁酸。

表 3 羊草青贮饲料的发酵品质
Table 3 Fermentation quality of *Leymus chinensis* silage

项目 Items	组别 Groups					SEM	P 值 P-value
	C	LAB	M	IA	LAB+M		
pH	4.79 ^a	4.45 ^c	4.58 ^b	4.41 ^c	4.43 ^c	0.013	<0.000 1
乳酸 LA/%FM	1.09 ^b	1.22 ^b	1.16 ^b	1.03 ^b	1.72 ^a	0.055	<0.000 1
乙酸 AA/%FM	0.02 ^{bc}	0.03 ^b	0.07 ^a	<0.01 ^c	0.03 ^b	0.004	<0.000 1
丙酸 PA/%FM	0.03	0.01	0.03	0.01	0.01	0.005	0.324 3
丁酸 BA/%FM	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	—	—
氨态氮/总氮 NH ₃ -N/TN	3.50 ^a	3.35 ^a	1.96 ^b	1.51 ^b	3.13 ^a	0.224	<0.000 1

“—”表示未统计。下表同。
“—” mean no statistics. The same as below.

2.4 羊草青贮饲料的微生物数量

由表 4 可知,各添加剂组的乳酸菌数量均显著高于对照组 ($P<0.05$),其中 LAB+M 组的乳酸菌数量最高;LAB 组的芽孢杆菌数量显著低于其

他各组 ($P<0.05$);M 组的酵母菌数量最高,且显著高于对照组和 LAB 组 ($P<0.05$);各组间好氧性细菌数量均无显著差异 ($P>0.05$),且均未检出大肠杆菌、梭菌和霉菌。

表 4 羊草青贮饲料的微生物数量
Table 4 Number of microorganisms of *Leymus chinensis* silage

项目 Items	组别 Groups					SEM	P 值 P-value
	C	LAB	M	IA	LAB+M		
乳酸菌 Lactic acid bacteria	5.53 ^b	7.99 ^a	7.98 ^a	6.82 ^a	8.15 ^a	0.365	0.002 8
好氧性细菌 Aerobic bacteria	6.06	4.93	6.31	4.87	7.55	0.978	0.339 1
芽孢杆菌 <i>Bacillus</i>	5.82 ^a	3.49 ^b	6.33 ^a	5.40 ^a	5.74 ^a	0.235	<0.000 1
酵母菌 Yeast	3.09 ^b	2.86 ^b	7.23 ^a	5.89 ^{ab}	5.30 ^{ab}	0.831	0.019 4
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	—	—
梭菌 <i>Clostridium</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	—	—
霉菌 Mold	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	—	—

2.5 羊草青贮饲料的体外瘤胃发酵参数

由表 5 可知,各组 pH 无显著差异 ($P>0.05$);除 M 组外,其他添加剂组与对照组相比产气量均

出现不同程度的增加,其中 LAB+M 组的产气量最高;LAB+M 组的体外干物质消失率显著高于对照组和 LAB 组 ($P<0.05$)。

表 5 羊草青贮饲料的体外瘤胃发酵参数
Table 5 Fermentation parameters *in vitro* of *Leymus chinensis* silage

项目 Items	组别 Groups					SEM	P 值 P-value
	C	LAB	M	IA	LAB+M		
pH	6.92	6.78	7.05	7.21	6.99	0.113	0.176 5
产气量 GP/(mL/g)	9.67 ^{ab}	10.33 ^{ab}	7.67 ^b	11.33 ^{ab}	13.00 ^a	1.011	0.038 8
体外干物质消失率 IVDMD/%	40.04 ^b	40.48 ^b	40.97 ^{ab}	41.19 ^{ab}	43.66 ^a	0.616	0.015 6

3 讨 论

本试验中,各组羊草青贮饲料均表现为质地柔软、水分适宜、有浓厚酸味,相较于羊草原料本身,其质地和适口性得到明显改善。其中,对照组为黄褐色,各添加剂组均为黄绿色,且各添加剂组的酸香味也比对照组更浓厚,符合优质青贮饲料的感官评定标准^[22]。

