

文章编号:1005-0930(2023)03-0635-015 中图分类号:U442.5;U441.3 文献标识码:A  
doi:10.16058/j.j.issn.1005-0930.2023.03.009

# 不同温度下添加植物乳杆菌对 花椰菜尾菜青贮质量的影响

张丙云<sup>1</sup>, 丁闻浩<sup>1</sup>, 孙亚楠<sup>1</sup>, 任海伟<sup>1,2,3</sup>,  
李金平<sup>2,3</sup>, 李志忠<sup>1</sup>

(1.兰州理工大学生命科学与工程学院,甘肃 兰州 730050;2.甘肃省生物质能与太阳能互补供能系统重点实验室,甘肃 兰州 730050;3.西北低碳城镇支撑技术协同创新中心,甘肃 兰州 730050)

**摘要:**从有机组分、发酵特性和微生物菌群等角度,探讨不同环境温度(20℃、25℃、30℃、35℃、40℃和45℃)下接种植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*, LP)菌剂对花椰菜尾菜青贮质量的影响,并建立微生物菌群与青贮品质参数之间的关联性.结果表明,添加LP菌剂(LP组)能显著增加干物质和粗蛋白含量(除45℃),提高青贮发酵的乳酸含量,降低pH值和氨氮含量.中低温(20~35℃)环境下,LP组的干物质、可溶性碳水化合物和粗蛋白含量均显著高于对照组(CK组).高温(40℃和45℃)环境下,LP组的中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维和纤维素等木质纤维组分含量明显高于CK组,相对饲用价值明显下降;而且LP组的乳酸/乙酸、乳酸/总有机酸也低于CK组,说明高温条件下LP组的乳酸发酵强度有所减弱.青贮30d时厚壁菌门细菌占据主导优势,LP组的乳酸细菌丰度显著高于CK组(除45℃),尤其在环境温度30℃和35℃时LP组的乳酸菌群相对丰度高达90%以上,乳酸发酵态势良好.乳杆菌(*Lactobacillus*)是青贮过程的主要乳酸菌属,其丰度值与中性洗涤纤维、酸性洗涤木质素含量呈负相关,与乳酸含量呈正相关.总之,温度和LP菌剂对青贮品质均有显著影响,中低温环境添加LP菌剂能有效改善青贮质量,提高相对饲用价值.建议实际生产时花椰菜尾菜青贮优选30~35℃.

**关键词:**植物乳杆菌;花椰菜尾菜;青贮温度;发酵品质;微生物菌群;高通量测序

我国是蔬菜种植大国,以甘肃、青海为主产区的“高原夏菜”具有色泽好、品质优、营养丰富等特点,已发展成为重要的地域特色产业.其中,甘肃省的高原夏菜种植面积每年超过2000km<sup>2</sup>,总产量可达500多万吨;加上秋冬季节温室等设施农业带动,全年蔬菜产

收稿日期:2021-05-13;修订日期:2021-11-05

基金项目:国家自然科学基金项目(51366009);陇原青年创新创业人才项目(2019-39-GR28);兰州理工大学红柳杰出青年人才支持计划(JQ2020)和一流学科计划(0807J1)

作者简介:张丙云(1968—),女,硕士,副教授.E-mail:zhang.b.y@163.com.

通信作者:任海伟(1983—),教授.E-mail:rhw52571119@163.com

量接近  $2\ 800\times 10^4\text{t}$ , 为人们提供丰富蔬菜产品的同时还有效促进了农民脱贫增收. 花椰菜作为高原夏菜主要栽培种类之一, 种植面积高达  $2.86\times 10^4\text{hm}^2$ , 在种植、初加工、流通、销售等环节产生尾菜量约  $4.70\text{t}/\text{hm}^2$ , 是单位面积产生尾菜数量最多的品种之一, 处理不及时极易造成农业面源污染和生态环境破坏<sup>[1-2]</sup>. 而更重要的是, 花椰菜尾菜富含水分和养分, 长时间露天堆放容易腐烂变质, 直接还田也会传播病虫害从而影响下茬作物, 因此只有高效及时处理才能减少环境危害<sup>[3-4]</sup>. 目前, 尾菜资源的处理主要包括饲料化、肥料化、基质化、原料化和能源化等利用途径; 但无论哪种方式都会面临尾菜无法及时安全处置的窘境, 很大程度阻碍了尾菜资源的转化利用<sup>[5]</sup>.

青贮作为一种传统的微生态保存技术, 能通过乳酸菌群等优势微生物发酵产生有机酸, 使 pH 值迅速下降从而抑制腐败微生物生长, 并有效保存营养成分. 研究表明, 原料理化性质、环境温度、乳酸菌种类和数量等因素均会影响青贮品质<sup>[6]</sup>. 其中, 环境温度是青贮发酵的重要影响因子之一, 乳酸菌的最适温度为  $20\sim 37^\circ\text{C}$ , 超过此范围则会影响其生长繁殖<sup>[7]</sup>. Wang 等<sup>[8]</sup>发现温度对辣木叶青贮品质有显著影响,  $30^\circ\text{C}$  时青贮的干物质损失以及乙酸和氨氮含量均明显高于  $15^\circ\text{C}$ . 徐生阳等<sup>[9]</sup>发现随着温度由  $10^\circ\text{C}$  升到  $40^\circ\text{C}$ , 全混合日粮青贮发酵的 pH 值显著降低, 乙酸和丙酸含量均有不同程度的升高. Ashbell 等<sup>[10]</sup>发现  $45^\circ\text{C}$  高温环境青贮会增加小麦和玉米的干物质损失, 导致 pH 值升高和有氧稳定性下降. Zhou 等<sup>[11]</sup>认为低温  $10^\circ\text{C}$  限制了青贮发酵, 当温度从  $5^\circ\text{C}$  升至  $20^\circ\text{C}$  时, 多数青贮特性参数无显著变化; 但  $20^\circ\text{C}$  以上青贮时的乳酸菌落数量显著增加, 乙酸含量、pH 值和水溶性碳水化合物快速下降, 良好青贮发酵得以恢复. Liu<sup>[12]</sup>认为相较于  $30^\circ\text{C}$  和  $45^\circ\text{C}$ , 高水分象草在  $15^\circ\text{C}$  条件下青贮具有较低的 pH 值和氨氮含量, 并能显著提高乳酸含量和 V-score 评分, 改善发酵品质. 张越等<sup>[7]</sup>认为以乳杆菌 (*Lactobacillus*) 为主的乳酸菌复合菌系较片球菌 (*Pediococcus*)、明串珠菌 (*Leuconostoc*) 和乳杆菌 (*Lactobacillus*) 组成的复合菌系对温度适应性更强, 在  $10^\circ\text{C}$  和  $25^\circ\text{C}$  时均能更好地保存燕麦中的营养成分. 另一方面, 乳酸菌添加剂能有效地改善发酵青贮质量, 一般认为  $1\times 10^5\text{cfu}/\text{g}$  乳酸菌添加量能抑制青贮附生乳酸菌而成为优势种群. 王旭哲等<sup>[13]</sup>发现单一添加异型发酵乳酸菌 (*L. buchneri*, 添加量为  $1\times 10^5\text{cfu}/\text{g}$ ) 的玉米青贮品质要优于添加同型 (*L. plantarum* 和 *P. acidilactici*) 或复合添加乳酸菌 (*P. acidilactici*, *L. plantarum* 和 *L. buchneri*) 的玉米青贮, 有害微生物数量也少. 此外, 原料水分含量的差异也会影响微生物菌群和青贮品质. 高水分物料较难直接青贮, 一般通过晾晒、萎蔫、添加剂、与秸秆或干草等低水分原料混贮等方式改善青贮质量, 从而避免梭菌等不良微生物生长繁殖所引起的蛋白水解和丁酸积累<sup>[14]</sup>. Mu 等<sup>[15]</sup>发现高水分苋菜和稻秸混合青贮过程中添加植物乳杆菌能显著降低青贮 pH 值、乙酸和氨氮含量, 并有效提升乳酸浓度. 李荣荣等<sup>[16]</sup>认为  $15^\circ\text{C}$  贮藏条件可在一定程度上改善高水分苜蓿青贮的发酵品质, 保存苜蓿的营养价值.

