

# 体外产气法评价不同比例玉米秸秆和甜叶菊秆混贮效果

张霞<sup>1</sup>, 焦婷<sup>1\*</sup>, 马淑敏<sup>1</sup>, 陈鑫<sup>1</sup>, 王正文<sup>2</sup>, 牧仁<sup>1</sup>, 赵生国<sup>2</sup>, 林伟山<sup>3</sup>

(1. 甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室, 中-美草地畜牧业可持续发展研究中心, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070; 3. 青海大学, 青海 西宁 810016)

**摘要:**【目的】探讨玉米秸秆与甜叶菊秆混贮的青贮品质。【方法】采用体外产气法评价玉米秸秆与甜叶菊秆按100:0(CK组)、90:10(I组)、80:20(II组)、70:30(III组)、60:40(IV组)和50:50(V组)比例混贮的效果。【结果】随着体外发酵时间的延长, 各组总产气量逐渐升高。其中I组产气增长速率最大, 48 h产气量(GP<sub>48h</sub>)最高(157.92 mL/g), 且显著高于除II组以外的其他组( $P < 0.05$ ); 随发酵时间的延长, 各组干物质降解率(DMD)和酸性洗涤纤维降解率(ADFD)逐渐增加, 其中V组DMD<sub>48h</sub>和ADFD<sub>48h</sub>显著低于其他组( $P < 0.05$ )。随甜叶菊秆添加比例的增加, 各处理中性洗涤纤维降解率(NDFD<sub>48h</sub>)和ADFD<sub>48h</sub>呈先增加后降低的趋势。I和II组NDFD<sub>48h</sub>显著高于其他组( $P < 0.05$ )。随着甜叶菊秆添加量的增加, 发酵液pH值降低, 各处理pH值介于6.52~7.18, 且发酵时间与pH值呈负相关; 发酵液氨态氮(NH<sub>3</sub>-N)浓度介于10.51~17.81 mg/dL, 在瘤胃微生物活动的适宜浓度范围内; 不同处理混合青贮的体外乙酸和丁酸含量差异不显著( $P > 0.05$ ), CK组丙酸含量与其他组差异显著( $P < 0.05$ )。灰色关联度分析表明: 不同比例甜叶菊秆和玉米秸秆混合青贮的体外发酵参数关联值为I组>III组>II组>IV组>CK组>V组。【结论】本试验条件下, 玉米秸秆和甜叶菊秆以90:10的比例混合时, 发酵效果最优。

**关键词:** 体外产气; 玉米秸秆; 甜叶菊秆; 混合青贮

**中图分类号:** S816.5+3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1009-5500(2023)04-0043-08

**DOI:** 10.13817/j.cnki.cyycp.2023.04.006



甜叶菊(*Stevia rebaudiana*)属菊科, 甜菊属, 甜叶菊种, 别名糖草, 甜草, 是一种多年生宿根性草本植物<sup>[1-2]</sup>。甜叶菊是我国大面积种植用于生产糖苷的一种叶用经济作物, 甜叶菊秆是制糖生产中的副产品。甜叶菊秆通常成为工业废弃物或不经任何处理作

为一种粗饲料, 直接加入家畜饲料中进行饲喂, 忽视了甜叶菊秆营养价值的进一步开发利用<sup>[1]</sup>。有效成分提取后的甜叶菊叶、秆、根经发酵粉碎, 仍含有丰富的维生素、氨基酸、蛋白质、粗纤维等, 是很好的畜禽饲料<sup>[3]</sup>, 甜叶菊甜味活性物质不参与新陈代谢、不积蓄、无毒性<sup>[4]</sup>, 而反刍动物的瘤胃微生物可以提高低品质饲料的消化率, 是秸秆等农副产品的的主要消耗者。同时, 甜叶菊作为药食同源的生态绿色植物添加剂, 具有天然型、无残留性、无抗药性的特点, 是今后养殖业发展的方向。

谢凤岩等<sup>[5]</sup>的研究表明, 在奶畜饲料中添加0.3%~0.6%甜叶菊秸秆粉, 有提高产奶量, 增加鲜奶甜度, 改善鲜奶风味和微量元素、氨基酸等物质的

收稿日期: 2021-12-05; 修回日期: 2021-12-15

基金项目: 甘肃农业大学科技创新基金(青年导师扶持基金)(GAU-QDFC-2018-04); 现代农业产业技术体系(CARS-40-09B)

作者简介: 张霞(1996-), 女, 甘肃会宁人, 硕士研究生。

E-mail: 18894012309@139.com

\*通信作者。E-mail: jiaot@gsau.edu.cn

作用。姜茂成<sup>[6]</sup>研究表明,非常规饲料的开发利用中,甜叶菊颗粒料可以在瘤胃中有效降解,并且在不影响泌乳奶牛生理状态的前提下,日粮中添加7.5%甜叶菊颗粒料产生的经济效益最佳。以往对甜叶菊秆的研究多集中于奶牛,对绵羊方面研究甚少。所以,甜叶菊秆应用于绵羊饲料作用效果的研究对促进我国畜牧业平稳发展,达到绿色生态养殖具有积极作用。同时,孙海荣<sup>[7]</sup>研究证明,通过青贮、黄贮及添加甜叶菊秸秆的方法均可以不同程度地改善绢蒿饲草的营养品质。为此本试验利用收获甜叶菊叶片的糖苷调控混合青贮饲料的营养品质及发酵特性,进行经济作物(甜叶菊秆)和农作物副产品(玉米秸秆)青贮调制,并在绵羊的日粮中按比例添加,以提升甜叶菊茎秆的附加值,提高综合利用效率,实现甜叶菊和玉米种植综合效益最大化,拓展动物粗饲料的发展方向。