乳酸菌在青贮发酵中起着重要作用,乳酸菌数量已成为预测青贮饲料发酵的充分性和决定青贮饲料是否添加外源乳酸菌的重要因素。本试验所用的乳酸菌菌株为 *Lactobacillus plantarum* Chikuso-1,该菌株能促进乳酸发酵,在低 pH 环境下生长良好^[11]。因此,用该菌株制备青贮饲料可以促进乳酸菌的增殖,降低 pH,抑制梭菌和其他微生物的生长,使青贮饲料的品质得以提高^[5]。在本试验中,添加乳酸菌组与对照组相比,乳酸含量增加,pH 显著降低,氨态氮/总氮降低,未检测出大肠杆菌、梭菌和霉菌,这是因为添加乳酸菌增加了青贮发酵初期的乳酸菌数量,弥补了原料中乳酸菌数量的不足,很快进入乳酸发酵阶段,pH 迅速下降,有害微生物的活性被抑制^[23]。

糖蜜所含的 WSC 可以被乳酸菌直接利用,添加到青贮中可以促进青贮早期乳酸菌的繁殖,快速达到稳定的青贮发酵阶段,抑制其他杂菌对发酵底物的消耗和蛋白质的水解。吴金彩等^[24]添加不同水平糖蜜青贮全株“张杂谷”,结果表明 4% 糖蜜组的各项发酵指标较好。孙肖慧等^[25]报道,紫花苜蓿和燕麦以 3:7 混合后添加 4% 糖蜜青贮,可使丁酸含量和氨态氮/总氮显著降低。本研究结果显示,添加 4% 糖蜜制备的羊草青贮饲料的 pH、ADF 含量和氨态氮/总氮降低,CP 含量增加,与吴金彩等^[24]和孙肖慧等^[25]研究结果一致;同时,添加糖蜜组的酵母菌数量不同程度高于其他各组,这是由于添加糖蜜后,残留的 WSC 和乳酸含量相对较高,而这 2 种物质被用作酵母菌的底物^[26]。与对照组相比,添加糖蜜组的乳酸含量没有显著增加,而添加乳酸菌+糖蜜组乳酸含量显著增加,与 Cao 等^[10]的报道一致,这可能是因为即使不添加糖蜜,羊草青贮中也有足够的可发酵糖,乳酸菌可能已经将更多的可发酵糖转化为乳酸。

酸处理可使饲料 pH 迅速下降,达到适于乳酸菌生长繁殖的条件,同时抑制有害菌的繁殖。张

志登等^[15]添加 4% 无机酸黄贮玉米秸秆,靳思玉等^[16]添加 8% 无机酸青贮紫花苜蓿,结果表明 4% 和 8% 无机酸的添加均可使 pH 显著下降,抑制有害微生物的生长,提高青贮饲料发酵品质。本试验研究结果与上述研究结果相似,同时本试验中添加无机酸组的氨态氮/总氮显著低于对照组,CP 含量显著高于其他组,这是由于 pH 的迅速降低有效地抑制了植物酶和微生物水解蛋白酶的活性,进而使蛋白质的降解和后期游离氨基酸的分解减少。

添加乳酸菌+糖蜜组的 DM 和乳酸含量显著高于其他组,这可能是由于两者的加入不仅补充了发酵底物,也增加了乳酸菌数量,促进了青贮早期乳酸菌的增殖,从而使乳酸菌能够生产更多的乳酸,使 pH 迅速下降,抑制有害微生物增殖,减少了营养成分的损失^[27]。

瘤胃液 pH 可以反映瘤胃内部环境与发酵程度,微生物的活动和繁殖要求环境保持一定的 pH,其正常变化范围为 5.5~7.5^[28]。本研究中,体外培养液的 pH 均处于此范围内,为 6.78~7.21,不会影响微生物的活力。饲料体外发酵产气的底物主要是碳水化合物,产气量可以反映瘤胃微生物利用底物的程度,也可以体现饲料营养价值的高低^[29]。程鹏辉等^[30]研究表明,产气量越大,牧草发酵品质越好。体外干物质消失率反映发酵体系中微生物降解饲料的程度^[12]。本试验中,羊草青贮饲料的体外产气量和干物质消失率最大的均为添加乳酸菌+糖蜜组,可见同时添加乳酸菌和糖蜜时羊草青贮饲料的发酵品质和营养价值最好。