为实现不同季节尾菜处置的安全快速, 本文模拟环境气候系统研究了不同温度时接种植物乳杆菌对花椰菜尾菜青贮质量的影响, 通过分析青贮过程中有机组分、发酵特性和微生物菌群的差异性, 探索花椰菜尾菜青贮质量对温度、接种植物乳杆菌等环境因素的响应机制, 为不同季节温度下的尾菜青贮生产提供理论依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

花椰菜尾菜取自兰州市七里河区农户,收集后迅速切碎至 2cm×2cm,初始水分含量为 89.57%,主要有机组分的质量分数如表 1 所示.青贮菌剂植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*, LP) 为本实验室分离鉴定,37℃ 恒温活化后配制成浓度为  $6.0 \times 10^8$  cfu/mL 菌液.

表 1 花椰菜尾菜的化学组分  
Table 1 Chemical composition of cauliflower waste

组分	干物质 (Dry matter, DM)	可溶性碳水化合物 (Water soluble carbohydrate, WSC)	粗蛋白 (Crude protein, CP)	中性洗涤纤维 (Neutral detergent fiber, NDF)
含量/(g/kg)	104.24±3.78	122.58±2.84	232.81±3.19	416.31±11.14
组分	酸性洗涤纤维 (Acid detergent fiber, ADF)	酸性洗涤木质素 (Acid detergent lignin, ADL)	纤维素 (Cellulose, CEL)	半纤维素 (Hemicellulose, HC)
含量/(g/kg)	300.92±1.45	72.37±7.78	228.56±8.21	115.39±10.14

注:干物质含量以湿基来表示(g/kg FW),其余化学组分含量以干物质为基准(g/kg DM),下同.

### 1.2 青贮试验设计与取样

试验设置对照组(CK)和添加剂组(LP).依据青贮发酵原理,称取 1kg 切碎的花椰菜尾菜,均匀喷洒 100mL 植物乳杆菌菌液,接种量为  $6 \times 10^6$  cfu/kg,混匀后迅速填装、压实、密封,避光贮存 2.7L 于青贮容器中,分别置于 20℃、25℃、30℃、35℃、40℃、45℃ 恒温环境青贮发酵 30d.对照组(CK)喷洒等体积蒸馏水,每个温度试验组设 3 个平行.不同温度青贮发酵结束后按照四分法取样,分析化学组成、发酵特性和微生物菌群.

### 1.3 实验方法

**1.3.1 化学成分和发酵品质分析** 参考 Wang 等<sup>[17]</sup>方法测试干物质、可溶性碳水化合物(WSC)、总氮(TN)、酸性洗涤纤维(ADF)、中性洗涤纤维(NDF)和酸性洗涤木质素(ADL)等组分.粗蛋白(CP)含量=总氮×6.25;纤维素(CEL)、半纤维素(HC)、综纤维素(HoC)以及相对饲用价值(Relative Feed Value,RFV)计算参考任海伟等<sup>[18]</sup>报道的方法.

青贮浸提液的 pH 值采用丹佛 UB-7 型酸度计测定;氨氮采用苯酚-次氯酸钠比色法测定;乳酸、乙酸、丙酸和丁酸等有机酸分析采用高效液相色谱法<sup>[18]</sup>.费氏评分<sup>[19]</sup>(Fleig score,FS)计算公式为

$$FS = 220 + [2 \times DM(\%) - 15] - (40 \times \text{pH}) \quad (1)$$

**1.3.2 微生物多样性分析** 无菌环境下,准确称取 20g 青贮样品用于微生物菌群的 DNA 提取,进行 PCR 扩增后将产物送至北京百迈客生物技术有限公司使用 Illumina HiSeq 2500 平台进行基于 16S rDNA 的基因组测序.选定相对丰度高于 0.1% 的细菌作菌群微生物生态分布图,并从门、属水平进行多样性分析<sup>[20]</sup>.使用 R 语言软件进行热图分析,探讨微生物菌群与化学成分、发酵特性参数之间关系.

### 1.4 数据分析

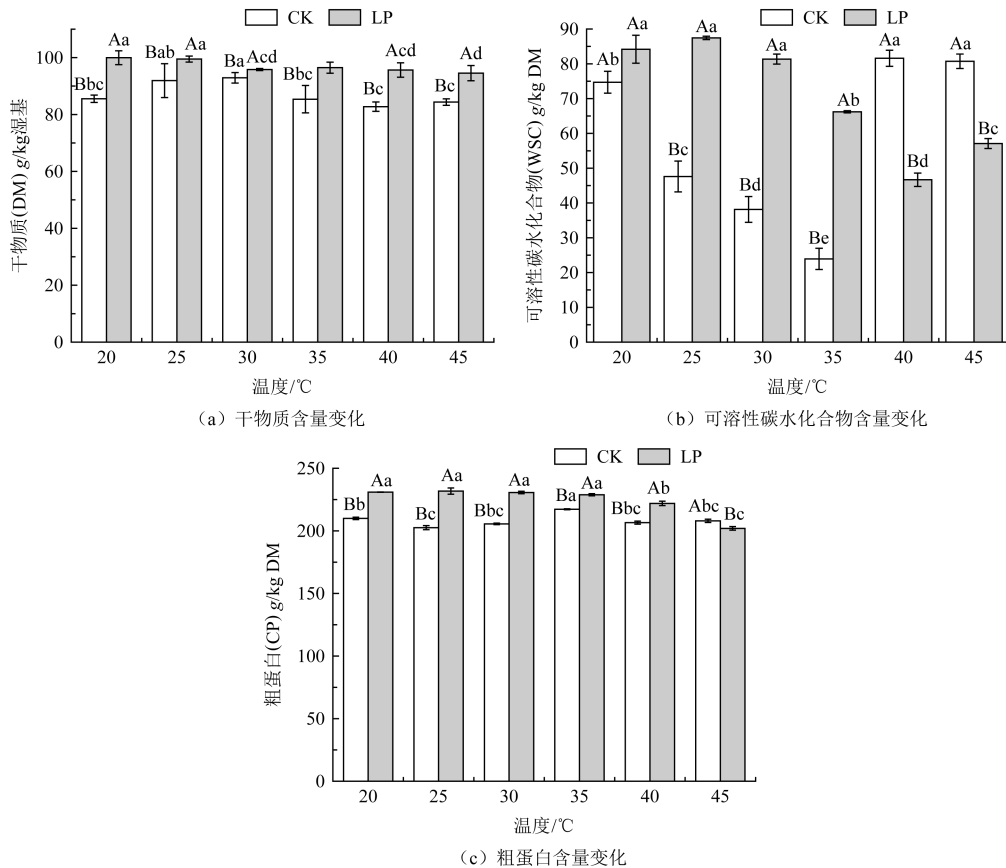
基础数据经 Excel 2007 软件整理并用 SPSS 20.0 软件进行分析,结果用平均值±标准

差表示.对不同处理组数据进行单因素和一般线性模型分析, $P<0.05$  代表差异显著, $P<0.01$  代表差异极显著, $P>0.05$  代表差异不显著.

## 2 结果分析

### 2.1 青贮后营养组分的变化

由图 1(a)可知,在试验设计温度范围内,CK 组干物质含量随温度升高而呈现先升高后下降趋势,30℃时干物质含量最高为 92.90g/kg;LP 组干物质含量则随温度升高呈现下降的趋势.LP 组中干物质含量均显著高于 CK 组( $P<0.05$ ),说明添加植物乳杆菌有助于加快青贮发酵产酸速率,从而抑制梭菌等不良微生物繁殖,从而减少干物质损耗,这与李小铃等<sup>[21]</sup>研究结果吻合.



