

分类号: Q93
学号: 20212106053

密级: 公开
单位代码: 10759

石河子大学

硕士学位论文



乳酸菌和沙棘果渣对构树青贮发酵品质的影响

学位申请人	彭顺
指导教师	孙燕飞副教授
申请学位类别	生物与医药硕士
专业名称	生物与医药
研究领域	生物技术与工程
所在学院	生命科学学院

中国·新疆·石河子

2024年7月

**Effect of lactic acid bacteria and sea buckthorn pomace on the
fermentation quality of paper mulberry silage**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Engineering

By

PengShun

(Biotechnology and Engineering)


Dissertation Supervisor: Associate Prof. Sun Yan-fei

July, 2024

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明


本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：

时间：2024年7月8日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：

时间：2024年7月8日

导师签名：

时间：2024年7月8日

摘要

近年来新疆畜牧业得到了快速发展，对于优质饲料的需求量不断增加，导致出现了饲料供给能力不足的问题。构树作为一种富含高蛋白的新型木本饲料被引进新疆用于丰富新疆本地饲料资源，解决新疆饲料短缺等问题。目前构树被广泛种植于新疆各个地区，由于新疆冬季漫长，且构树饲料产量较大，大量的构树饲料需要青贮保存，但构树在青贮保存过程中往往面临缓冲能力强，水溶性碳水化合物较少和易被杂菌污染等问题。目前研究发现添加乳酸菌或沙棘果渣能够改善饲料青贮发酵质量，但是对于是否提高构树青贮发酵品质尚不明确。因此本试验开展了以下研究工作：（1）筛选和分离构树自然青贮发酵中的附生微生物；（2）通过添加沙棘果渣（BP）、魏斯氏菌（WS）、魏斯氏菌和沙棘果渣（WS + BP）、植物乳杆菌（LP）、植物乳杆菌和沙棘果渣（LP + BP）、戊糖植物乳杆菌（LB）、戊糖植物乳杆菌和沙棘果渣（LB + BP）处理构树青贮饲料，探究乳酸菌和沙棘果渣对构树青贮发酵品质的影响；（3）通过第三代高通量测序技术，探究乳酸菌和沙棘果渣对构树青贮微生物群落结构的影响。主要结果如下：

（1）通过筛选构树青贮饲料中的微生物，分离出3株构树青贮附生乳酸菌，分别鉴定为：副肠膜状魏斯氏菌WS（*Weissella paramesenteroides*），植物乳杆菌LP（*Lactiplantibacillus plantarum*）和戊糖植物乳杆菌LB（*Lactiplantibacillus pentosus*）。

（2）通过在构树中添加三株附生乳酸菌和沙棘果渣进行青贮发酵试验。发酵质量结果显示：乳酸菌和沙棘果渣都能有效地提高构树青贮感官评定。在pH检测中，LP + BP的pH下降速率显著快于其他处理组（ $P < 0.05$ ），并且在发酵60 d，LP + BP的pH值最低，为4.94。在铵态氮的检测中，LP + BP的铵态氮上升速率显著低于其他处理组（ $P < 0.05$ ），并且在发酵60 d，LP + BP的铵态氮含量最低，为2.95%总氮。有机酸含量测定中，各处理组在青贮发酵中只检测到乳酸和乙酸两种有机酸，未检测到丙酸和丁酸。在青贮发酵第60 d，LP + BP的乳酸含量显著高于其他处理组（ $P < 0.05$ ），LP组的乙酸含量最高。通过显著性和主效应分析发现，添加菌株LP相比菌株WS和LB更有利于降低青贮的pH值；添加菌株LP和LB相比菌株WS更有利于降铵态氮的含量和提高乙酸含量；添加沙棘果渣有利于减少构树青贮铵态氮含量。通过隶属函数分析，添加LP + BP处理组的青贮品质隶属函数值的均值最大，植物乳杆菌和沙棘果渣的添加剂组合的构树青贮发酵品质最好。