4 结 论

本试验所使用的青贮添加剂均能在不同程度上改善羊草青贮饲料的发酵品质和体外干物质消失率,综合考虑,以同时添加乳酸菌和糖蜜的效果最好。

参考文献:

- [1] YAN R, CHEN S, ZHANG X, et al. Short communication: effects of replacing part of corn silage and alfalfa hay with *Leymus chinensis* hay on milk production and composition [J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94 (7): 3605-3608.
- [2] 李晶. 羊草的营养价值及其应用 [J]. 农业知识 (科学

- 养殖),2015(9):55-56.
- LI J J. Nutritional value and application of *Leymus chinensis* [J]. Agricultural Knowledge: Scientific Breeding, 2015(9):55-56. (in Chinese)
- [3] 孙力,石风善.黑龙江省牧草产业现状及发展建议[J].现代化农业,2016(2):31-32.
- SUN L, SHI F S. Current situation and development suggestions of forage industry in Heilongjiang province[J]. Modern Agriculture, 2016(2):31-32. (in Chinese)
- [4] 吉春花.青贮饲料的优点与制作技术[J].当代畜牧,2017(35):23-24.
- JI C H. Advantages and production technology of silage [J]. Contemporary Animal Husbandry, 2017(35):23-24. (in Chinese)
- [5] CAI Y M, BENNO Y, OGAWA M, et al. Effect of applying lactic acid bacteria isolated from forage crops on fermentation characteristics and aerobic deterioration of silage[J]. Journal of Dairy Science, 1999, 82(3):520-526.
- [6] OHYAMA Y, MORICHI T, MASAKI S. The effect of inoculation with *Lactobacillus plantarum* and addition of glucose at ensiling on the quality of aerated silages [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1975, 26(7):1001-1008.
- [7] KUNG L, Jr, RANJIT N K. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage[J]. Journal of Dairy Science, 2001, 84(5):1149-1155.
- [8] CAI Y M. The role of lactic acid bacteria in the preparation of high fermentation quality[J]. Grassland Science, 2001, 47(5):527-533.
- [9] CAI Y M, FUJITA Y, MURAI M, et al. Application of lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum* Chikuso-1) for silage preparation of forage paddy rice [J]. Grassland Science, 2003, 49(5):477-485.
- [10] CAO Y, TAKAHASHI T, HORIGUCHI K I, et al. Effect of adding lactic acid bacteria and molasses on fermentation quality and *in vitro* ruminal digestion of total mixed ration silage prepared with whole crop rice [J]. Grassland Science, 2010, 56(1):19-25.
- [11] CAO Y, CAI Y, TAKAHASHI T, et al. Effect of lactic acid bacteria inoculant and beet pulp addition on fermentation characteristics and *in vitro* ruminal digestion of vegetable residue silage [J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94(8):3902-3912.
- [12] 李苗苗,靳思玉,王立超,等.不同温度下添加乳酸菌对油莎草青贮品质及体外干物质消失率的影响[J].动物营养学报,2020,32(2):827-835.
- LI M M, JIN S Y, WANG L C, et al. Effects of lactic acid bacteria addition on fermentation quality and dry matter digestibility of *Cyperus esculentus* silage under different temperatures [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(2):827-835 (in Chinese)
- [13] ALLI I, FAIRBAIRN R, NOROOZI E, et al. The effects of molasses on the fermentation of chopped whole-plant leucaena [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1984, 35(3):285-289.
- [14] 靳思玉,王立超,李苗苗,等.添加糖蜜对油莎草青贮发酵品质及黄酮的影响[J].中国乳品工业,2020,48(3):31-37.
- JIN S Y, WANG L C, LI M M, et al. Effect of adding molasses on fermentation quality and flavone of oil sedge silage [J]. China Dairy Industry, 2020, 48(3):31-37. (in Chinese)
- [15] 张志登,蒋再慧,韩雅慧,等.乳酸菌及酸处理对秸秆生物发酵饲料的化学成分及 *in vitro* 甲烷生成的影响[J].黑龙江八一农垦大学学报,2016,28(6):8-15.
- ZHANG Z D, JIANG Z H, HAN Y H, et al. Lactic acid bacteria and acid treatment of straw fermentation feed effect of chemical composition and *in vitro* methane production [J]. Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2016, 28(6):8-15. (in Chinese)
- [16] 靳思玉,李苗苗,曹阳.酸处理对苜蓿青贮过程中叶绿素变化的影响[C].2018中国草学会年会论文集.成都:中国草学会,2018:138-141.
- JIN S Y, LI M M, CAO Y. Effect of acid treatment on chlorophyll content of alfalfa silage [C]//Proceedings of the annual meeting of Chinese grass society in 2018. Chengdu: Chinese Grass Society, 2018:138-141. (in Chinese)
- [17] 李学光.青贮饲料品质的简易鉴定技术[J].中国畜禽种业,2012,8(7):81-82.
- LI X G. Simple identification technology of silage quality [J]. The Chinese Livestock Breeding, 2012, 8(7):81-82. (in Chinese)
- [18] CAO Y, CAI Y M, HIRAKUBO T, et al. Fermentation characteristics and microorganism composition of total mixed ration silage with local food by-products in different seasons [J]. Animal Science Journal, 2011, 82(2):259-266.
- [19] AOAC. Official methods of analysis [S]. 15th ed. Arlington, VA: Association of Official Analysis Chem-