(同列不同小写字母表示相同处理组内不同温度之间差异显著( $P<0.05$ ),  
不同大写字母表示不同处理组之间差异显著( $P<0.05$ ),下同)

图 1 温度和添加植物乳杆菌对青贮中干物质、可溶性碳水化合物和粗蛋白含量的影响

Fig.1 Effect of temperature and *Lactobacillus plantarum* on the content of dry matter, water-soluble carbohydrate and crude protein in silages of cauliflower waste

可溶性碳水化合物(WSC)是发酵过程中微生物菌群繁殖代谢的重要底物,优良青贮

的WSC含量要求为80~100g/kg DM,低于30g/kg DM则无法成功青贮,低糖条件下会促进梭菌活性,使丁酸含量升高而导致腐败<sup>[22]</sup>.原料花椰菜尾菜中的WSC含量高达122.58g/kg,青贮初期足以满足被乳酸菌转化利用为有机酸(主要是乳酸)并迅速降低pH值的要求.由图1(b)可知,在中温(20~30℃)状态下,LP组的WSC含量显著高于CK组( $P<0.05$ ),说明在25~35℃温度范围内,植物乳杆菌能使花椰菜尾菜青贮中的WSC得到有效保存.随着温度升高,LP组中WSC含量显著下降( $P<0.05$ ),且在40℃和45℃时显著低于CK组( $P<0.05$ ).这是由于40℃以上高温区间已明显超过乳酸菌的正常生长温度<sup>[23]</sup>,导致乳酸菌不再成为优势菌群,此时腐败微生物快速生长繁殖,WSC消耗量不断增加,并使其pH值升高.另一方面,CK组中的WSC含量随温度升高呈现先降低再增加的趋势,这也说明青贮发酵温度影响微生物菌群对WSC的消耗代谢<sup>[24]</sup>.有学者研究发现<sup>[25]</sup>,即使是同一种青贮物料,乳酸菌剂和温度等因素对青贮发酵特性和微生物群落生态也有很大影响,因为添加剂和温度会直接影响青贮微生物的群落结构和演绎规律,进而形成不同的有机组分变化趋势,也造成CK组和LP组中WSC含量变化趋势不同.

粗蛋白(CP)含量也是反映花椰菜青贮的重要指标之一.由图1(c)可知,除45℃外,其余温度青贮的LP组中粗蛋白含量显著高于CK组( $P<0.05$ ),说明添加植物乳杆菌能有效阻止花椰菜尾菜青贮期间粗蛋白的分解与损失.但45℃青贮时LP组的粗蛋白含量显著低于CK组( $P<0.05$ ),这可能是由于高温环境能促进梭菌尤其是蛋白质利用型梭菌的增殖,蛋白质被分解为氨、有机酸及生物胺等物质所致<sup>[26]</sup>,这与李荣荣等<sup>[16]</sup>研究结果一致.另一方面,CK组中的粗蛋白含量随温度升高总体呈现先升高后降低的趋势,35℃时含量最高为217.41g/kg DM;此时LP组的粗蛋白含量也达到229g/kg DM.因为相较其他温度,35℃青贮时乳酸菌群活性高、产酸能力强,从而有效抑制不良微生物菌群生长繁殖,减少粗蛋白损失.总之,添加植物乳杆菌能使干物质和粗蛋白组分得到有效保存,减少可溶性碳水化合物的消耗损失.

## 2.2 青贮后木质纤维组分含量变化

木质纤维组分是评价青贮前后饲用价值和生物降解能力的关键指标.研究表明,对于高水分物料,较低的中性洗涤纤维含量(38%以下)和一定的酸性洗涤纤维含量(33%以下)有利于提高青贮料的消化降解率<sup>[27-28]</sup>.如表2所示,在20~30℃范围时,LP组的中性洗涤纤维含量显著低于CK组( $P<0.05$ ),但在35~45℃区间显著高于CK组( $P<0.05$ ).除25℃和30℃,LP组的酸性洗涤纤维含量显著高于CK组( $P<0.05$ ).此外,在25℃、40℃、45℃青贮时,LP组中酸性洗涤木质素的含量也显著高于CK组( $P<0.05$ ).另一方面,CK组中酸性洗涤纤维、酸性洗涤木质素和纤维素的含量均随着温度的增加呈现先升高后下降的趋势,30℃时均达到最高值,分别为274.02g/kg DM、31.79g/kg DM、242.22g/kg DM;而中性洗涤纤维含量则随温度增加总体呈现下降趋势.LP组中的酸性洗涤纤维、酸性洗涤木质素和纤维素含量变化随温度升高总体呈现上升趋势,在40℃和45℃青贮时含量最高,且酸性洗涤纤维含量对高温区间的温度变化不敏感,差异不显著( $P>0.05$ ),说明在高温区间青贮时木质纤维组分的降解潜力相对较低,这可能与青贮体系中缺少木质纤维降解菌、较低的降解酶活性有关<sup>[29]</sup>.



表2 温度和植物乳杆菌对青贮中木质纤维组分含量的影响  
Table 2 Effects of temperature and *Lactobacillus plantarum* on the content of lignocellulosic composition in silage

组分	温度/°C						添加剂 平均值
	20	25	30	35	40	45	
中性洗涤纤维(NDF, g/kg DM)							
CK	303.96±3.10Aa	272.49±2.55Ac	288.28±9.99Ab	275.72±3.77Bbc	280.33±6.45Bbc	269.82±1.79Bc	281.77
LP	279.26±7.29Bc	257.10±4.11Be	269.44±0.80Bd	289.73±5.78Ab	319.92±0.96Aa	324.48±0.89Aa	289.99
温度 平均值	291.61a	264.80c	278.86b	282.73b	300.13a	297.15a	
酸性洗涤纤维(ADF, g/kg DM)							
CK	228.49±1.19Bc	231.41±2.74Ac	274.02±9.30Aa	257.25±2.44Bb	248.69±3.92Bb	248.01±4.11Bb	247.98
LP	248.57±6.48Ab	232.88±1.01Ac	235.26±1.80Bc	270.69±5.52Aa	275.14±1.75Aa	272.96±2.28Aa	251.92
温度 平均值	238.53c	232.15c	254.64b	263.97a	261.91ab	260.48ab	
酸性洗涤木质素(ADL, g/kg DM)							
CK	13.36±3.66Ac	25.72±0.80Bb	31.79±1.22Aa	22.54±0.64Ab	26.03±0.20Bb	25.79±1.57Bb	24.21
LP	16.13±3.24Ae	35.27±1.60Ab	26.52±2.61Bc	21.70±1.20Bd	38.39±1.20Ab	44.53±0.48Aa	30.42
温度 平均值	14.75d	30.50b	29.16b	22.12c	32.21ab	35.16a	
纤维素(CEL, g/kg DM)							
CK	215.13±4.69Bcd	205.69±1.93Ad	242.22±8.26Aa	236.96±5.32Bab	227.07±4.15Bbc	222.22±3.12Bc	224.88
LP	232.44±4.07Ac	197.61±1.17Be	208.74±4.09Bd	268.03±6.21Ab	281.53±0.26Aa	279.95±0.51Aa	244.72
温度 平均值	223.79b	201.65c	225.48b	252.50a	254.30a	251.08a	
半纤维素(HC, g/kg DM)							
CK	75.47±2.32Aa	41.07±1.81Ab	14.26±0.77Be	18.48±1.33Ade	31.65±2.73Bc	21.81±2.40Bd	33.79
LP	30.68±1.55Bc	24.22±3.23Bd	34.18±1.96Ac	19.04±0.71Ae	44.78±1.10Aa	51.52±1.63Aa	34.07
温度 平均值	53.08a	32.65c	24.22d	18.76e	38.21b	36.67b	
综纤维素(HoC, g/kg DM)							
CK	290.60±5.36Aa	246.76±2.983Ac	256.49±7.69Ab	255.43±4.02Bbc	258.72±6.60Bb	244.02±0.85Bd	258.67
LP	263.12±4.95Bc	221.83±3.94Be	242.92±3.2Bd	287.08±6.41Ab	326.31±1.32Aa	331.47±1.61Aa	278.79
温度 平均值	276.862b	234.297d	249.703c	271.255b	292.515a	287.745a	

相对饲用价值(Relative Feed Value, RFV)是评定饲料质量的常用指标,其值越高说明营养价值越高<sup>[30]</sup>,同时也是粗饲料NDF和ADF的综合体现,RFV>100说明该粗饲料的营养价值整体较高.结合图2所示RFV结果可知,在20~30℃青贮时LP组的RFV值较CK组显著提高( $P<0.05$ ),而在35~45℃青贮时反而下降明显,但青贮后的花椰菜尾菜RFV值仍保持在190以上.说明低温条件下接种植物乳杆菌有助于降低一定含量的NDF和ADF,从而提高花椰菜尾菜的饲用价值,这与表2所示的木质纤维组分变化结果相吻合.