（3）通过构树青贮发酵营养成分评估试验表明，添加菌株WS、LP、LB和沙棘果渣都显著提高了构树青贮的干物质质量、粗蛋白含量和水溶性碳水化合物（ $P < 0.05$ ）。营养成分测定的结果表明：CK和LB在青贮发酵终点的干物质损失量显著高于其他处理组（ $P < 0.05$ ），添加沙棘果渣、菌株WS和LP能有效减少干物质质量的损失；添加沙棘果渣能显著降低水溶性碳水化合物的损失（ $P < 0.05$ ）；添加沙棘果渣和菌株WS、LP和LB相比于对照组菌能显著提高了粗蛋白含量（ $P < 0.05$ ）；所有处理组均对中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维的含量没有显著影响（ $P > 0.05$ ）。通过显著性和主效应分析发现，添加菌株LP相比菌株WS和LB更有利于水溶性碳水化合物的保存和相对饲用价值的提高，添加

沙棘果渣有利于减少构树青贮的干物质量损失。通过隶属函数分析，所有处理组的综合评价分数均高于对照组CK，LP + BP处理组的青贮营养价值隶属函数值的均值最大，植物乳杆菌和沙棘果渣的添加剂组合保存构树营养成分效果最好。

(4) 通过第三代高通量测序研究表明，添加植物乳杆菌或沙棘果渣对构树青贮微生物群落的塑造有显著影响，能够在发酵过程中降低有害菌的丰度，提高有益菌的丰度。CK和BP的青贮发酵过程中，肠杆菌属占据主导地位；而LP和LP + BP组在发酵过程中，植物乳杆菌占据主导地位。造成各组发酵差异性的主要微生物是*Lactiplantibacillus pentosus*和*Weissella ramesenteroides*。青贮发酵参数和微生物相关性分析中*Lactiplantibacillus pentosus*和构树青贮饲料的pH值呈负相关，和乳酸，乙酸含量呈正相关，表明*Lactiplantibacillus pentosus*是构树青贮发酵质量良好的关键微生物。*Weissella cibaria*和*Bacillus pumilus*与构树青贮饲料的干物质量、粗蛋白含量和水溶性碳水化合物呈正相关，是营养物质保留的关键微生物。在构树青贮发酵的前期主要是由*Weissella cibaria*和*Lactococcus lactis*两种有益细菌和多种有害细菌构成，待构树青贮pH值下降，*Lactiplantibacillus pentosus*成为构树青贮发酵的主导微生物，添加菌株LP和沙棘果渣可以加快这一发酵进程。

通过构树青贮发酵试验，探究3株构树附生乳酸菌和沙棘果渣对构树青贮发酵品质和微生物群落结构的影响。在经过发酵质量和营养成分评估发现，同时添加菌株*Lactiplantibacillus plantarum*和沙棘果渣能有效改善构树青贮发酵质量和最大保留构树饲料中的营养成分，并且植物乳杆菌或沙棘果渣处理组能增加构树青贮有益微生物的丰度，改善微生物群落结构，加快构树青贮发酵进度。因此添加植物乳杆菌和沙棘果渣是一种适宜的构树青贮添加剂组合。