- ists, 1990:33-35.
- [20] CAO Y, ZANG Y Q, JIANG Z H, et al. Fermentation quality and nutritive value of fresh and fermented total mixed rations containing Chinese wildrye or corn stover[J]. Grassland Science, 2016, 62(4): 213-223.
- [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[J]. Journal of Dairy Science, 1991, 74(10): 3583-3597.
- [22] 王杰, 张养东, 郑楠, 等. 青贮饲料感官评定研究进展[J]. 中国奶牛, 2019(1): 1-3.
WANG J, ZHANG Y D, ZHENG N, et al. Research progress in sensory evaluation of silage[J]. China Dairy Cattle, 2019(1): 1-3. (in Chinese)
- [23] 王莹, 玉柱. 不同添加剂对紫花苜蓿青贮发酵品质的影响[J]. 中国草地学报, 2010, 32(5): 80-84.
WANG Y, YU Z. Effect of different additives on quality of *Medicago sativa* silage[J]. Chinese Journal of Grassland, 2010, 32(5): 80-84. (in Chinese)
- [24] 吴金彩, 刘婷婷, 岳春旺, 等. 添加不同水平糖蜜对全株“张杂谷”青贮体外瘤胃发酵特性和营养物质降解率的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2018, 45(10): 2752-2760.
WU J C, LIU T T, YUE C W, et al. Effects of different molasses levels on *in vitro* ruminal fermentation characteristics and nutrient degradation of whole “Zhang Hybrid Millet” silage[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2018, 45(10): 2752-2760. (in Chinese)
- [25] 孙肖慧, 原现军, 郭刚, 等. 添加乙醇和糖蜜对西藏地区燕麦和紫花苜蓿混合青贮发酵品质的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2014, 45(3): 417-425.
SUN X H, YUAN X J, GUO G J, et al. Effect of adding ethanol and molasses on fermentation quality of mixed silage of oat and alfalfa in Tibet[J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2014, 45(3): 417-425. (in Chinese)
- [26] CHEN L, GUO G, YUAN X J, et al. Effect of applying molasses and propionic acid on fermentation quality and aerobic stability of total mixed ration silage prepared with whole-plant corn in Tibet[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2014, 27(3): 349-356.
- [27] ADESOGAN A T, SALAWU M B. The effect of different additives on the fermentation quality, aerobic stability and *in vitro* digestibility of pea/wheat bi-crop silages containing contrasting pea to wheat ratios[J]. Grass and Forage Science, 2002, 57(1): 25-32.
- [28] 王淮波, 赵国琦, 郭熠洁. 体外条件下葡萄糖处理大豆粕对瘤胃内环境参数的影响[J]. 饲料工业, 2009, 30(17): 34-37.
WANG W B, ZHAO G Q, GUO Y J. Effects of soybean meal deal with glucose on environment parameter in the rumen *in vitro* [J]. Feed Industry, 2009, 30(17): 34-37. (in Chinese)
- [29] 张棋炜, 张政, 杨晶晶, 等. 体外法研究酵母发酵饲料对瘤胃发酵参数及瘤胃细菌数量的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2017, 53(12): 79-85.
ZHANG Q W, ZHANG Z, YANG J J, et al. Study on effects of yeast fermented feed on rumen fermentation parameters and rumen bacteria *in vitro* method[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2017, 53(12): 79-85. (in Chinese)
- [30] 程鹏辉, 廖新伟, 吴银宝. 利用猪粪液为菌源体外发酵产气法评价牧草纤维品质[J]. 草业学报, 2007, 16(5): 61-69.
CHENG P H, LIAO X D, WU Y B. Studies on evaluation of fiber quality of fodder grass[J]. Acta Pratacul-turae Sinica, 2007, 16(5): 61-69. (in Chinese)