混合青贮的感官评价和青贮品质的优劣不能完全反映混贮饲料的饲用价值。而体外产气法通过模拟瘤胃的发酵环境,比较饲料在体外瘤胃液的消化作

用下所产生气体如二氧化碳(CO<sub>2</sub>)、甲烷(CH<sub>4</sub>)以及体外干物质降解率(DMD)的差异,对青贮效果的评价较为全面。此方法操作步骤简便,可同时测定大量样本<sup>[8-9]</sup>,结合干物质(DM)、中性洗涤纤维(NDF)的降解率来评价则更准确<sup>[10]</sup>。本试验利用体外产气法对玉米秸秆和甜叶菊秆不同混合比例的青贮效果进行评价,探究不同比例玉米秸秆和甜叶菊秆混贮的适宜比例,以期为反刍动物饲料的配制和提高秸秆利用率提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

试验材料选择2020年10月于甘肃省靖远县乌兰镇制作的玉米秸秆和甜叶菊秆混合青贮饲料,混合比例为100:0(CK组)、90:10(I组)、80:20(II组)、70:30(III组)、60:40(IV组)和50:50(V组),混合青贮样桶装。青贮样于2020年12月开桶,采用几何法取样,65℃烘干后粉碎,过40目筛,制成试样。原料的营养成分见表1。

表1 混合青贮原料的营养成分(干物质基础%)

Table 1 Nutritional components of mixed silage materials (Dry material basis %)

营养成分	玉米秸秆:甜叶菊秆					
	100:0	90:10	80:20	70:30	60:40	50:50
干物质(DM)	95.10	96.71	96.77	96.93	97.10	97.44
粗蛋白(CP)	3.25	3.40	3.75	4.62	3.50	4.33
中性洗涤纤维(NDF)	47.77	48.15	48.17	48.61	49.71	51.36
酸性洗涤纤维(ADF)	22.40	24.27	25.75	28.70	30.51	31.51
钙(Ca)	0.65	0.70	0.67	0.77	0.61	0.61
磷(P)	0.03	0.05	0.04	0	0.10	0.06
粗灰分(Ash)	7.16	6.83	5.82	6.96	6.13	5.48

### 1.2 试验方法

1.2.1 人工瘤胃液的配制 人工瘤胃缓冲溶液的配制参考李妍等<sup>[11]</sup>方法。

1.2.2 瘤胃液的采集 瘤胃液采集于临夏回族自治州广河县三甲集镇屠宰场。于晨饲前屠宰取瘤胃液,将3只羊瘤胃液混合,用4层纱布过滤后装入保温瓶,过程中持续通入CO<sub>2</sub>保持厌氧条件,迅速带回实验室进行体外产气试验。

1.2.3 体外培养 人工瘤胃培养液的配制:将采集的瘤胃液与人工瘤胃缓冲溶液按照1:2的比例混合制成人工瘤胃培养液,同时通无氧CO<sub>2</sub>直至溶液褪为

无色。

称取试样0.5000g装入尼龙袋(6cm×4cm),为了保证测试样品的代表性,每个样品每个时间点(2、6、12、24和48h)设置3个重复,共15个重复,以空白管作为对照。装置主体为恒温人工瘤胃培养箱,发酵培养选用玻璃注射器,注射器用前洗净,烘干,标号。用镊子将尼龙袋置于100mL玻璃注射器前端,在注射器活塞中间1/3部位均匀涂抹适量的医用凡士林,以减少摩擦和防止漏气,加入新鲜混合人工瘤胃培养液30mL后,并记录相应的初始刻度值(mL),同时设置

空白组(只有培养液没有底物),待加液完毕,立即转入已预热至(39±0.5)℃的恒温人工瘤胃培养箱中培养。记录不同时间(2、6、12、24、36和48h)的玻璃注射器刻度。依次在发酵时间为2、6、12、24和48h将每个处理的尼龙袋取出,冰水冷却终止发酵反应,用自来水冲洗尼龙袋直至水澄清,然后于65℃烘箱中烘干至恒重,计算DMD。同时,将玻璃注射器中发酵液排至50mL离心管中,离心(4℃,5400r/min)15min,取上清液,测定pH后-20℃冷藏,用于测定氨态氮(NH<sub>3</sub>-N)。

### 1.3 指标测定

粗蛋白(CP)含量测定采用半微量凯氏定氮法<sup>[12]</sup>;中性洗涤纤维(NDF)和酸性洗涤纤维(ADF)含量的测定采用Van Soest法<sup>[13]</sup>;干物质(DM)含量用铝盒烘干法计算可得<sup>[14]</sup>;瘤胃液的pH值用pH计(P611型)测定<sup>[15]</sup>;氨态氮(NH<sub>3</sub>-N)浓度测定参照冯宗慈等方法<sup>[16]</sup>。