总之,在中温青贮时添加植物乳杆菌能促进木质纤维组分的分解,饲用营养价值相对较高,而在高温(35~45℃)区间接种植物乳杆菌青贮反而会使其产生较高含量的木质纤维组分.提示在尾菜的实际处理和青贮生产过程中应注意青贮温度的选择.

### 2.3 青贮后发酵品质的变化

对高水分原料而言,pH值是评价青贮发酵品质的重要指标之一<sup>[8]</sup>.如图3(a)所示,

除 45℃ 时,其他温度条件下 LP 组的 pH 值均显著低于 CK 组 ( $P < 0.05$ ),这是因为接种植物乳杆菌能使青贮体系中的乳酸菌群数量明显增加,并在适宜的温度范围条件下代谢产生更多乳酸 ( $pK_a = 3.86$ ),从而使 pH 值显著降低.相反,过高的青贮温度 (45℃) 抑制了有益乳酸菌群活性,使产酸效率降低,相对较高的 pH 值 (5.36) 不足以抑制梭菌等腐败微生物繁殖,破坏了青贮品质<sup>[26]</sup>.另一方面,随着温度的升高,CK 组 pH 值呈现先降低后升高的趋势,30℃ 时最低为 4.65;而 LP 组的 pH 值则随温度升高总体呈现上升状态,45℃ 时达到 5.36,说明温度对 pH 值的影响主要是通过影响微生物活动来实现的.研究发现,乳酸菌在 27~38℃ 范围生长较快,LP 组在 35℃ 和 40℃ 时乳酸菌群活性较强,pH 值较低,分别为 4.08 和 4.40,恰属于 Kung 等推荐的高水分物料 (含水量 > 70%) 青贮范围 4.0~4.5<sup>[31]</sup>.

氨氮含量 (即氨氮/总氮) 反映了蛋白质和氨基酸分解程度,该值越大说明氨基酸和蛋白质分解越多,意味着发酵品质变差.一般而言,优良青贮的氨氮含量应低于 100g/kg<sup>[22]</sup>.由图 3(b) 可知,除 40℃ 外,其余温度时 LP 组的氨氮含量显著低于 CK 组 ( $P < 0.05$ ),因为添加植物乳杆菌后的青贮体系 pH 值显著降低,形成酸性环境并阻碍不良微生物生长,进而削弱了粗蛋白分解<sup>[32]</sup>.另一方面,除 45℃ 外 (氨氮含量 167.75g/kg),LP 组中氨氮含量均低于优良青贮阈值 100g/kg,但随温度升高有增加趋势.总体来看,35℃ 青贮时的氨氮含量最低,分别为 49.85g/kg (CK 组)、37.64g/kg (LP 组),此时的蛋白质保存效果最佳,这与较低 pH 值、较高的粗蛋白含量和旺盛的植物乳杆菌活性等结果相吻合<sup>[33]</sup>.

厌氧青贮发酵产生的乳酸等有机酸构成模式及其含量也是评价品质优劣的重要指标.良好青贮的乳酸含量为 30~80g/kg,且占到总有机酸 60% 以上<sup>[34]</sup>.由表 3 可知,除个别温度外,LP 组乳酸含量显著高于 CK 组,乙酸含量显著低于 CK 组 ( $P < 0.05$ ).同时,随着温度升高,CK 组和 LP 组中乳酸、乙酸含量均总体呈现先上升后下降的趋势,二者乳酸含量分别在 30℃ 和 35℃ 时达到最高值,分别为 136.32g/kg 和 184.77g/kg,这与该温度条件下较强的乳酸菌群活性密切相关.另一方面,乳酸和乙酸浓度的变化使得乳酸/总有机酸 (LA/TOA)、乳酸/乙酸 (LA/AA) 等指标发生相应变化.在温度 20~35℃ 青贮时,LP 组的 LA/TOA、LA/AA 值均显著高于 CK 组,且 LA/TOA 均在 60% 以上,LA/AA 值接近或高于 2,基本符合优良青贮品质范畴<sup>[31,35]</sup>;当温度升至 40℃、45℃ 时变化趋势刚好相反.说明在中温环境下接种植物乳杆菌更有助于提高花椰菜青贮体系的乳酸发酵强度.此外,甲酸 (FA) 仅在 CK 组 (20℃) 和 LP 组 (45℃) 有少量检出,甲酸在常规青贮发酵中相对少见,但它是一种常用的青贮添加剂.适量的甲酸能有效抑制有害微生物,减少蛋白质损失,提

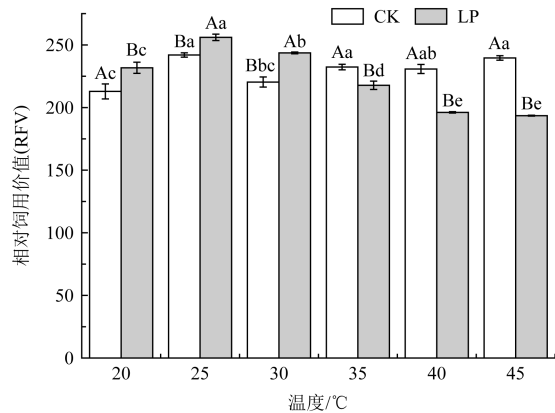


图2 青贮花椰菜尾菜的相对饲用价值

Fig.2 Comparison of relative feed value in silages of cauliflower waste

升发酵品质,对动物采食量和消化率均有帮助<sup>[36]</sup>.所有青贮样品中均未检测到丁酸、丙酸等有机酸,表明青贮品质总体良好.综合费氏评分结果发现,接种植物乳杆菌明显提高了评分质量,但在高温 45℃ 时未能起到改善作用;同时 30℃ 和 35℃ 青贮时具有相对较高的评分质量.

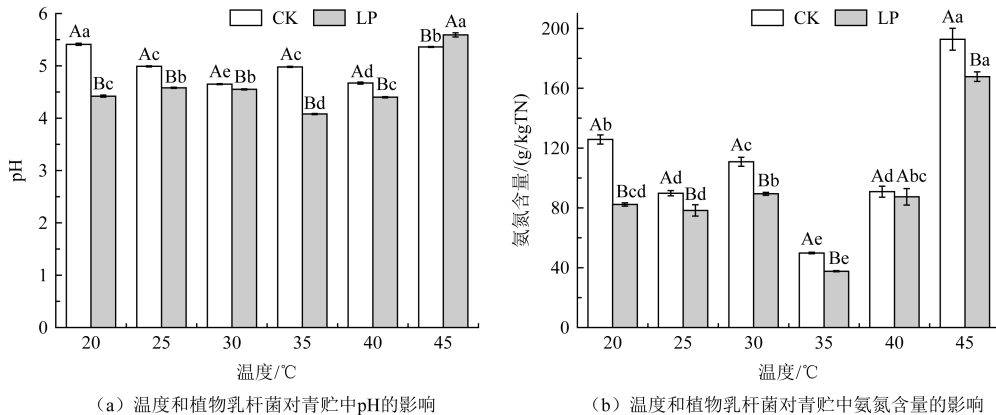


图3 温度和植物乳杆菌对青贮中 pH 和氨氮含量的影响

Fig.3 Effect of temperature and *Lactobacillus plantarum* on the pH and content of ammonia nitrogen in silage

表3 温度和植物乳杆菌对花椰菜尾菜青贮中有机酸含量的影响

Table 3 Effect of temperature and *Lactobacillus plantarum* on the content of organic acid in silage