Effects of Lactic Acid Bacteria, Molasses and Inorganic Acid Supplementations on Fermentation Quality and *in Vitro* Dry Matter Disappearance Rate of *Leymus chinensis* Silage

HUANG Qiulian ZHOU Xin WANG Jian ZHANG Jiabin CAO Yang*

(Engineering Research Center of Processing and Utilization of Grain By-Products, Ministry of Education, Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Efficient Utilization of Feed Resources and Nutrition Manipulation in Cold Region, College of Animal Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

Abstract: This experiment was conducted to evaluate the effects of lactic acid bacteria, molasses and inorganic acid supplementations on the fermentation quality and *in vitro* dry matter disappearance rate (IVDMD) of *Leymus Chinensis* silage. A Single factor complete random design was adopted, five treatments during silage of *Leymus chinensis* were designed: 1) additive free (C group, as control group); 2) supplemented with 0.000 25% lactic acid bacteria (LAB group); 3) supplemented with 4% molasses (M group); 4) supplemented with 4% inorganic acid (IA group); 5) supplemented with 0.000 25% lactic acid bacteria+4% molasses (LAB+M group). The supplemental level of each silage additives based fresh weight, and each treatment had 3 replicates. The fermentation quality and the IVDMD of *Leymus Chinensis* silage were analyzed after silage for 120 days. The results showed that the fermentation quality of all groups was excellent, and butyric acid, *Escherichia coli*, mold and *Clostridium* were not detected. The pH of each additive group was significantly decreased compared with control group ($P<0.05$). The lactic acid content of LAB+M group was significantly higher than that of other groups ($P<0.05$). Compared with control group, the ammonia nitrogen/total nitrogen of all additive groups was decreased with varying degrees. The dry matter content of M group and LAB+M group was significantly higher than that of control group ($P<0.05$). The content of crude protein of IA group was significantly higher than that of other groups ($P<0.05$). The content of neutral detergent fiber of LAB+M group was significantly lower than that of other groups ($P<0.05$). The gas production of LAB+M group was the highest, and it was significantly higher than that of M group ($P<0.05$), and the IVDMD of LAB+M group was significantly higher than that of control group and LAB group ($P<0.05$). The results indicate that silage additives used in this experiment all can improve the fermentation quality and IVDMD of *Leymus Chinensis* silage. When all the facts are taken together, diets supplemented with lactic acid bacteria and molasses together have the best effect of *Leymus chinensis* silage. [Chinese Journal of Animal Nutrition, 2021, 33(1): 420-427]

Key words: *Leymus chinensis*; silage; lactic acid bacteria; molasses; inorganic acid; fermentation quality; *in vitro* dry matter disappearance rate

* Corresponding author, professor, E-mail: hbdkaoyang@163.com