挥发性脂肪酸(VFA)是将瘤胃液在4℃以5400r/min离心10min,在1.5mL离心管内准确加入1mL离心上清液和0.2mL含有内标物2EB的25%偏磷酸溶液,混匀,冰水浴中放置30min,10000r/min离心10min,0.22μL滤膜过滤,利用气相色谱仪测定。色谱柱型号:DB-FFAP,检测条件:进样口加热器250℃,进样量1μL;检测器为FID,温度250℃;载气为高纯氮气(N<sub>2</sub>),流量25mL/min;燃气为氢气(H<sub>2</sub>),流量40mL/min;助燃气为空气,流量400mL/min。

$$\varepsilon_i(k) = \frac{\min_{\min} |X_0(k) - X_i(k)| + \rho \times \max_{\max} |X_0(k) - X_i(k)|}{|X_0(k) - X_i(k)| + \rho \times \max_{\max} |X_0(k) - X_i(k)|}$$

式中:  $\min_{\min} |X_0(k) - X_i(k)|$  为二级最小差;  $\max_{\max} |X_0(k) - X_i(k)|$  为二级最大差,  $\rho$  为分辨系数(此处为0.5)。

$$\text{等权关联度为: } \gamma_i = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n \varepsilon_i(k)$$

式中:  $n$  为测定指标数(此处为8);  $\varepsilon_i(k)$  为关联系数;  $k=1, 2, 3, \dots, 6$ 。对玉米秸秆与甜叶菊秆的混合青贮的48h体外发酵参数赋予不同的权重系数:  $W_i$

$$(k) = \frac{\gamma_i}{\sum \gamma_i}$$

产气量(GP<sub>*t*</sub>, mL/g)将各时间点的产气量换算成每克饲料干物质产气的毫升数。

$$GP_t = [(V_t - V_0) - GP_{\text{空白}}] / W$$

式中:  $V_t$  为饲料发酵  $t$  h 后, 注射器刻度(mL);  $V_0$  为饲料开始培养时空白对照注射器的读数(mL);  $GP_{\text{空白}}$  为空白对照的产气量;  $W$  为饲料干物质重(g)

干物质降解率(DMD, %) = (底物质量 - 残渣质量) / 底物质量 × 100%;

中性洗涤纤维(NDFD, %) = (底物质量 × 底物 NDF% - 残渣质量 × 残渣 NDF%) / (底物质量 × 底物 NDF%) × 100%;

酸性洗涤纤维(ADFD, %) = (底物质量 × 底物 ADF% - 残渣质量 × 残渣 ADF%) / (底物质量 × 底物 ADF%) × 100%<sup>[17]</sup>。

### 1.4 综合分析

利用灰色关联度法将6个不同比例的玉米秸秆与甜叶菊秆混合青贮的48h体外发酵参数(GP<sub>48h</sub>、DMD<sub>48h</sub>、ADFD<sub>48h</sub>、NDFD<sub>48h</sub>、NH<sub>3</sub>-N、乙酸、丙酸和丁酸)进行综合评价。

确定参考数列:  $X_0(k) = \{X_0(1), X_0(2), X_0(3), \dots, X_0(n)\}$ , 比较数列:  $X_i(k) = \{X_i(1), X_i(2), X_i(3), \dots, X_i(n)\}$ , 其中  $k=1, 2, 3, \dots, n$ ,  $n$  为测定指标数, 此处为8,  $i=1, 2, 3, \dots, m$  ( $m$  为玉米秸秆与甜叶菊秆比例, 此处为6)。

求  $X_i$  与  $X_0$  的绝对差值,  $\Delta_i(k) = |X_0(k) - X_i(k)|$ , 则理想数列  $X_0$  和比较数列  $X_i$  在  $k$  点的关联系数  $\varepsilon_i(k)$  为:

$$\text{则加权关联度为: } \gamma_i' = \sum_{k=1}^n \varepsilon_i(k) W_i(k)$$

求出关联度后, 按照关联度由大到小进行排序, 关联度越大则相似程度越高, 比较数列越接近参考数列, 添加该比例的甜叶菊秆青贮效果越好。

### 1.5 数据分析

使用 Excel 2013 对试验数据进行初步整理, SPSS 21.0 进行单因素方差分析, Duncan 氏法进行多重比较, 结果用“平均值 ± 标准差”表示,  $P < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮体外发酵产气量

结果表明,随着发酵时间的延长,总产气量逐渐升高。2~48 h, I 组产气增长速率最大,且 GP<sub>48h</sub> 最高,为 157.92 mL/g,显著高于除 II 组以外的其他组 ( $P < 0.05$ )(表 2)。

表 2 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮体外产气量

Table 2 In vitro gas production of corn stalk and stevia stalk mixed silage with different proportions

