

引文格式: 廖隽锐, 刘韶娜, 霍金龙, 等. 青贮巨菌草乳酸菌的分离鉴定及其对蚕豆秸秆青贮发酵的效果[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2023, 38(6): 966–972. DOI: [10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).202212023](https://doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).202212023)

青贮巨菌草乳酸菌的分离鉴定及其对蚕豆秸秆青贮发酵的效果*

廖隽锐^{1,2#}, 刘韶娜^{1#}, 霍金龙², 杨福华^{1,2}, 李新荣¹, 常雅洁¹, 赵智勇^{1**}

(1. 云南省畜牧兽医科学院, 云南 昆明 650224; 2. 云南农业大学 动物科学技术学院, 云南 昆明 650201)

摘要:【目的】从青贮巨菌草中筛选分离抑菌性能良好的乳酸菌, 并研究其对蚕豆秸秆青贮发酵的效果。【方法】从青贮巨菌草中分离纯化乳酸菌; 用指示菌(大肠杆菌 K88、鼠伤寒沙门氏菌和金黄色葡萄球菌)筛选获得拮抗菌; 综合菌落形态、革兰氏染色和 16S rDNA 分析对其进行鉴定; 通过生长曲线、产酸和抑菌能力、抗生素耐药性等确定青贮乳酸菌的特性; 用筛选到的具有较强抑菌能力的乳酸菌发酵蚕豆秸秆, 检测蚕豆秸秆的常规营养成分, 并进行感官评价和霉菌毒素含量测定, 确定所筛选乳酸菌对青贮发酵的效果。【结果】从巨菌草青贮产物中筛选到 1 株可抑制大肠杆菌 K88、鼠伤寒沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的乳酸菌 R-01, 并将其鉴定为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)。该菌生长优良, 产酸性能好, 有较强的抑菌能力; 对多种抗生素有较强的耐药性; 将该菌作为添加剂, 能有效提高青贮蚕豆秸秆的营养价值并降低霉菌毒素含量。【结论】筛选鉴定的 R-01 乳酸杆菌具有优良的生长、产酸、抑菌及耐药特性, 可使青贮饲料快速酸化, 能有效保持饲料营养成分, 降低霉菌毒素含量并提升青贮整体效果, 可作为青贮发酵菌株使用。

关键词: 巨菌草; 青贮; 乳酸菌; 蚕豆秸秆; 发酵

中图分类号: S432.42

文献标志码: A

文章编号: 1004-390X (2023) 06-0966-07

Isolation, Identification of a Lactic Acid Bacteria Strain and Its Effect on Fermentation of Broad Bean Straw Silage

LIAO Junrui^{1,2}, LIU Shaona¹, HUO Jinlong², YANG Fuhua^{1,2},

LI Xinrong¹, CHANG Yajie¹, ZHAO Zhiyong¹

(1. Yunnan Academy of Animal Husbandry and Veterinary Sciences, Kunming 650224, China;

2. Faculty of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: [Purpose] To screen and isolate lactic acid bacteria (LAB) with promising bacteriostatic performance from *Pennisetum giganteum* in silage, and to study their effects on fermentation of broad bean straw. [Methods] LAB were isolated and purified from the silage products of *P. giganteum*. *Escherichia coli* K88, *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* were used as indicator bacteria to obtain antagonistic bacteria. The LAB were identified based on colony morphology, Gram

收稿日期: 2022-12-21

修回日期: 2023-11-06

网络首发日期: 2023-12-06

*基金项目: 云南省重大科技专项计划 (202102AE090039); 曲靖麒麟区畜禽养殖废弃物资源化利用产业科技特派团 (202204BI090010)。

作者简介: #对本文贡献等同, 为并列第一作者。廖隽锐 (1999—), 男, 广东广州人, 在读硕士研究生, 主要从事动物畜牧养殖和青贮发酵研究。E-mail: 1037975310@qq.com; 刘韶娜 (1983—), 女, 山东招远人, 硕士, 副研究员, 主要从事动物营养与饲料科学及肠道微生物学研究。