关键词：构树；青贮；植物乳杆菌；沙棘果渣；微生物多样性

Abstract

In recent years, the livestock industry in Xinjiang has seen rapid development, which has led to the increasing demand for high-quality feed in Xinjiang and the problem of insufficient feed supply capacity. Paper mulberry, as a new type of woody feed rich in high protein, has been introduced into Xinjiang to enrich the local feed resources and solve the problem of feed shortage in Xinjiang. At present, paper mulberry is widely planted in various regions of Xinjiang, but due to the long winter in Xinjiang, the production of paper mulberry forage is large, and a large amount of paper mulberry forage needs to be preserved in silage. However, paper mulberry often faces the problems of high buffering capacity, less water-soluble carbohydrates and easy to be contaminated by stray bacteria in the process of silage preservation. The addition of lactic acid bacteria or sea buckthorn pomace can improve the quality of forage silage fermentation, but it is not clear whether it can improve the quality of paper mulberry silage fermentation. Therefore, the following research work was carried out in this experiment: (1) Screening and isolation of dominant microorganisms in paper mulberry silage fermentation. (2) Treating paper mulberry silage by adding sea buckthorn pomace (BP), *Weissella paramesenteroides* (WS), *Weissella paramesenteroides* and sea buckthorn pomace (WS + BP), *Lactiplantibacillus plantarum* (LP), *Lactiplantibacillus plantarum* and sea buckthorn pomace (LP + BP), *Lactiplantibacillus pentosus* (LB) and *Lactiplantibacillus pentosus* and sea buckthorn pomace (LB + BP) to investigate the effects of dominant microorganisms and sea buckthorn pomace on paper mulberry silage fermentation quality. (3) The effects of dominant microorganisms and sea buckthorn pomace on the microbial community structure of paper mulberry silage were investigated by third-generation high-throughput sequencing technology. The main results are as follows:

(1) Three strains of epiphytic lactic acid bacteria from paper mulberry silage were isolated by screening microorganisms in the silage and identified as WS (*Weissella paramesenteroides*), LP (*Lactiplantibacillus plantarum*) and LB (*Lactiplantibacillus pentosus*).

(2) Silage fermentation was tested by adding three strains of epiphytic lactic acid bacteria and sea buckthorn pomace to paper mulberry. The results of fermentation quality showed that both lactic acid bacteria and sea buckthorn pomace were effective in improving the sensory rating of paper mulberry silage. In the pH test, the rate of pH decrease of LP + BP was significantly faster than that of other treatment groups ($P < 0.05$), and at 60 d of fermentation, LP + BP had the lowest pH value of 4.94. In the ammonium nitrogen test, the rate of increase of ammonium nitrogen of LP + BP was significantly lower than that of other treatment groups ($P < 0.05$), and at 60 d of fermentation, LP + BP had the lowest ammonium nitrogen

content of 2.95% total nitrogen. In the determination of organic acid content, only two organic acids, lactic acid and acetic acid, were detected in silage fermentation in each treatment group, and propionic acid and butyric acid were not detected. At the 60 d of silage fermentation, the lactic acid content of LP + BP was significantly higher than that of the other treatment groups ($P < 0.05$), and the acetic acid content of the LP group was the highest. Significance and main effect analyses revealed that the addition of strain LP was more favourable to lowering the pH of silage than strains WS and LB; the addition of strains LP and LB was more favourable to lowering ammonium nitrogen and increasing acetic acid content than strain WS; and the addition of sea buckthorn pomace was favourable to reducing the ammonium nitrogen content of paper mulberry silage. Through the analysis of the affiliation function, the mean value of the silage quality affiliation function was the largest in the treatment group with the addition of LP + BP, and the best fermentation quality of paper mulberry silage was obtained with the combination of *Lactiplantibacillus plantarum* and sea buckthorn pomace additives.

(3) Nutrient composition assessment tests by paper mulberry inoculation fermentation showed that the addition of strains WS, LP, LB and sea buckthorn pomace all significantly increased dry matter mass, crude protein content and water-soluble carbohydrates ($P < 0.05$). The results of nutrient composition determination showed that: the loss of dry matter at the end of silage fermentation was significantly higher in CK and LB than in the other treatment groups ($P < 0.05$), and the addition of sea buckthorn pomace, strains WS and LP was effective in reducing the loss of dry matter mass; the addition of sea buckthorn pomace significantly reduced the loss of water-soluble carbohydrates ($P < 0.05$); the addition of sea buckthorn pomace and strains WS, LP and LB significantly increased the loss of crude protein content and water-soluble carbohydrates compared to that in control groups ($P < 0.05$). Bacteria significantly increased crude protein content ($P < 0.05$); all treatment groups had no significant effect ($P > 0.05$) on the content of neutral detergent fibre and acid detergent fibre. Significance and main effect analyses revealed that the addition of strain LP was more favourable to the preservation of water-soluble carbohydrates and relative feeding value compared to strains WS and LB, and the addition of sea buckthorn pomace was beneficial in reducing the loss of dry matter mass in paper mulberry silage. By affiliation function analysis, the overall evaluation scores of all treatment groups were higher than those of the control group CK, and the mean value of the affiliation function of the silage nutritive value of the LP + BP treatment group was the largest, and the additive combination of *Lactiplantibacillus plantarum* and sea buckthorn pomace was the most effective in preserving paper mulberries' nutritive components.