项目	温度/℃						添加剂 平均值
	20	25	30	35	40	45	
乳酸(LA)(g/kg DM)							
CK	87.58±0.68Bc	92.96±0.41Bb	136.32±0.34Aa	70.49±1.64Ad	87.15±2.97Ac	59.37±0.91Be	88.98
LP	141.06±0.23Ab	94.64±0.37Ad	137.49±1.44Ac	184.77±1.81Aa	59.38±0.77Be	56.69±3.44Be	112.34
温度 平均值	114.32c	93.80d	136.90a	127.63b	73.27e	58.03f	
乙酸(AA)(g/kg DM)							
CK	88.65±0.14Ab	77.72±0.40Ac	95.36±5.13Aa	84.96±1.34Ab	60.16±0.37Bd	27.61±2.48Ae	72.42
LP	52.51±2.60Bd	58.02±0.42Bc	60.79±0.87Bc	67.79±2.22Bb	107.64±7.09Aa	30.14±2.42Ae	62.65
温度 平均值	70.08c	67.87c	78.07b	76.38b	83.90a	28.87d	
甲酸(FA)(g/kg DM)							
CK	15.46±1.83	ND	ND	ND	ND	ND	—
LP	ND	ND	ND	ND	ND	17.15±0.24	—
乳酸/乙酸(LA/AA)							
CK	0.99	1.20	1.43	0.70	1.45	2.55	—
LP	2.67	1.63	2.26	2.73	0.55	1.88	—
乳酸/总有机酸(LA/TOA)							
CK	0.47	0.55	0.59	0.41	0.59	0.72	—
LP	0.73	0.62	0.69	0.73	0.36	0.65	—
费氏评分(FS)							
CK	6.98±0.23Bf	23.99±0.01Bc	36.08±0.32Ba	22.35±0.27Bd	35.07±0.1Bb	10.59±0.18Ae	22.51
LP	48.19±0.05Ab	41.70±0.11Ac	42.15±0.18Ac	61.10±0.01Aa	48.13±0.06Ab	0.31±0.62Bd	40.26

注:“—”表示未统计,“ND”表示未检出.



## 2.4 青贮后的细菌菌群分析

**2.4.1 Alpha 多样性** 青贮过程中微生物菌群的动态演绎及其代谢作用直接影响青贮发酵品质,因此细菌菌群分析至关重要.Alpha 多样性包括群落物种多样性和丰富度,Chao1 指数和 ACE 指数用于表示群落物种的丰富度,其值与群落物种丰富度呈正相关;Shannon 指数和 Simpson 指数用于表示群落物种的多样性程度,Shannon 指数随着群落多样性的升高而增大,Simpson 指数则随着群落多样性的升高而减小<sup>[36]</sup>.由表 4 可知,细菌菌群 DNA 的 reads 长度为 79 694~80 196,覆盖度均接近 1(0.9992),说明取样深度已充分捕获了大部分微生物群落.如表 4 所示,与 CK 组相比,LP 组的 OTUs、ACE 和 Chao1 均有所下降,可能是因为接种植物乳杆菌会降低 pH 值,从而使许多不良微生物受到抑制并逐渐被优势乳酸菌群取代.原料花椰菜尾菜的 Shannon 指数远低于青贮组,而 Simpson 指数高于青贮组,说明被废弃的花椰菜尾菜表面附着有种类多样的微生物菌群,经青贮发酵后种群多样性下降,这与图 3 和图 4 所示结果相吻合.另一方面,LP 组的 Shannon 指数与 CK 组相比有所下降,而 Simpson 指数则有所升高,说明接种植物乳杆菌能促使青贮发酵体系中的细菌菌群多样性进一步下降.再者,温度对 CK 和 LP 组处理的 Alpha 多样性指数有显著影响,但呈现规律不明的波动变化状态<sup>[37]</sup>.

表 4 青贮发酵过程中微生物菌群的 Alpha 多样性

Table 4 Alpha diversity of microbial community during ensiling fermentation

分组	温度/℃	Reads	OTUs	ACE	Chao1	Simpson	Shannon	覆盖度	
花椰菜尾菜	—	79,977	48	61.09	59.67	0.05	3.31	0.9992	
	20	80 120	85	91.51	94.00	0.17	2.28	0.9998	
	25	80 196	106	116.17	113.58	0.23	2.20	0.9997	
	CK	30	79 694	77	86.29	90.00	0.22	1.96	0.9997
		35	79 914	135	151.57	154.71	0.30	1.87	0.9996
		40	79 870	135	154.44	153.75	0.28	2.08	0.9995
		45	79 911	85	150.76	120.00	0.14	2.60	0.9995
LP	20	80 003	71	77.18	76.60	0.38	1.71	0.9998	
	25	79 793	89	102.87	101.36	0.51	1.38	0.9997	
	30	80 012	68	75.32	77.00	0.30	1.85	0.9997	
	35	80 130	115	139.59	140.67	0.10	2.89	0.9995	
	40	79 913	92	144.38	157.00	0.26	1.97	0.9994	
	45	80 130	44	63.09	84.00	0.78	0.57	0.9997	

**2.4.2 门水平细菌多样性** 如图 4 所示,花椰菜尾菜附着的门水平优势菌主要为变形菌(*Proteobacteria*),相对丰度高达 80.19%,此外还有一定丰度的厚壁菌(*Firmicutes*, 12.78%)及少量拟杆菌(*Bacteroides*, 2.5%)和放线菌(*Actinobacteria*, 3.5%)等.厚壁菌门是一类能降低纤维素和蛋白质等成分的革兰氏阳性菌<sup>[38]</sup>,而且常见的乳酸菌如乳酸杆菌、乳酸球菌等大都属于厚壁菌,花椰菜尾菜中附着有丰度值近 13%的厚壁菌,说明原料表面的乳酸菌群数量能满足青贮发酵必要的启动条件.青贮 30d 时,所有青贮体系的门水平优势菌群演变为厚壁菌门,且丰度均达到 86.05%以上,这不仅与优势乳酸菌群的繁殖代谢有关,其丰度值的增加也与青贮前后的粗蛋白、纤维组分含量的变化趋势相吻合.变形菌门是细菌中最大的一门革兰氏阴性菌,包括大肠杆菌、沙门氏菌等多种病原菌,会与乳酸

菌群竞争性利用糖类物质,相对丰度越高越不利于青贮<sup>[39]</sup>.厌氧青贮发酵反应使变形菌门的相对丰度从 80.19% 大幅降低至 14% 以下,有的甚至低于 0.1%,说明青贮体系中的有害微生物被有效抑制.与此同时,不同温度青贮的 LP 组中变形菌门丰度均低于 CK 组,说明添加植物乳杆菌后能对变形菌门形成竞争性有效抑制,从而有助于提升尾菜青贮质量.

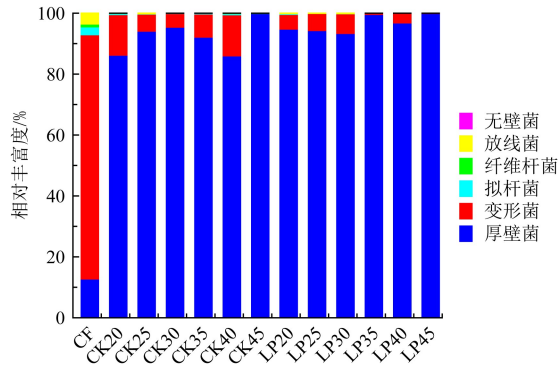


图 4 温度和植物乳杆菌对青贮中门水平细菌群落的影响

Fig.4 Effects of temperature and *Lactobacillus plantarum* on the bacterial community at phylum

**2.4.3 属水平细菌多样性** 如图 5 所示,花椰菜尾菜表面附着的属水平细菌主要有不动杆菌 (*Acinetobacter*, 20.12%)、假单胞菌 (*Pseudomonas*, 15.34%)、马赛菌 (*Massilia*, 12.14%),少量微小杆菌 (*Exiguobacterium*, 5.11%)、假性细菌 (*Falsirhodobacter*, 5.11%)、果胶杆菌 (*Pectobacterium*, 4.47%) 等.青贮发酵 30d 时,CK 组的乳酸细菌种群丰度大幅增加,演绎形成了包括乳杆菌 (*Lactobacillus*)、魏斯氏菌、乳球菌 (*Lactococcus*)、明串珠菌属 (*Leuconostoc*)、片球菌在内的多种乳酸细菌.不同温度青贮时的乳酸菌群相对丰度依次为 88.46% (20℃)、92.81% (25℃)、84.54% (30℃)、94.14% (40℃).然而,在 45℃ 时芽孢杆菌