E-mail: 289066103@qq.com

**通信作者 Corresponding author: 赵智勇 (1976—), 男, 云南大姚人, 硕士, 研究员, 主要从事畜禽养殖环境控制研究。E-mail: zhaozhiyong988@163.com

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/53.1044.S.20231205.1101.001>



staining and 16S rDNA. The characteristics of LAB were identified by growth curve, acid producing ability, and antibiotic resistance. The LAB with strong antibacterial ability were used to ferment broad bean straw, and the conventional nutritional components, sensory evaluation and mycotoxin content were analyzed to determine the effect of the screened LAB on silage fermentation. [Results] A strain R-01 with strong inhibitory effect on *E. coli* K88, *S. typhimurium* and *S. aureus* was screened from silage product of *P. giganteum*. It was identified as *Lactobacillus plantarum*, which had good growth, good acid-producing property, strong bacteriostatic ability and strong resistance to many antibiotics. As an additive, R-01 had some unexceptionable characteristics on improving nutritional value of broad bean straw and reducing the content of mycotoxins in silage. [Conclusion] The R-01 screened and identified has excellent characteristics on growth, acid production, bacteriostasis and drug resistance, which can acidify the silage rapidly, effectively maintain the nutrient composition in silage, reduce the mycotoxin content and improve the overall effect of silage, suggesting a promising strain for fermentation in silage.

Keywords: *Pennisetum giganteum*; silage; lactic acid bacteria; broad bean straw; fermentation

青贮涉及复杂的微生物相互作用,其中乳酸菌在青贮过程中发挥重要作用^[1],它能酸化牧草并限制和破坏微生物(如霉菌和细菌)的生长,可最大限度保存饲料营养成分^[2]。在众多微生物添加剂中,乳酸菌添加剂由于其高效生产代谢物的能力及廉价、环保的特点,被认为是动物饲料生产的天然添加剂,广泛应用于牧草发酵^[3]。添加乳酸菌的青贮饲料不仅乳酸含量高于传统发酵的青贮饲料,还可有效提高饲料的干物质回收率^[4]。此外,青贮乳酸杆菌能产生3-羟基癸酸,抑制毕赤酵母、烟曲霉和娄地青霉的生长^[5],可抑制青贮饲料和反刍动物瘤胃中的有害微生物,从而提高动物的健康性能^[6]。但由于青贮发酵过程中产生的微生物群体较为复杂,同一种微生物添加剂在不同地区、原料和气候的影响下对实际生产的效果不同,因此根据具体情况从生产当地分离和筛选优质乳酸菌用于实践对提高青贮品质具有重大现实意义^[7]。

青贮饲料具有原料来源广的特点,因地制宜地选择青贮饲料原料是降低饲料成本的有效方式^[8]。秸秆是成熟农作物茎叶(穗)部分的总称,中国每年秸秆总产量超过7亿t,大部分被就地焚烧^[9]。蚕豆秸秆具有较高的营养和饲喂价值,但目前有关蚕豆秸秆青贮料及其乳酸菌添加剂处理的研究较少^[10]。因此,本研究从巨菌草青贮中分离鉴定具有较强抗菌性能的乳酸菌,并研究其菌株特性,使用优势乳酸菌进行发酵试验,以期对蚕豆秸秆的发酵利用提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料

巨菌草青贮产物来自云南省畜牧兽医科学院。MRS培养基购自青岛海博生物公司,革兰氏染色试剂盒购自北京兰杰柯公司;药敏片购自杭州滨和公司;ELISA试剂盒购自上海酶联生物公司。