(4) The third-generation high-throughput sequencing study showed that the addition of *Lactiplantibacillus* and sea buckthorn pomace had a significant effect on the shaping of microbial communities in paper mulberry silage, which was able to reduce the abundance of harmful bacteria and increase the abundance of beneficial bacteria during the fermentation process *Enterobacteriaceae*

dominated the silage fermentation of CK and BP, while *Lactiplantibacillus* predominated the fermentation of the LP and LP + BP groups. The main microorganisms responsible for the variability of fermentation in the groups were *Lactiplantibacillus pentosus* and *Weissella ramesenteroides*. In the correlation analysis between silage fermentation parameters and microorganisms, *Lactiplantibacillus pentosus* was negatively correlated with the pH value of paper mulberry silage, and positively correlated with the content of lactic acid and acetic acid, which indicated that *Lactiplantibacillus pentosus* was the key microorganism for good quality of paper mulberry silage fermentation. *Weissella cibaria* and *Bacillus pumilus* were positively correlated with dry matter mass, crude protein content, and water-soluble carbohydrates, and were key microorganisms for nutrient retention. In the early stage of the fermentation of paper mulberry silage, it is mainly composed of two kinds of beneficial bacteria, *Weissella cibaria* and *Lactococcus lactis*, and many kinds of harmful bacteria, and when the pH value of paper mulberry silage decreases, *Lactiplantibacillus pentosus* becomes the dominant microorganisms in the fermentation of paper mulberry silage, and the addition of bacterial strains LP and sea buckthorn pomace. The addition of strain LP and sea buckthorn pomace could accelerate this fermentation process.

Paper mulberry silage fermentation experiment was conducted to investigate the effects of three dominant strains of *Lactiplantibacillus plantarum* and sea buckthorn pomace on the fermentation quality and microbial community structure of paper mulberry silage. After evaluation of fermentation quality and nutrient content, it was found that the addition of *Lactiplantibacillus plantarum* and sea buckthorn pomace was effective in improving the fermentation quality of paper mulberry silage and maximising the retention of nutrients in the paper mulberry forage, and that the addition of *Lactiplantibacillus plantarum* and sea buckthorn pomace increased the abundance of beneficial microorganisms in paper mulberry silage and improved the microbial community structure. Therefore, the addition of *Lactiplantibacillus plantarum* and sea buckthorn pomace treatment group is a good combination of additives for paper mulberry silage.

Key words: Paper mulberry; Silage; *Lactiplantibacillus plantarum*; Sea buckthorn pomace; Microbial diversity