处理	GP/(mL·g <sup>-1</sup> )					
	2 h	6 h	12 h	24 h	36 h	48 h
CK 组	5.38±1.38 <sup>a</sup>	30.58±9.36 <sup>a</sup>	49.38±5.90 <sup>b</sup>	87.03±5.27 <sup>b</sup>	116.89±2.09 <sup>b</sup>	130.85±2.88 <sup>b</sup>
I 组	7.69±3.79 <sup>a</sup>	35.56±8.71 <sup>a</sup>	60.46±4.62 <sup>a</sup>	96.08±4.30 <sup>a</sup>	141.07±7.10 <sup>a</sup>	157.92±7.31 <sup>a</sup>
II 组	7.98±4.34 <sup>a</sup>	25.28±2.96 <sup>a</sup>	58.25±1.65 <sup>b</sup>	92.53±2.35 <sup>a</sup>	128.12±6.53 <sup>ab</sup>	145.74±6.60 <sup>ab</sup>
III 组	1.20±0.80 <sup>a</sup>	34.62±3.32 <sup>a</sup>	45.90±1.42 <sup>b</sup>	94.24±3.44 <sup>a</sup>	120.11±5.14 <sup>b</sup>	134.75±5.13 <sup>b</sup>
IV 组	6.48±2.48 <sup>a</sup>	29.68±6.04 <sup>a</sup>	55.62±4.01 <sup>b</sup>	98.19±2.32 <sup>a</sup>	112.92±9.31 <sup>b</sup>	130.54±2.91 <sup>b</sup>
V 组	1.99±0 <sup>a</sup>	29.43±3.47 <sup>a</sup>	30.40±7.29 <sup>c</sup>	85.33±9.69 <sup>b</sup>	117.18±3.61 <sup>b</sup>	131.14±1.63 <sup>b</sup>

注:不同小写字母表示不同处理间分别在各培养时间点存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ),下同

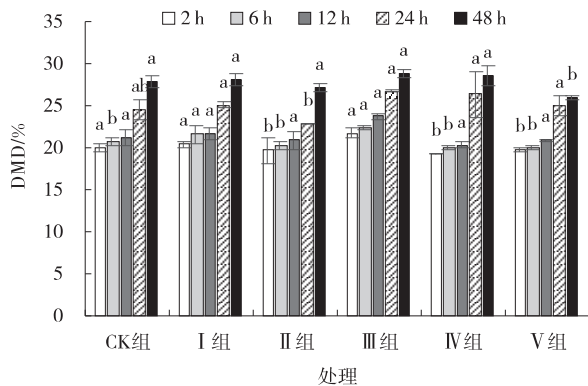


图 1 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮下 DMD

Fig. 1 Effect of different proportion of corn straw and stevia stalk mixed silage on DMD

注:不同小写字母表示不同处理间分别在各培养时间点存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ),下同

2.2.2 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮对 ADFD 的影响 随发酵时间的延长,各组 ADFD 逐渐增加,且随甜叶菊秆添加比例的增加,各处理 ADFD<sub>48h</sub> 呈先增加后降低的趋势。其中 V 组 ADFD<sub>48h</sub> 显著低于其他组 ( $P < 0.05$ )(图 2)。

2.2.3 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮对 NDFD 的影响 随甜叶菊秆添加比例的增加,各处理 NDFD<sub>48h</sub> 呈先增加后降低的趋势。其中, I 和 II 组 NDFD<sub>48h</sub> 显著高于其他组 ( $P < 0.05$ )(图 3)。

### 2.2 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮对体外养分降解率的影响

2.2.1 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮对 DMD 的影响 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮对 DMD 的影响结果(图 1)显示,随发酵时间的延长,各组 DMD 逐渐增加,其中 V 组 DMD<sub>48h</sub> 最低,显著低于其他组 ( $P < 0.05$ )。

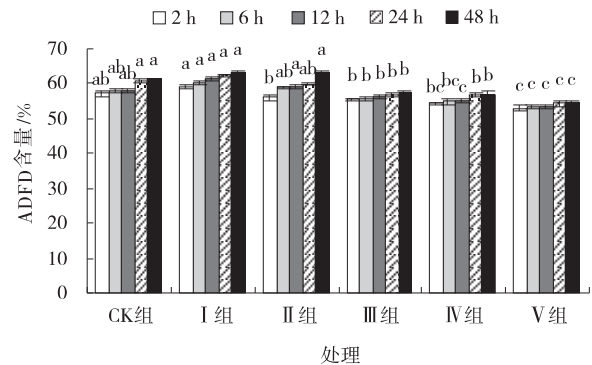


图 2 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮下 ADFD 含量

Fig. 2 Effect of different proportion of corn straw and stevia stalk mixed silage on ADFD

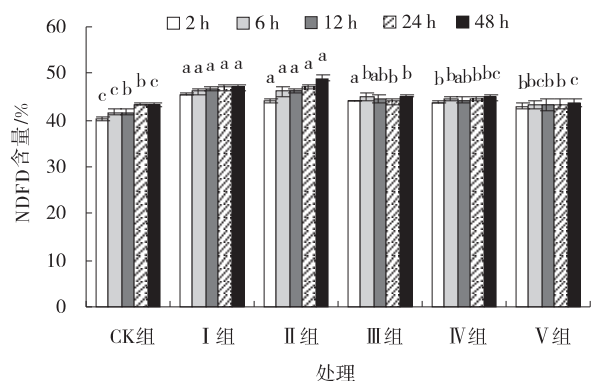


图 3 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮下 NDFD 含量

Fig. 3 Effect of different proportion of corn straw and stevia stalk mixed silage on NDFD