1.2 方法

1.2.1 乳酸菌的分离纯化与保存

取青贮样品5g与MRS培养液100mL混匀,菌液接种至MRS培养基,挑选单菌落接种培养,反复挑斑、划线,直至在平板上形成单一纯菌株,编号后贮存于4℃冰箱备用。

1.2.2 乳酸菌的鉴定

菌液接种至MRS培养基培养后,再接种到相应液体培养液中培养,之后进行革兰氏染色。待测菌接种到MRS培养液30℃培养24h,提取总DNA,采用细菌16S rDNA通用引物27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和1492R(5'-TAGGGTTACC-TTGTTACGACTT-3')进行PCR,产物送至昆明擎科有限公司测序。

1.2.3 生长曲线和产酸特性的测定

按照1:1000(体积比)将R-01接种到MRS培养液中,30℃培养24h,每隔2h测定600nm处的吸光度值(OD₆₀₀)和pH值,绘制生长曲线及产酸曲线。

1.2.4 乳酸菌抑菌能力的测定

以金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)和鼠伤寒沙门氏杆菌(*Sal-*

monella typhimurium) 为指示菌配制 10^5 CFU/mL 的 4 mm 直径孔平板, 加入菌液 5 μ L, 30 $^{\circ}$ C 培养 24 h, 用游标卡尺测量抑菌圈直径。

1.2.5 抗生素敏感性的测定

将待测菌加入 40 $^{\circ}$ C 的 MRS 培养基中, 接种量 1%, 摇匀后倒平板。将卡那霉素、庆大霉素和青霉素药敏片贴至培养基表面, 30 $^{\circ}$ C 培养 24 h, 使用电子游标卡尺测量抑菌圈直径, 通过 CLSI 指南确定其抗生素敏感性^[11]。

1.2.6 发酵试验

将蚕豆秸秆和磨碎米糠按照 3 : 1 (质量比) 混合, 向其中加入 R-01 菌液 (1 mL/kg) 作为试验组, 对照组加入同体积无菌水。混匀后各组分装 3 份作为平行试验组, 抽真空发酵 35 d。发酵完成后每个平行组分别取 1 个样品, 测定 pH 值, 根据《青贮饲料质量评定标准》^[12]进行感官评价, 并测定含水率以及中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、干物质、粗灰分、粗蛋白、粗纤维和粗脂肪含量。

1.2.7 饲料霉菌毒素含量的测定

使用 ELISA 试剂盒构建标准曲线, 并测定青贮饲料中呕吐毒素、T2 毒素和黄曲霉毒素的含量。

1.2.8 数据统计与分析

结果用“平均值 $\pm$ 标准误”表示。用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计分析, 两两比较用 *t*-检验, 多组间比较用 one-way ANOVA 检验。

2 结果与分析

2.1 菌种筛选结果

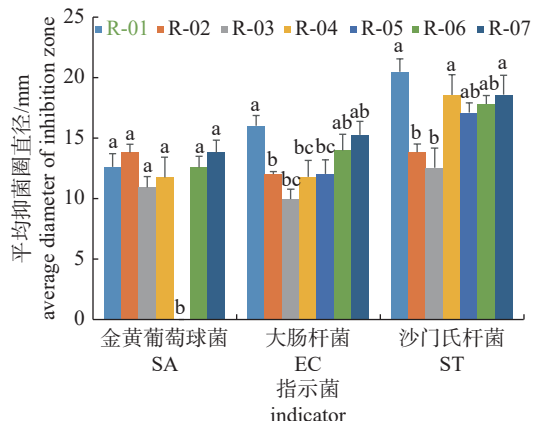
从巨菌草青贮中分离出 7 株可以抑制大肠杆菌、鼠伤寒沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的菌株, 利用凝胶打孔法对 7 株菌进行对比, 筛选出 1 株抑菌圈直径最大、透明度高的菌株, 命名为 R-01 (图 1)。

2.2 菌落形态学特征

R-01 在 MRS 培养基上生长时呈典型的乳酸菌特征: 乳白色、圆形、凸起, 革兰氏阳性; 单菌落镜检呈杆状、单生或多个串生 (图 2)。

2.3 菌种鉴定结果

经测序和比对, R-01 与植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) KJ026699.1、KX078316.1、ON-254155.1、AB904768.1、MT613642.1、MT61170-



注: 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$); SA, *Staphylococcus aureus*; EC, *Escherichia coli*; ST, *Salmonella typhimurium*.