目录

摘要.....	II
Abstract.....	IV
目录.....	VI
缩略词.....	XI
第 1 章 绪论.....	1
1.1 青贮发酵的研究.....	1
1.1.1 青贮发酵的原理.....	1
1.1.2 青贮发酵的过程.....	2
1.1.3 构树的营养价值与青贮发酵的研究.....	3
1.2 青贮添加剂的研究进展.....	4
1.2.1 酶类添加剂.....	4
1.2.2 化学添加剂.....	5
1.2.3 微生物添加剂.....	5
1.2.4 农副产品添加剂.....	6
1.2.5 复合添加剂.....	7
1.3 青贮饲料的化学指标.....	8
1.3.1 青贮饲料 pH 值和乳酸.....	8
1.3.2 挥发性酸.....	8
1.3.3 微生物种群.....	9
1.3.4 青贮饲料的感官评定.....	9
1.4 研究内容.....	10
1.5 研究目的及意义.....	10
1.6 技术路线.....	11
第 2 章 构树青贮微生物的分离鉴定和发酵质量的评估.....	12
2.1 试验材料.....	12
2.1.1 构树青贮自然发酵.....	12
2.1.2 乳酸菌分离筛选培养基.....	12
2.1.3 试验仪器.....	12
2.1.4 试验材料与试剂.....	13
2.2 试验方法.....	14

2.2.1	乳酸菌的分离	14
2.2.2	分离菌株 16S rRNA 基因测序	14
2.2.3	乳酸菌生长曲线和产酸曲线的测定	15
2.2.4	构树青贮的制作	15
2.2.5	青贮饲料的感官评定	16
2.2.6	青贮 pH 值和铵态氮的测定	16
2.2.7	青贮有机酸含量的测定	17
2.2.8	数据处理	17
2.3	结果与分析	17
2.3.1	乳酸菌的分离	17
2.3.2	菌株 16S rRNA 基因序列的测定及分析	18
2.3.3	分离菌株系统发育树的构建	18
2.3.4	乳酸菌生长曲线和产酸曲线的绘制	19
2.3.5	构树和沙棘果渣原料的营养成分	20
2.3.6	构树青贮的感官评价分析	20
2.3.7	构树青贮发酵 pH 值的变化	21
2.3.8	构树青贮发酵的铵态氮的变化	22
2.3.9	构树青贮发酵的有机酸的变化	22
2.3.10	构树青贮品质的交互作用显著性分析	23
2.3.11	构树青贮品质的主效应分析	24
2.3.12	构树青贮品质的隶属函数分析	25
2.4	讨论	26
2.4.1	构树自然青贮中的附生乳酸菌	26
2.4.2	乳酸菌和沙棘果渣对构树青贮发酵感官评定的影响	26
2.4.3	乳酸菌和沙棘果渣对构树青贮发酵品质的影响	26
2.5	小结	28
第 3 章	构树青贮营养成分的变化	30
3.1	材料	30
3.1.1	试验仪器	30
3.1.2	试验材料与试剂	30
3.2	试验方法	31
3.2.1	青贮饲料干物质质量的测定	31
3.2.2	青贮饲料粗蛋白的测定	31
3.2.3	青贮饲料中水溶性碳水化合物的测定	32

3.2.4	青贮饲料中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维的测定	32
3.2.5	青贮饲料相对饲用价值的测定	33
3.2.6	数据处理	33
3.3	结果与分析	33
3.3.1	构树青贮过程中干物质质量的变化	33
3.3.2	构树青贮过程中水溶性碳水化合物的变化	34
3.3.3	构树青贮过程中粗蛋白含量的变化	35
3.3.4	构树青贮过程中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量的变化	36
3.3.5	构树青贮的相对饲用价值	37
3.3.6	构树青贮饲料营养价值交互作用显著性分析	38
3.3.7	构树青贮饲料营养价值的主效应分析	39
3.3.8	构树青贮饲料营养价值的隶属函数分析	40
3.4	讨论	41
3.4.1	乳酸菌和沙棘果渣对构树青贮发酵营养成分的影响	41
3.4.2	乳酸菌和沙棘果渣对构树青贮发酵纤维的影响	42
3.5	小结	42
第 4 章	构树青贮发酵微生物群落结构的变化	44
4.1	材料与方法	44
4.1.1	PCR 扩增及 16S rRNA 基因高通量测序	44
4.1.2	生物信息学分析	44
4.2	试验结果	45
4.2.1	构树青贮发酵前后 venn 图对比	45
4.2.2	构树青贮发酵过程中 PCoA 的变化	46
4.2.3	构树青贮发酵微生物 Alpha 指数的变化	46
4.2.4	构树青贮发酵微生物群落的变化	47
4.2.5	随机森林法分析构树青贮微生物群落	49
4.2.6	构树青贮化学成分和微生物的相关性	50
4.3	讨论	51
4.3.1	构树青贮 OTU 水平的变化	51
4.3.2	构树青贮过程中微生物结构的变化	52
4.3.3	细菌群落与青贮化学成分的关系	53
4.4	小结	53
第 5 章	总结与展望	55
5.1	总结	55