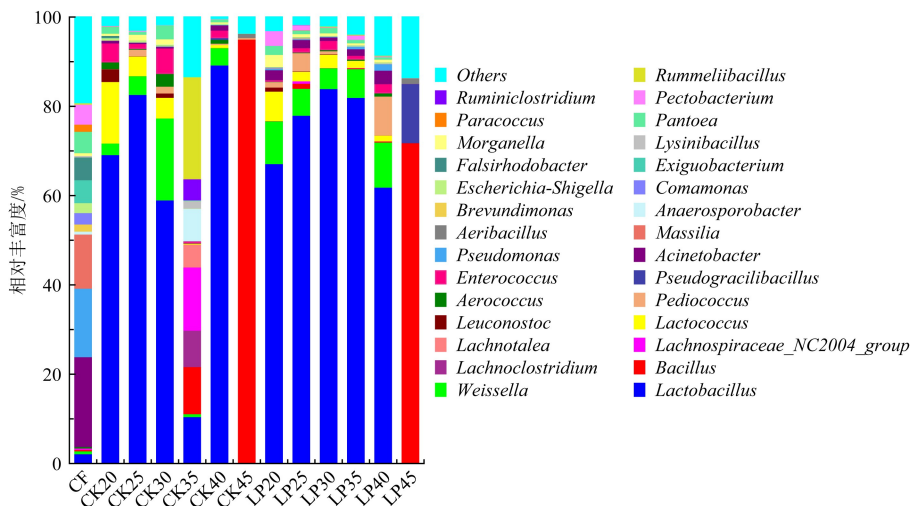


图 5 温度和植物乳杆菌对青贮中属水平细菌群落的影响

Fig.5 Effects of temperature and *Lactobacillus plantarum* on the bacterial community at genus

(*Bacillus*) 相对丰富度达到 95%, 乳酸细菌几乎不存在, 这也是该温度青贮时具有较高氨氮和 pH 值的重要原因之一。乳杆菌、乳球菌、魏斯氏菌和芽孢杆菌均属于厚壁菌门微生物, 这与图 4 所示结果相吻合。

同时, CK 组在 25℃ 和 40℃ 时乳杆菌丰度明显增至 82.69% 和 89.29%, 但在 35℃ 时又明显下降, 而鲁梅尔芽孢杆菌 (*Rummeliibacillus*, 22.86%)、厌氧杆菌 (*Anaerospobacter*, 7.29%)、芽孢杆菌 (*Bacillus*, 10.56%) 以及毛螺菌 (*Lachnospiraceae*, 5.08%) 等细菌的相对丰度有所提高。由图 5 可看出, 接种植物乳杆菌的 LP 组中, 除 40℃ 外, 其余温度青贮的乳杆菌、乳球菌和魏斯氏菌等乳酸细菌的相对丰度明显高于 CK 组, 尤其在 30℃ 和 35℃ 时乳酸菌群丰富度均达到 90% 以上。45℃ 青贮时芽孢杆菌丰富度高达 71.80%, 与同温度青贮的 CK 组类似, 但有所下降, 主要原因在于青贮发酵温度过高, 乳酸菌等有益微生物菌群的生长繁殖受到抑制, 使芽孢杆菌等腐败细菌有一定的生长空间, 并竞争性代谢利用青贮体系中的营养成分, 造成腐败菌大量增殖。

## 2.5 细菌群落与主要有机组分、发酵产物的关系

青贮过程中微生物菌群通过一系列生化反应产生了发酵代谢产物, 也使原料中主要有机组分发生了变化。如图 6(a) 所示, 克罗彭斯特菌 (*kroppenstedtia*)、芽孢杆菌和假纤细芽孢杆菌 (*Pseudogracilibacillus*) 与主要有机组分的质量分数均呈正相关。可溶性碳水化合物、中性洗涤纤维和干物质的含量与不动杆菌、乳杆菌丰度呈现负相关, 这也印证了乳酸菌群在将可溶性糖转化为有机酸的同时还会分解部分纤维成分, 进而导致干物质损失<sup>[32]</sup>。此外, 酸性洗涤木质素含量与乳杆菌、不动杆菌、魏斯氏菌和泛生菌 (*Pantoea*) 呈负相关。

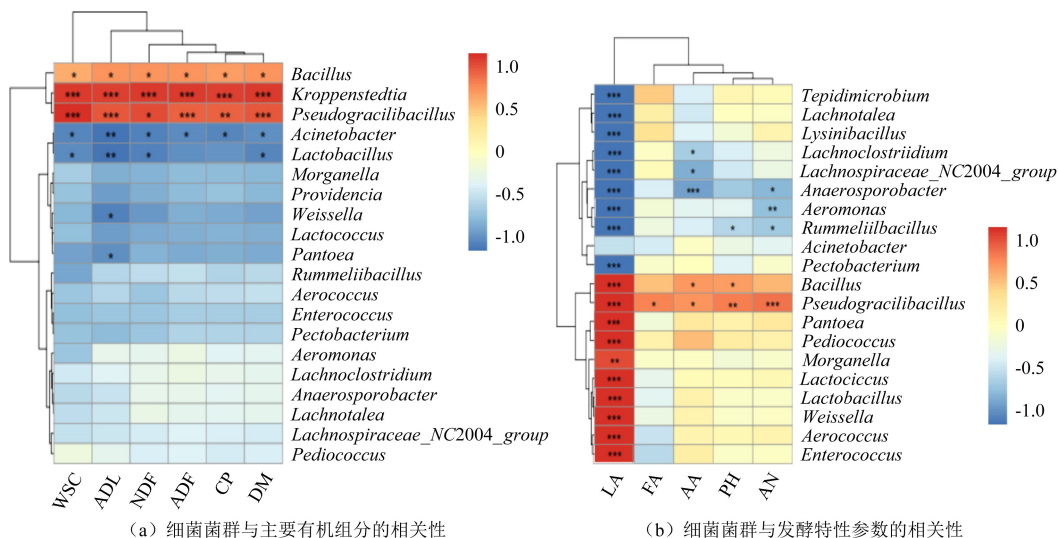


图 6 细菌菌群与主要有机组分、发酵特性参数之间的相关性

Fig.6 Correlation of bacterial community and organic components, fermentative characteristics

根据图 6(b) 所示 SparCC 相关性热图可知, 乳酸含量与肠球菌 (*Enterococcus*)、气球菌 (*Aerococcus*)、魏斯氏菌、乳酸菌、乳球菌、摩根菌 (*Morganella*)、片球菌、泛生菌、假纤细芽孢杆菌、芽孢杆菌呈正相关, 与果胶杆菌、鲁梅尔芽孢杆菌、气单胞菌 (*Aeromonas*)、厌氧杆

菌、*Lachnospiraceae-NC2004-group*、*Lachnoclostridium*、溶菌杆菌(*Lysinibacillus*)、*Lachnotalea*、*Tepidimicrobium* 呈负相关.乳酸、甲酸、乙酸、pH 和 AN 与假纤细芽孢杆菌呈正相关,假纤细芽孢杆菌属于耐高温菌,且在堆肥中较为常见<sup>[40]</sup>.该研究中,45℃的 LP 组青贮中含有丰度为 13.2%的假纤细芽孢杆菌,这种差异可能是由于青贮原料和条件的不同,导致青贮细菌群落也存在差异.除此之外,魏斯氏菌的相对丰度与乙酸含量呈正相关,这可能是因为魏斯氏菌作为异型乳酸发酵菌可以产生乳酸和乙酸等物质所致.在其他产酸菌中,如肠球菌、乳球菌、泛生菌、摩根氏菌、小球菌、假单胞菌和芽孢杆菌等也与乙酸含量呈正相关.相反,由于不动杆菌在厌氧环境中可消耗乙酸盐作为底物,故其相对丰度与乙酸含量呈负相关<sup>[41]</sup>.*Lachnospiraceae-NC2004-group*、*Anaerosporobacter* 和 *Lachnoclostridium* 与乙酸含量亦呈现负相关关系.氨氮含量与芽孢杆菌呈正相关,因为芽孢杆菌是青贮前期与乳酸菌竞争可溶性碳水化合物的主要微生物之一,直接影响青贮过程中乳酸的快速积累并会引起蛋白质降解<sup>[17]</sup>.