**2.3 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮体外发酵瘤胃液 pH 变化**

随着发酵时间的延长,各处理 pH 值呈递减趋势。

随着发酵时间的延长及甜叶菊秆添加比例的增加,pH 值变化幅度降低。各处理 pH 值介于 6.52~7.18(表 3)。

表 3 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮体外 pH 变化

Table 3 pH changes of corn stalk and stevia stalk mixed silage in vitro

项目	pH 值				
	2 h	6 h	12 h	24 h	48 h
CK 组	7.18±0.02 <sup>a</sup>	7.03±0.03 <sup>a</sup>	6.81±0.01 <sup>c</sup>	6.64±0.02 <sup>a</sup>	6.52±0.05 <sup>c</sup>
I 组	7.15±0.02 <sup>ab</sup>	7.01±0.03 <sup>a</sup>	6.86±0.02 <sup>bc</sup>	6.84±0.01 <sup>a</sup>	6.72±0.01 <sup>b</sup>
II 组	7.10±0.01 <sup>bc</sup>	7.05±0.02 <sup>a</sup>	6.95±0.02 <sup>ab</sup>	6.84±0.01 <sup>a</sup>	6.75±0.01 <sup>b</sup>
III 组	7.12±0.03 <sup>ab</sup>	7.00±0.03 <sup>a</sup>	6.95±0.04 <sup>ab</sup>	6.86±0.01 <sup>a</sup>	6.73±0.02 <sup>b</sup>
IV 组	7.12±0 <sup>b</sup>	6.99±0.01 <sup>a</sup>	6.92±0.01 <sup>ab</sup>	6.87±0.02 <sup>a</sup>	6.73±0.04 <sup>b</sup>
V 组	7.04±0.01 <sup>c</sup>	7.01±0.02 <sup>a</sup>	7.01±0.07 <sup>a</sup>	6.87±0.01 <sup>a</sup>	6.84±0.03 <sup>a</sup>

**2.4 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮体外发酵液 NH<sub>3</sub>-N 变化**

CK、I、II 和 III 组随发酵时间的延长,NH<sub>3</sub>-N 浓度

先降低后增加,V 组 NH<sub>3</sub>-N 浓度变化与发酵时间呈正相关,NH<sub>3</sub>-N 浓度介于 10.51~17.81 mg/dL(表 1)。

表 4 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮下体外 NH<sub>3</sub>-N 含量变化

Table 4 Changes of NH<sub>3</sub>-N in vitro of corn stalk and stevia stalk mixed silage

项目	NH <sub>3</sub> -N/(mg·dL <sup>-1</sup> )				
	2 h	6 h	12 h	24 h	48 h
CK 组	13.32±0.32 <sup>a</sup>	13.16±0.38 <sup>a</sup>	11.6±0.45 <sup>a</sup>	16.11±1.23 <sup>a</sup>	16.61±0.29 <sup>ab</sup>
I 组	12.28±0.1 <sup>ab</sup>	11.49±0.75 <sup>a</sup>	11.49±0.24 <sup>a</sup>	12.82±0.58 <sup>b</sup>	16.68±0.36 <sup>ab</sup>
II 组	12.07±0.08 <sup>abc</sup>	12.24±0.47 <sup>a</sup>	11.34±1.55 <sup>a</sup>	13.87±0.99 <sup>ab</sup>	16.08±0.62 <sup>ab</sup>
III 组	12.62±0.15 <sup>ab</sup>	12.5±1.14 <sup>a</sup>	13.23±0.47 <sup>a</sup>	15.07±0.17 <sup>ab</sup>	17.53±0.13 <sup>a</sup>
IV 组	10.51±1.16 <sup>c</sup>	12.92±0.25 <sup>a</sup>	13±0.06 <sup>a</sup>	15.61±0.38 <sup>ab</sup>	15.22±1.07 <sup>b</sup>
V 组	11.22±0.41 <sup>bc</sup>	12.21±0.46 <sup>a</sup>	13.14±0.94 <sup>a</sup>	15.14±0.13 <sup>ab</sup>	17.81±0.45 <sup>a</sup>

**2.5 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮发酵 48 h 体外发酵瘤胃液 VFA 含量变化**

不同比例玉米秸秆和甜叶菊秆混合青贮的体外乙酸和丁酸含量之间差异不显著,CK 组具有最低丙酸含量(12.43 mmol/L),除 I 组和 II 组外,其他组与 CK 组差异显著(P<0.05)(图 4)。

**2.6 灰色关联度综合评价**

由表 5 可知,不同比例甜叶菊秆和玉米秸秆混合青贮的体外发酵参数关联值为 I 组>III 组>II 组>IV 组>CK 组>V 组,等权关联只有在各指标同等重要的情况下反映其青贮营养品质和体外发酵好坏,给各指标赋予权重系数,加权关联度可真实反映该混合青贮比例处理与最优指标集间的差异大小,各混合青贮比例处理的等权关联度与加权关联度的排序一致。