5.2 创新点	56
5.3 展望	56
参考文献	57
附 录	67
致谢	72
作者简介	73

缩略词

英文缩写	英文全称	中文名称
English abbreviation	English name	Chinese name
BP	Sea buckthorn pomace	沙棘果渣
FM	Fresh material	新鲜物质
DM	Dry matter	干物质
NH ₃ -N	Ammonia nitrogen	铵态氮
TN	Total nitrogen	总氮
LA	Lactic acid	乳酸
AA	Acetic acid	乙酸
CP	Crude protein	粗蛋白含量
WSC	Water-soluble carbohydrates	水溶性碳水化合物
NDF	Neutral detergent fiber	中性洗涤纤维
ADF	Acid detergent fiber	酸性洗涤纤维
RFV	Relative feed value	相对饲用价值
OTU	Operational taxonomic units	操作分类单元
CCS	Circular consensus sequencing	循环共识测序
PCR	Polymerase chain reaction	聚合酶链反应
PcoA	Principal coordinate analysis	主坐标分析
LDA	Linear discriminant analysis	线性判别分析
LEfSe	Linear discriminant analysis effect size	线性判别分析效应大小

第1章 绪论

随着全球经济的快速发展，人们对于畜牧产品的需求正在不断增加，这对各国的畜牧产业都是极大的考验。目前，阻碍畜牧业发展的主要因素是牲畜的饲料供应不足（李月英等, 2024）。在许多国家，牲畜饲料主要来源于饲料作物、牧草、农作物副产品和谷物。但随着全球人口的增加和人均耕地面积的减少，传统的牧草生产方式已经无法满足牲畜饲养的需求，饲料短缺影响了全球畜产品的可持续生产。因此，需要迫切地开发新的饲料资源，目前营养成分丰富，分布广泛、产量可观的天然木本植物成为应对这一挑战的优质资源（Du et al., 2023）。Bernardes 等人发现饲料作物和草在夏季或热带雨季生长状况良好，但在冬季、旱季或一些寒冷干燥的地区会阻碍饲料作物的生长，而木本植物受到季节因素和环境因素的影响较少（Bernardes et al., 2018）。因此，木本植物作为反刍动物的饲料资源，弥补了传统饲料的不足，具有很大的发展潜力。青贮是饲料作物储存的常用传统技术，也是木本植物能够长期有效保存的重要手段（蒋剑春等, 2023）。应用青贮发酵技术制备木本植物饲料，可以避免饲料原料中营养成分的流失，实现长期贮藏，从而解决冬季或干旱季节饲料短缺的畜牧生产问题。