图 1 乳酸菌对 3 种病原菌的拮抗能力分析

Fig. 1 Analysis of antagonistic ability of lactic acid bacteria against three pathogens

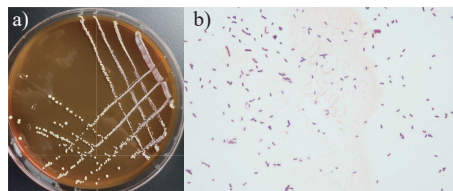


图 2 菌落形态特征 (a) 和革兰氏染色结果 (b)

Fig. 2 Morphological characteristic (a) and Gram staining result (b)

2.1、MT604643.1 和 MT538617.1 的同源性高达 100% (图 3 和图 4)。综合形态学特征及染色结果, 将 R-01 鉴定为植物乳杆菌, 命名为 *L. plantarum* R-01, 并获得其 GenBank 登录号为 OP-459306。

2.4 生长和产酸曲线

由图 5 可知: R-01 生长停滞期很短, 0~2 h 生长速度较缓慢, 2 h 后进入对数期, 14 h 后进入稳定期, 随后略有降低, 但基本保持一致; 随着时间推移, R-01 的 pH 值呈下降趋势, 18 h 达到最低值 (3.6), 随后略有浮动, 但基本保持一致。

2.5 乳酸菌对抗生素的敏感性

R-01 对青霉素产生的抑菌圈直径为 (4.40 ± 0.16) mm, 对卡那霉素和庆大霉素产生的抑菌圈直径均为 (0 ± 0) mm。根据 CLSI 耐药性指南^[11]的判断标准 (抑菌圈 ≤ 14 mm 即为具有耐药性), R-01 对上述 3 种抗生素均具有耐药性。

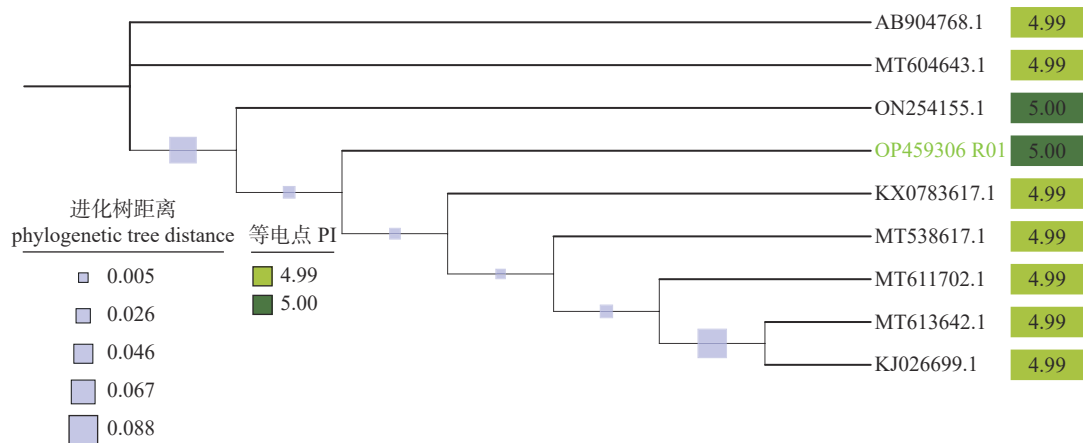


图 3 植物乳杆菌 R-01 的 16S rRNA 序列系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of 16S rRNA sequence of *Lactobacillus plantarum* R-01