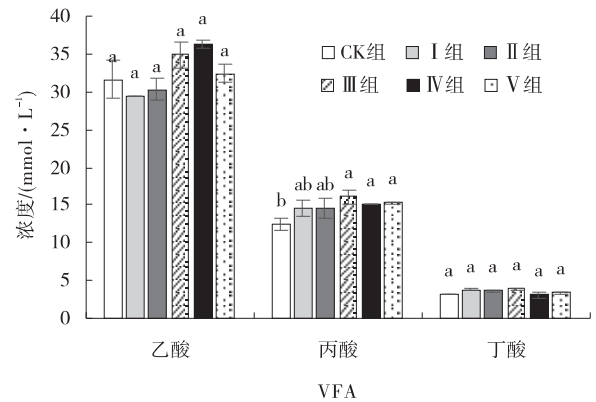


图 4 玉米秸秆与甜叶菊秆不同比例混合青贮下体外 VFA 浓度

Fig 4 Changes of VFA content of corn stalk and stevia stalk mixed silage in vitro

**3 讨论**

瘤胃中产生的气体主要包括 CH<sub>4</sub>和 CO<sub>2</sub>,前者约占 20%,后者约占 70%。产气量是一个综合反映饲料

表5 不同比例甜叶菊秆和玉米秸秆混合青贮的体外发酵参数的等权关联度、加权关联度和排序

Table 5 Equal weight correlation degree, weighted correlation degree and ranking of fermentation parameters in vitro of stevia stalk and corn stalk mixed silage with different proportions

处理	等权关联度	排序	权重系数	加权关联度	排序
CK组	0.066 7	5	0.138 6	0.533 7	5
I组	0.091 8	1	0.190 7	0.734 6	1
II组	0.085 8	3	0.178 1	0.686 2	3
III组	0.090 3	2	0.187 5	0.722 2	2
IV组	0.084 9	4	0.176 3	0.679 2	4
V组	0.062 0	6	0.128 8	0.496 0	6

发酵程度的重要指标,还可以反映出瘤胃微生物活动的趋势。饲料的可发酵程度越高,微生物的活力越高,产气量也就越大<sup>[18]</sup>,产气量在一定程度上也反映了饲料在反刍动物瘤胃内的可消化性及降解特性<sup>[19]</sup>,且一定时间内产气量的多少反映了底物被微生物利用的程度,代表底物营养价值的高低<sup>[20]</sup>。体外产气试验中,试验组较对照组产气量高,表明添加一定量的甜叶菊秆能促进瘤胃微生物活力,从而促进产气量增加。其中,添加10%甜叶菊秆有最高的GP<sub>48h</sub>。当甜叶菊秆添加比例大于10%时,由于组合饲料非结构性碳水化合物过高,发酵受到抑制,48 h累积产气量则降低。

饲料中养分消化率代表着饲料被微生物利用的程度,消化率越高,说明饲料在瘤胃中发酵的越好<sup>[18]</sup>。本试验中,随发酵时间的延长,DMD和ADFD逐渐递增。添加10%、30%和40%甜叶菊秆DMD<sub>48h</sub>均高于对照,添加10%和20%甜叶菊秆ADFD<sub>48h</sub>高于对照,对照组NDFD<sub>48h</sub>低于添加甜叶菊秆组。表明添加甜叶菊秆能够增加瘤胃微生物对底物的利用效率,而且产气量的增加也印证了DMD增加。甜叶菊秆添加比例占10%和20%,体外ADFD<sub>48h</sub>和NDFD<sub>48h</sub>增加。甜叶菊秆添加比例占30%、40%和50%,体外ADFD<sub>48h</sub>和NDFD<sub>48h</sub>下降。可能添加低比例甜叶菊秆使瘤胃内纤维分解菌数量增加,有利于纤维物质在瘤胃内的分解。这与何力等<sup>[21]</sup>研究结果一致。而随着甜叶菊秆添加比例的增加,甜叶菊木质化茎秆含量增加,导致混合青贮中的纤维含量增加,不利于纤维分解菌的分解。这与秦龙<sup>[22]</sup>研究结果相同。

pH值是反映瘤胃内环境稳态的主要指标。pH值

过高或过低对瘤胃微生物的生长、繁殖和发酵均产生影响。一般正常瘤胃液的pH值范围为5.5~7.5<sup>[23]</sup>。本试验发酵液的pH值都在正常范围内(6.52~7.18),表明添加甜叶菊秆不会对瘤胃pH值产生影响,对维持瘤胃内环境稳态有积极作用,且体外瘤胃发酵水平良好。pH值随着体外培养时间的延长而呈下降趋势,这一结果与王潍波等<sup>[23]</sup>研究结果一致。这种结果可能由于利用体外静态发酵培养法,使微生物发酵产生的VFA不能及时被吸收,随着培养时间的推移VFA在发酵体系中逐渐聚积,导致瘤胃pH值逐渐下降。但动物机体通过自身的稳衡机制,使瘤胃液pH值保持在一定范围内,确保瘤胃微生物区系的正常繁殖和所采食饲料的消化吸收<sup>[24]</sup>。