1.1 青贮发酵的研究

1.1.1 青贮发酵的原理

青贮饲料是一种由新鲜饲料作物、牧草或农作物副产品制成的储存饲料，通常在厌氧条件下通过微生物发酵制备（Muck et al., 2018）。青贮饲料的发酵受多种条件的影响，其中水分、水溶性碳水化合物、青贮原料的缓冲能力和附生的微生物群落是影响发酵过程的重要因素（McDonald et al., 1991）。青贮发酵的适宜水分含量为 60%-70%。在此范围内，促进乳酸菌发酵，抑制腐败微生物的增殖。如果青贮饲料含水量过高，会促进梭菌发酵，产生大量丁酸，分解蛋白质产生铵态氮（ $\text{NH}_3\text{-N}$ ），从而降低青贮饲料的发酵品质（蔡丽春等, 2024）。但如果青贮饲料的含水量过低，乳酸菌的活性会受到抑制，从而减少乳酸的产量，导致青贮饲料的 pH 值无法降低。同时，较低的含水量会导致青贮原料中残留的氧气无法有效地去除，从而导致好氧细菌、真菌、霉菌等有害微生物大量繁殖，使得青贮饲料的发酵质量较差（Du et al., 2022a）。此外青贮饲料在自然发酵过程中，如果青贮饲料中有害微生物的含量大于乳酸菌的含量，那么这些有害微生物会与乳酸菌争夺发酵底物，从而影响青贮饲料的发酵质量。青贮原料的缓冲能力也是影响青贮发酵质量的重要因素之一。Du 等人在研究中发现，木本植物和豆科植物通常有着

较高的缓冲能力，其缓冲能力通常高于 700 mEq/kg 干物质量，这会导致青贮饲料中的 pH 值下降缓慢（Du et al., 2022b）。例如木本植物通常富含钾、钙和镁等矿物离子，这些阳离子会中和青贮发酵产生的有机酸，抑制青贮饲料 pH 值的降低速率。这使得有害微生物能够大量繁殖和分解青贮饲料的营养成分，导致青贮发酵质量较差（Cai, 2021）。

1.1.2 青贮发酵的过程

青贮指的是绿色植物在厌氧酸性的条件下进行保存的一种饲料贮藏方式，这种贮藏方式能够最大限度地保存饲料中的营养成分，延长饲料保存时间（张洁等, 2022）。通常青贮主要分为四个阶段：

（1）青贮的有氧阶段：刚刚采集的新鲜植物原料在切碎装袋后，由于此时植物细胞尚未完全死亡，因此植物还继续进行有氧呼吸，将植物原料中的水溶性碳水化合物分解为二氧化碳和水，导致了青贮饲料中营养成分的损失（严有亮等, 2024）。同时由于在装袋过程中无法完全排除袋内氧气，会导致大量的好氧细菌、真菌和霉菌的快速繁殖，消耗青贮原料中的水溶性碳水化合物和蛋白成分，导致青贮饲料营养成分减少（Ogunade et al., 2018）。

（2）青贮的乳酸发酵阶段：当青贮发酵经历有氧发酵，进入乳酸发酵阶段，也称为厌氧发酵阶段。此时青贮袋内的氧气被消耗殆尽，导致好氧微生物逐渐成为微生物菌群的劣势微生物，而乳酸菌逐渐成为优势微生物种群（张蕾等, 2023）。乳酸菌能够将水溶性碳水化合物转化为乳酸，通过乳酸浓度的不断积累，导致青贮饲料中的 pH 值不断降低，抑制有害微生物的活动（热孜姑丽·库尔班等, 2023）。使得青贮饲料能够最大限度地保留饲料原料中的营养物质。

（3）青贮的稳定阶段：当青贮饲料经历乳酸发酵阶段后，青贮饲料中的 pH 值不断降低，当 pH 达到 4.0 以下绝大多数的微生物包括乳酸菌在内都会停止活动，此时青贮饲料中的营养成分会以极其缓慢的速度被消耗，这使得饲料能以最少营养成分损耗的方式长期储存下来。

（4）青贮的开封阶段：当青贮饲料经历稳定阶段以后，此时青贮饲料已经完成了所有发酵。当青贮饲料进行开封使用时，大量的氧气开始重新进入青贮发酵袋内，大量的好氧细菌、真菌和霉菌开始活动，消耗青贮饲料中的营养成分，导致青贮质量的下降（严旭等, 2023）。如果在青贮发酵的稳定期，青贮饲料中的 pH 较低，那么好氧微生物在这个阶段的活动会受到抑制。但如果在青贮稳定阶段，青贮饲料依然维持一个较高的 pH 值环境，那么这个阶段可能会导致青贮饲料营养成分的大量丢失，导致青贮发酵的失败（刘逸超等, 2023）。