### 3 结论

花椰菜尾菜作为一种高水分、高有机物含量的蔬菜废弃物,在中低温(20~35℃)环境下接种植物乳杆菌进行青贮发酵,能有效保存营养组分,强化乳酸发酵,抑制不良微生物繁殖,促进木质纤维组分分解,提高相对饲用价值和青贮质量.甘肃兰州属于温带大陆性气候,近 20 年来当地夏季最高温度均保持在 31~35℃.因此,在兰州地区采取这种青贮处置方式不仅能快速及时地处理尾菜资源,减少对生态环境的影响,还能根据不同季节温度变化进行青贮饲料的生产与调控,从而实现尾菜资源的饲料化利用.未来,课题组还将针对气候温度差异明显、资源量较大的其他尾菜资源开展系统性研究,以期为不同区域尾菜资源的青贮处理提供技术支持.

### 参考文献

- [1] 展晓莹,张爱平,张晴雯.农业绿色高质量发展期面源污染治理的思考与实践[J].农业工程学报,2020,36(20): 1-7  
Zhan Xiaoying, Zhang Aiping, Zhang Qingwen. Controlling agricultural non-point source pollution: Thinking and practice in the era of agricultural green high-quality development [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2020, 36(20): 1-7
- [2] 肖朝卿.甘肃农业面源污染防治问题研究[D].兰州:兰州大学,2016  
Xiao Chaoqing. Study on the control of agricultural non-point source pollution in Gansu [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2016
- [3] 任海伟,孙文丽,裴佳雯,等.不同温度下干玉米秸秆与废弃白菜混贮品质差异及微生物多样性[J].应用基础与工程科学学报,2020,28(4): 788-804  
Ren Haiwei, Sun Wenli, Pei Jiawen, et al. Differences of storage quality and microbial diversity for the mixed silages between dry maize stalks and cabbage waste at different temperatures [J]. Journal of Basic Science and Engineering, 2020, 28(4): 788-804
- [4] 马冉冉,袁洁,张文洁,等.堆放时间对西兰花尾菜青贮品质的影响[J].草地学报,2021,29(9): 2107-2114  
Ma Ranran, Yan Jie, Zhang Wenjie, et al. Effects of stacking time on feeding and fermentation quality of broccoli waste [J]. Acta Agrestia Sinica, 2021, 29(9): 2107-2114
- [5] 彭章普,王洁,麻和平,等.尾菜处理利用技术研究进展与研究思路探讨[J].中国饲料,2019,(11): 86-91  
Peng Zhangpu, Wang Jie, Ma Heping, et al. Research progress and discussion on treatment and utilization techniques of vegetable wastes [J]. China Feed, 2019, (11): 86-91

- [ 6 ] Chen L, Bai S, You M, et al. Effect of a low temperature tolerant lactic acid bacteria inoculant on the fermentation quality and bacterial community of oat round bale silage[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2020, 269: 1-9
- [ 7 ] 张越, 王小芬, 代佳丽, 等. 低温燕麦青贮乳酸菌复合菌系的构建及其青贮效果[J]. *农业工程学报*, 2019, 35(14): 308-314  
Zhang Yue, Wang Xiaofen, Dai Jiali, et al. Construction and effect of lactic acid bacteria in oat silage and mechanism at low temperature[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2019, 35(14): 308-314
- [ 8 ] Wang Y, He L, Xing Y, et al. Bacterial diversity and fermentation quality of Moringa oleifera leaves silage prepared with lactic acid bacteria inoculants and stored at different temperatures[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 284: 349-358
- [ 9 ] 徐生阳, 高润, 康长清, 等. 不同添加剂及贮藏温度对发酵全混合日粮品质和真菌数量的影响[J]. *草地学报*, 2020, 28(3): 822-827  
Xu Shengyang, Gao Run, Kang Changqing, et al. Effects of different additives and storage temperature on FTMR quality and fungal quality[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2020, 28(3): 822-827
- [ 10 ] Ashbell G, Weinberg Z G, Hen Y, et al. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages[J]. *Journal of Industrial Microbiol Biotechnol*, 2002, 28(5): 261-263
- [ 11 ] Zhou Y, Drouin P, Lafrenière C. Effects on microbial diversity of fermentation temperature (10°C and 20°C), long-term storage at 5°C, and subsequent warming of corn silage[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2019, 32(10): 1528-1539
- [ 12 ] Liu Q H. The effect of fibrolytic enzyme, *Lactobacillus plantarum* and two food antioxidants on the fermentation quality, alpha-tocopherol and beta-carotene of high moisture napier grass silage ensiled at different temperature[J]. *Animal Feed Sci Technol*, 2016, 1(221): 1-11
- [ 13 ] 王旭哲, 张凡凡, 马春晖, 等. 同/异型乳酸菌对青贮玉米开窖后品质及微生物的影响[J]. *农业工程学报*, 2018, 34(10): 296-304  
Wang Xuzhe, Zhang Fanfan, Ma Chunhui, et al. Effects of homo- and hetero-fermentative lactic acid bacteria on the fermentation characteristics, nutritional quality and aerobic stability of whole corn silage[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2018, 34(10): 296-304
- [ 14 ] Cheng W, Liwen H, Yaqi X, et al. Effects of mixing *Neolamproloma cadamba* leaves on fermentation quality, microbial community of high moisture alfalfa and stylo silage[J]. *Microbial Biotechnology*, 2019, 12(5): 1-10
- [ 15 ] 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[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 123772(315): 1-9
- [ 16 ] 李荣荣, 江迪, 田朋姣, 等. 贮藏温度和青贮时间对高水分苜蓿青贮发酵品质的影响[J]. *草业科学*, 2020, 37(10): 2125-2132  
Li Rongrong, Jiang Di, Tian Pengjiao, et al. Effect of storage temperature and ensiling period on fermentation quality of high moisture alfalfa silage[J]. *Pratacultural Science*, 2020, 37(10): 2125-2132
- [ 17 ] Wang C, He L, Xing Y, et al. Fermentation quality and microbial community of alfalfa and stylo silage mixed with *Moringa oleifera* leaves[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 284: 240-247
- [ 18 ] 任海伟, 王莉, 朱朝华, 等. 白酒糟与菊芋渣混合青贮发酵品质及微生物菌群多样性[J]. *农业工程学报*, 2020, 36(15): 235-244  
Ren Haiwei, Wang Li, Zhu Zhaohua, et al. Ensiling co-fermentation quality and microbial community diversity of grain stiller and inulin processing residue from *Helianthus tuberosus*[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2020, 36(15): 235-244
- [ 19 ] 王亚芳, 姜富贵, 成海建, 等. 不同青贮添加剂对全株玉米青贮营养价值、发酵品质和瘤胃降解率的影响[J]. *动物营养学报*, 2020, 32(6): 2765-2774  
Wang Yafang, Jiang Fugui, Cheng Haijian, et al. Effect of different silage additives on nutritional value, fermentation quality and rumen degradability of whole corn silage[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(6): 2765-2774
- [ 20 ] 司华哲, 李志鹏, 南韦肖, 等. 添加植物乳杆菌对低水分稻秸青贮微生物组成影响研究[J]. *草业学报*, 2019, 28(3): 184-192  
Si Huazhe, Li Zhipeng, Nan Weixiao, et al. Effects of bacterial community composition on fermentation characteristics of *Lactobacillus plantarum* in low moisture content rice stalk silage[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(3): 184-192
- [ 21 ] 李小铃, 关皓, 帅杨, 等. 单一和复合乳酸菌添加剂对扁穗牛鞭草青贮品质的影响[J]. *草业学报*, 2019, 28(6): 119-127