NH<sub>3</sub>-N是瘤胃内蛋白质和内外源尿素分解的终产物,也是微生物合成蛋白质的原料,瘤胃中适宜的NH<sub>3</sub>-N浓度有利于菌体蛋白的合成<sup>[23]</sup>。最适宜微生物活动的NH<sub>3</sub>-N浓度为0.35~29 mg/dL<sup>[25]</sup>,本试验中,各处理NH<sub>3</sub>-N浓度介于10.51~17.81 mg/dL,在微生物适宜活动的浓度范围内,说明玉米秸秆和甜叶菊秆组合在体外瘤胃中可正常发酵。不同比例玉米秸秆和甜叶菊秆混合青贮对氨态氮浓度影响不大,且随着甜叶菊秆添加比例不同结果不同,有的降低有的增高,这与食糜后送速率在瘤胃内的滞留时间有关<sup>[26]</sup>。

VFA是瘤胃微生物主要的发酵产物,为反刍动物提供了大部分的能量,同时,还参与体内的物质代谢,也是其生长、繁殖、泌乳等方面的能量来源,占能量总量的70%~80%,主要包括乙酸、丙酸和丁酸,三者约占总挥发性脂肪酸(TVFA)的95%<sup>[27]</sup>。当瘤胃中

TVFA提高时,可以间接说明瘤胃底物消化率提高,瘤胃发酵效果较好,尤其是丙酸含量相对增加时,表明能量利用率也同步上升,VFA比例和产量很大程度上会影响营养物质的吸收<sup>[28]</sup>。试验中,不同比例玉米秸秆和甜叶菊秆混合青贮的体外乙酸和丁酸含量之间差异不显著,对照组丙酸含量显著低于其他处理( $P < 0.05$ ),但三者的总量增加。说明添加甜叶菊秆能够改善瘤胃发酵能力,发酵生成的丙酸有助于提高反刍动物的生产性能,进而提高青贮饲料发酵品质和营养价值,甜叶菊秆中黄酮类物质或绿原酸等活性物质成分还可减少瘤胃内原虫数量,改变瘤胃微生物环境,对瘤胃发酵模式有良好的引导作用,进而改善动物的生长性能<sup>[29]</sup>。但据赵晓静等<sup>[30]</sup>研究发现日粮中添加糖类物质可能改变瘤胃微生物菌群,影响瘤胃微生物发酵,进而提高VFA的量。本试验中VFA含量的增加是否与甜叶菊秆中的糖类物质有关,其作用机制尚需要进一步研究。

## 4 结论

本试验研究表明,玉米秸秆青贮调制添加甜叶菊秆能够改善瘤胃发酵能力,并能够增加瘤胃发酵体系,可开发作反刍动物饲料。玉米秸秆和甜叶菊秆混合比例为90:10发酵效果最优。

### 参考文献:

- [1] 张正鹏. 浅谈甜叶菊副产品的开发利用[J]. 中国糖料, 2015,37(6):79-80.
- [2] 龙庆海,何永垠,王国平等. 甜叶菊优质高产种植技术[J]. 特种经济动植物, 2009,12(3):34-36.
- [3] 彭涛,丁辉,宋巧. 浅谈甜叶菊的功能及应用前景[J]. 甘肃农业, 2017(22):37-38.
- [4] 丁宁,郝再彬,陈秀华,等. 甜叶菊及其糖苷的研究与发展[J]. 上海农业科技, 2005(4):8-10.
- [5] 谢凤岩,王桂杰. 奶牛日粮中添加甜叶菊秆粉对奶牛泌乳性能的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2010(12):106.
- [6] 姜茂成. 甜叶菊颗粒料的瘤胃降解特性及对泌乳奶牛生产性能的影响[D]. 扬州:扬州大学, 2019.
- [7] 孙海荣. 青贮、黄贮及添加甜叶菊茎秆改善绢蒿饲草品质效果研究[D]. 石河子:石河子大学, 2020.
- [8] 祁有鹏,左志,石斌刚,等. 粗饲料颗粒替代玉米青贮对肉牛瘤胃发酵及微生物菌群的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2021,56(2):50-60.
- [9] 张元庆,靳光,王栋才,等. 体外产气法和尼龙袋法评价5种全株玉米青贮的饲用价值[J]. 动物营养学报, 2019,31(12):5682-5687.
- [10] 涂远璐,汤海江,樊磊,等. 体外产气法评价菊花粕、葡萄籽粕、杏鲍菇菌渣、豆腐渣的饲用价值[J]. 动物营养学报, 2019,31(3):1376-1384.
- [11] 李妍,韩肖敏,李建国,等. 体外法评价玉米秸秆、谷草和玉米秸秆青贮饲料组合效应研究[J]. 草业学报, 2017,26(5):213-223.
- [12] 于菲,张建设,赵帅兵,等. 一种快速测定饲料中粗蛋白质方法的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2019(1):61-63.
- [13] Van Soest P J. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition[J]. Journal of Dairy Science, 1991,74(10):3583-3597.
- [14] 杜艳华,陈建修,薛俊,等. 农作物种子水分检测中铝盒烘干方法的探讨和实践[J]. 农业开发与装备, 2018(3):108-109.
- [15] 傅彤,刘庆生,范志影,等. 应用离子色谱测定青贮饲料中有机酸含量的研究[J]. 中国畜牧兽医, 2005(5):16-17.
- [16] 冯宗慈,高民. 通过比色测定瘤胃液氨氮含量方法的改进[J]. 畜牧与饲料科学, 2010,31(Z1):37.
- [17] 孟梅娟,涂远璐,白云峰等. 小麦秸秆与米糠粕瘤胃体外发酵组合效应研究[J]. 草业学报, 2016,25(09):161-172.
- [18] 张一为. 体外法评价奶牛日粮中苹果渣麦秸青贮与玉米青贮的组合效应[D]. 保定:河北农业大学, 2015.
- [19] 茹彩霞. 模拟瘤胃条件下苜蓿对粗饲料产气特性和发酵特性的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2006.
- [20] 余苗,钟荣珍,周道玮,高凤仙. 不同生育期虎尾草的体外发酵产气特性[J]. 草业科学, 2014,31(5):956-964.
- [21] 何力,计少石,张志红,等. 穿心莲药渣和甜叶菊渣对羊瘤胃体外发酵的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2017,53(7):86-89.
- [22] 秦龙,姜宁,张爱忠,等. 瘤胃纤维分解菌对反刍动物粗饲料利用的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017(19):57-60.
- [23] 王潍波,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.
- [24] 许丽,滕冰,叶建敏,等. 缓释尿素对绵羊瘤胃液理化指标的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2001(5):1-3.