1.1.3 构树的营养价值与青贮发酵的研究

构树 (*Broussonetia papyrifera* L.) 是一种雌雄异株的乔木, 原产于东亚和东南亚大陆, 目前广泛分布于中国、泰国和美国等不同国家和地区 (Hao et al., 2020)。在中国 90 年代, 构树初次广泛种植主要是应用于水土流失的防治 (王鑫洋等, 2023)。近年来, 我国对于构树的营养价值和饲料应用做出了大量的研究, 研究表明, 构树是一种富含粗蛋白、粗脂肪、酚类化合物、萜烯和糖苷等营养物质的植物 (Hao et al., 2021, Zhang et al., 2022)。在医药的研究领域中, 已经确定了构树具有许多的药物价值, 包括抗菌和抗肿瘤作用, 并且构树还具有降低血糖, 增强免疫力和延缓衰老的作用 (Park et al., 2002)。构树的主要活性成分是类黄酮和生物碱物质。黄酮类化合物主要包括槲皮素、异甘草酸和类胡萝卜素。这些化合物的主要功能包括抗氧化、抗炎和抗癌活性 (Chen et al., 2014)。生物碱通常是碱性含氮化合物存在于生物体中, 通常与关键的生理活动有关 (Alia et al., 2014)。在动物育种中, 已经使用了一些相关的植物提取物产品, 被用于减少家禽和猪体内细菌菌落的数量, 减少肠道发酵和肠道相关淋巴系统的活动, 促进肠道黏液的产生 (Hashemi et al., 2011)。

构树还具有很强的抗寒性、抗旱贫瘠性和耐收割性 (Li et al., 2021b), 并且含有大量的蛋白质, 因此构树作为新型饲料资源具有很大的潜力。目前, 中国约有 300 万公顷的构树种植面积, 其中大部分是作为饲料作物种植的, 被用于加工成青贮饲料 (Hao et al., 2020)。新鲜的构树难以消化, 因此, 构树通常通过微生物降解发酵以提高消化率。然而, 由于构树叶中存在的水溶性碳水化合物的含量较低、叶片的缓冲能力较强、乳酸菌含量较少 (Zhang et al., 2022), 自然青贮发酵会导致构树饲料中大量蛋白质水解和丁酸盐含量上升, 因此很难获得高质量的青贮饲料 (Ni et al., 2018, Dong et al., 2020)。并且构树中含有单宁等抗营养因子, 单宁能够与饲料中的蛋白质和水溶性碳水化合物等营养成分结合形成沉淀, 导致构树饲料中的营养成分难以被动物吸收 (Cheng et al., 2021, Guo et al., 2021)。基于这种现状, 已经采取了各种改善措施, 研究了多种添加剂, 以提高构树叶中营养物质的保存。目前在构树的研究中发现萎蔫可以降低含水量, 抑制不良细菌的生长并获得高质量的青贮饲料 (Zhang et al., 2020)。然而, 在实际规模化生产过程中, 长时间的萎蔫不仅难以管理, 而且必然导致大量营养物质的流失, 增加杂菌污染的概率, 导致青贮发酵失败 (Wang et al., 2019a, Zhang et al., 2020)。目前的研究当中在构树青贮饲料中添加微生物添加剂 (如乳酸菌) 和作物副产物 (如米糠或玉米粉) 是改善构树青贮发酵品质的主要方法, 这不仅可以有效改变青贮饲料的微生物结构, 提高其发酵品质, 还可以提高反刍动物的饲料利用率 (Wang et al., 2019b, Du et al., 2022a)。先前的研究表明, 有机酸也可以有效改善构树青贮发酵质量, 在青贮过程中有机酸可以调节构树青贮发酵过程中微生物群落结构的变化, 有效抑制酵母菌、霉菌和芽孢杆菌等不