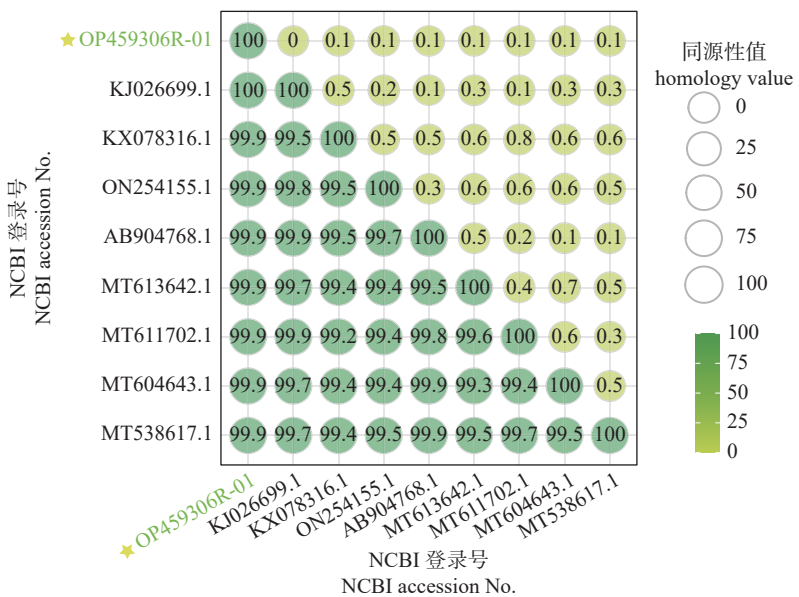


图 4 植物乳杆菌 R-01 的同源性比较

Fig. 4 Homology comparison of *L. plantarum* R-01

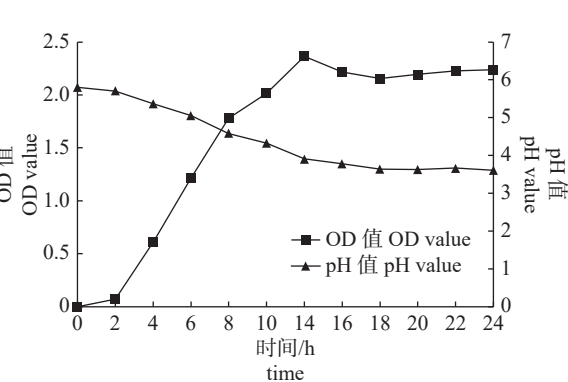


图 5 植物乳杆菌 R-01 的生长和产酸曲线

Fig. 5 Curve of growth and acid producing of *L. plantarum* R-01

2.6 乳酸菌对蚕豆秸秆的发酵能力

由表 1 可知: 与对照组相比, 试验组的 pH 值极显著降低 ($P<0.01$), 粗蛋白含量显著降低 ($P<0.05$), 粗纤维含量显著增加 ($P<0.05$), 粗脂肪含量极显著增加 ($P<0.01$)。青贮感官评价结果显示: 添加 R-01 发酵后, 蚕豆秸秆呈黄绿色, 芳香酸味; 对照组蚕豆秸秆呈黄褐色, 有轻微刺鼻酸味; 两者的茎叶结构均保持良好; 试验组的等级优于对照组。

2.7 饲料霉菌毒素的含量

通过 ELISA 试剂盒构建的呕吐毒素、黄曲霉毒素和 T2 毒素的标准曲线 R^2 分别为 0.999、0.987

表 1 化学成分分析

Tab. 1 Chemical composition analysis

组别 groups	含水率/% water content	干物质/% dry matter	粗灰分/% crude ash	粗纤维/% crude fiber	中性洗涤纤维/% neutral detergent fiber
对照组 control group	58.17±0.19	96.99±0.61	13.34±0.06	23.01±0.51	60.39±0.34
试验组 experimental group	57.94±0.04	96.16±0.45	13.10±0.09	25.50±1.01*	59.77±0.33
组别 groups	酸性洗涤纤维/% acid detergent fiber	粗蛋白/% crude protein	粗脂肪/% crude fat	pH值 pH value	
对照组 control group	60.09±0.18	5.45±0.00	0.38±0.06	4.26±0.01	
试验组 experimental group	59.74±0.46	5.28±0.02*	1.10±0.16**	4.03±0.01**	

注：“*”表示差异显著 ($P<0.05$), “**”表示差异极显著 ($P<0.01$); 下同。
Note: “*” indicates significant differences ($P<0.05$), “**” indicates extremely significant differences ($P<0.01$); the same as below.