- [25] 阿依古丽·艾买尔,王娇,张苏红. 不同品种甜高粱青贮体外产气量及瘤胃降解特性比较[J]. 甘肃农业大学学报,2020,55(1):7-12.
- [26] 袁章琴,谭支良,沈辰辰. 烷基多糖苷添加水平对山羊瘤胃发酵特性的影响[J]. 动物营养学报,2009,21(6):872-877.
- [27] 周贤,郭晓军,郭威,等. 饲喂发酵玉米秸秆对羊瘤胃发酵功能的影响[C]//第四届中国草业大会论文集. 中国畜牧业协会草业分会:中国畜牧业协会,2016:112-117.
- [28] 孙红梅,郝力壮,冯宇哲,等. 反刍家畜甲烷排放日粮影响因素及其抑制措施[C]//中国畜牧兽医学会家禽生态学分会学术研讨会论文集. 中国畜牧兽医学会,2014:7.
- [29] 李书仪,刘旺景,丁赫,等. 植物提取物在肉羊生产中的应用[J]. 动物营养学报,2020,32(2):558-565.
- [30] 赵晓静,李建国,李秋风,等. 甘露寡糖对犊牛粪便菌群影响的研究[J]. 中国畜牧杂志,2007(5):31-34.

## Evaluation of feeding value for mixed silage of corn straw and stevia straw by in vitro gas production method

ZHANG Xia<sup>1</sup>, JIAO Ting<sup>1\*</sup>, MA Shu-min<sup>1</sup>, CHEN Xin<sup>1</sup>, WANG Zheng-wen<sup>2</sup>, MU Ren<sup>1</sup>, ZHAO Sheng-guo<sup>2</sup>, LIN Wei-shan<sup>3</sup>

(1. College of Pratacultural Science, Gansu Agricultural University/Key Laboratory for Grassland Ecosystem of Ministry of Education/Sino-U. S. Centers for Grazingland Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China;

2. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;

3. Qinghai University, Xining 810016, China)

**Abstract:** In order to study the silage quality of mixed corn stalk and stevia stalk, an in vitro gas production method was used to evaluate the silage feeding value of corn stalk and stevia stalk mixed at 100:0(CK group), 90:10(I group), 80:20(II group), 70:30(III group), 60:40(IV group) and 50:50(V group). The results showed that with the extension of fermentation time, the total gas production in each group increased gradually. The growth rate of gas production in group I was the highest, especially at 48 h(GP<sub>48h</sub>) which was significantly higher than other groups except the II group( $P<0.05$ ). With the extension of fermentation time, dry matter digestibility(DMD) and acid detergent fiber digestibility(ADFD) increased. DMD<sub>48h</sub> and ADFD<sub>48h</sub> in group V was significantly lower than that in other groups( $P<0.05$ ). The neutral detergent fiber degradability(NDFD<sub>48h</sub>) and ADFD<sub>48h</sub> increased first and then decreased with the increase of stevia proportion. NDFD<sub>48h</sub> in groups I and II was significantly higher than those in other groups( $P<0.05$ ). As the adding stevia increasing, the silage pH reduced ranging from 6.52 to 7.18, which was negatively correlated with fermentation time. The concentration of ammonia nitrogen(NH<sub>3</sub>-N) was between 10.51 mg/dL and 17.81 mg/dL, but within the normal range of microorganisms growth. The acetic acid and butyric acid content in mixed silages of different treatments differed significantly ( $P>0.05$ ). Comprehensive grey correlation analysis showed that the order of mixed silage of stevia and corn straw with different proportions was I Group>III Group>II Group>IV Group>CK Group>V Group. Above all, the ratio of corn stalk and stevia stalk at 90:10, the fermentation effect was the best.

**Key words:** in vitro gas production; corn straw; stevia stem; mixed silage