- Li Xiaoling, Guan Hao, Shuai Yang, et al. Effects of single and compound lactic acid bacteria additives on the quality of *Hemarthria compressa* silage [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(6) :119-127
- [22] 柯文灿, 郭旭生, 秦丽萍. 生产层温度对垂穗披碱草青贮品质的影响 [J]. *草业科学*, 2013, 30(9) :1433-1438  
Ke Wencan, Guo Xusheng, Qin Liping. Effects of temperature on fermentation quality of Qinghai-Tibet plateau *elymus nutans* silage [J]. *Pratacultural Science*, 2013, 30(9) :1433-1438
- [23] Guan H, Shuai Y, Yan Y, et al. Microbial community and fermentation dynamics of corn silage prepared with heat-resistant lactic acid bacteria in a hot environment [J]. *Microorganisms (Basel)*, 2020, 8(5) :719-737
- [24] Ahmadi F, Lee Y H, Lee W H, et al. Long-term anaerobic conservation of fruit and vegetable discards without or with moisture adjustment after aerobic preservation with sodium metabisulfite [J]. *Waste Management (New York, N Y)*, 2019, 87(15) :258-267
- [25] 陈梦言, 白洁, 柯文灿, 等. 青贮饲料微生物群落组成与功能研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2021, 37(9) :11-23  
Chen Mengyan, Bai Jie, Ke Wencan, et al. Research advances in silage microbial communities and functions [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2021, 37(9) :11-23
- [26] 郑明利. 苜蓿青贮中梭菌多样性及其诱发梭菌发酵的机理研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2017  
Zheng Mingli. Biodiversity of the clostridial community and mechanism of the resulting clostridial fermentation in alfalfa silage [D]. Beijing: China Agricultural University, 2017
- [27] Hristov A N, Harper M T, Roth G, et al. Effects of ensiling time on corn silage neutral detergent fiber degradability and relationship between laboratory fiber analyses and in vivo digestibility [J]. *Journal of Dairy Science*, 2019, 103(3) :2333-2346
- [28] 王益, 王学凯, 周玮, 等. 含水量及添加剂对黄梁木叶青贮品质的影响 [J]. *华南农业大学学报*, 2018, 39(4) :80-86  
Wang Yi, Wang Xuekai, Zhou Wei, et al. Effects of moisture content and additive on silage quality of *Neolamarekia cadamba* leaves [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2018, 39(4) :80-86
- [29] Arriola K G, Queiroz O C M, Romero J J, et al. Effect of microbial inoculants on the quality and aerobic stability of bermudagrass round-bale haylage. [J]. *Journal of Dairy Science*, 2015, 98(1) :478-485
- [30] Firsoni S N W H. Fiber content and relative feed value estimation of gamma irradiated rice straw [J]. *Materials Science and Engineering*, 2019, (4) :546-553
- [31] Kung L, Shaver R D, Grant R J, et al. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages [J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(5) :4020-4033
- [32] Yang L, Yuan X, Li J, et al. Dynamics of microbial community and fermentation quality during ensiling of sterile and nonsterile alfalfa with or without *Lactobacillus plantarum* inoculant. [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 275;
- [33] 王水泉, 包艳, 董喜梅, 等. 植物乳杆菌的生理功能及应用 [J]. *中国农业科技导报*, 2010, 12(4) :49-55  
Wang Shuiquan, Bao Yan, Dong Ximei, et al. Physiological function and application of *Lactobacillus plantarum* [J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2010, 12(4) :49-55
- [34] Li X, Xu W, Yang J, et al. Effects of applying lactic acid bacteria to the fermentation on a mixture of corn steep liquor and air-dried rice straw [J]. *Animal Nutrition*, 2016, 2(3) :229-233
- [35] 张养东, 杨军香, 王宗伟, 等. 青贮饲料理化品质评定研究进展 [J]. *中国畜牧杂志*, 2016, 52(12) :37-42  
Zhang Yangdong, Yang Junxiang, Wang Zongwei, et al. Research progress on physicochemical quality evaluation of silage [J]. *Chinese Journal of Animal Husbandry*, 2016, 52(12) :37-42
- [36] 刘晶晶. 生物添加剂对柳枝稷青贮的作用及机理研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2015  
Liu Jingjing. Effect of on lactic acid bacteria and fibrolytic enzymes on the fermentation quality of switchgrass silage and mechanism involved [D]. Beijing: China Agricultural University, 2015
- [37] Grant R J, Ferraretto L F. Silage review: Silage feeding management, Silage characteristics and dairy cow feeding behavior [J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(5) :4111-4121
- [38] Fuhou L, Zitong D, Wencan K, et al. Ferulic acid esterase-producing lactic acid bacteria and cellulase pretreatments of corn stalk silage at two different temperatures: Ensiling characteristics, carbohydrates composition and enzymatic saccharification [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 282:1-10
- [39] 倪奎奎. 全株水稻青贮饲料中微生物菌群以及发酵品质分析 [D]. 郑州: 郑州大学, 2016  
Ni Kuikui. Research on the bacterial community and fermentation quality of whole crop rice silage [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2016
- [40] Mukesh Kumar Awasthi, Yumin Duan, Tao Liu, et al. Relevance of biochar to influence the bacterial succession during pig manure composting [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 304(5) :122962

- [41] I M O, Y J, A A P C, et al. Bacterial diversity and composition of alfalfa silage as analyzed by Illumina MiSeq sequencing: Effects of *Escherichia coli* O157:H7 and silage additives[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(3): 1-12

## Effects of *Lactobacillus Plantarum* on the Ensiling Quality of Cauliflower Wastes at Different Temperature

ZHANG Bingyun<sup>1</sup>, DING Wenhao<sup>1</sup>, SUN Yanan<sup>1</sup>, REN Haiwei<sup>1,2,3</sup>,  
LI Jinping<sup>2,3</sup>, LI Zhizhong<sup>1</sup>

(1.School of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China; 2.Key Laboratory of Complementary Energy System of Biomass and Solar Energy, Gansu Province, Lanzhou 730050, China; 3.China Northwestern Collaborative Innovation Center of Low-carbon Urbanization Technologies, Lanzhou 730050, China)

### Abstract

In order to utilize and dispose vegetable wastes (VWs) by ensiling in a timely and safe manner, the aim of this work is to investigate the inoculation of *Lactobacillus plantarum* (LP) on the ensiling quality of cauliflower wastes at different temperature (20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C and 45°C) in terms of organic components, fermentation quality and microbial community. On this basis, the correlation between microbial community and ensiling quality parameters during ensiling were established. The addition of LP can significantly increase the content of dry matter, crude protein and lactic acid accompanied by the decrease of pH and ammonia nitrogen content for the silages. The dry matter, soluble carbohydrate and crude protein contents in LP were significantly higher than those in the control group (no additive, CK) under medium and low temperatures (20~35°C). The contents of lignocellulosic fractions such as neutral detergent fiber, acid detergent fiber and cellulose in LP group were significantly higher than those in CK, which resulted in the significant decrease for relative forage value under high temperatures (40°C and 45°C). The ratios of lactic acid/ acetic acid and lactic acid/ total organic acid in LP were lower than those in CK, indicating that the fermentation intensity of lactic acid bacteria in LP was weakened at high temperature. Firmicutes in silages were dominant at phyla, and the abundance of lactic acid bacteria (LAB) in LP was significantly higher than that in CK (except 45°C), especially the abundance of LAB in LP exceeded 90% at 30°C and 35°C, indicating that a well lactic acid fermentation was formed, which suppressed the undesirable microorganisms. *Lactobacillus* is the main genus of LAB, and its abundance is negatively correlated with the content of neutral detergent fiber and acidic detergent lignin, and positively correlated with the content of lactic acid. In conclusion, the temperature and *Lactobacillus plantarum* had a significant effect on the ensiling quality, the ensiling of cauliflower wastes inoculated with *Lactobacillus plantarum* at middle-low temperature could effectively improve the ensiling quality and relative feed value. Therefore, the ensiling disposition of cauliflower wastes at 20~35°C was recommended preferentially.

**Keywords:** *Lactobacillus plantarum*; cauliflower wastes; ensiled temperature; fermentation quality; microbial community; high-throughput sequencing