和 1.000。使用上述标准曲线计算得出饲料中 3 种霉菌毒素的含量 (表 2) 均显著或极显著低于对照组 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表 2 霉菌毒素含量

Tab. 2 Mycotoxin content

组别 groups	呕吐毒素 deoxynivalenol	黄曲霉毒素 aflatoxin	T2毒素 T2 toxin
对照组 control group	143.95±10.05	0.84±0.03	30.79±1.14
试验组 experimental group	80.80±4.56*	0.34±0.00**	15.24±1.03**

3 讨论

3.1 生长和产酸特性

生长速度和产酸能力是评价乳酸菌在相同条件下利用资源能力的主要参数,是筛选优良乳酸菌的重要指标^[13]。MCDONALD 等^[14]认为乳酸菌添加剂应具有生长速度快、产酸量大、能降低 pH 值和竞争能力强等优势,可抑制有害微生物生长并提升饲料营养。袁洁等^[15]研究表明:生长 2~12 h 乳酸菌处于对数期,最大 OD₆₀₀ 值小于 1.6; YANG 等^[16]研究显示:生长 3 h 乳酸菌进入对数期,最大 OD₆₀₀ 值小于 1.1, pH 值大于 4.5; 徐媛^[17]的研究中,乳酸菌生长 2~8 h 处于对数期, pH 值大于 4。DAUGHTRY 等^[18]和 AGUIRRE-EZKAURIATZA 等^[19]研究发现:乳酸菌生长达到峰值后,先降低再进入稳定期。以上研究与本研究结果相似,但本研究的 R-01 具有更短的生长迟滞期、更大的菌液浓度、更强的产酸能力和更快的产生速度,因此, R-01 在作为乳酸菌接种剂方面具有更大潜力。R-01 生长 14 h 到达峰值后,先有一定程度降低再进入稳定期,这可能是由于乳酸菌生长过程中不断地发酵产出乳酸,随

着乳酸浓度增大, pH 值降低,乳酸菌的生长受到抑制;当乳酸菌凋亡速度大于乳酸菌生长速度时,乳酸菌的活菌数量开始降低。

3.2 抑菌和耐药特性

已有研究发现:乳酸菌的拮抗活性与青贮发酵品质相关^[20],食物链是抗生素耐药菌在动物和人类之间传播的关键途径之一^[21],拮抗活性和抗生素耐药性也是筛选乳酸菌的重要标准之一。研究证明:乳酸菌可抑制金黄色葡萄球菌^[22]、大肠杆菌^[23]和鼠伤寒沙门氏菌^[24],与本研究结果一致。本研究中, R-01 对 3 种抗生素产生的抑菌圈大于已有研究^[22-24],说明 R-01 具有更强的拮抗能力。在耐药性方面,冯伟等^[25]的研究表明大部分乳杆菌对庆大霉素和青霉素敏感;万倩等^[26]的研究结果显示乳杆菌对庆大霉素和青霉素敏感,小部分对卡那霉素有耐药性;陈大卫等^[27]的耐药性试验中,所有菌株对卡那霉素耐药,仅少数菌株对庆大霉素中等敏感。本研究中, R-01 在青霉素、卡那霉素和庆大霉素下产生的抑菌圈均小于 5 mm,表明 R-01 具有很好的广谱抗生素耐药性。

3.3 发酵特性

青贮接种剂是近年来反刍动物饲料保存研究的热点之一,目前普遍认为优质的青贮饲料 pH 值小于 4.2^[28]。本研究中,添加 R-01 的蚕豆秸秆青贮 pH 值降至 4.2 以下,发酵结果与添加乳酸菌发酵花生^[29]、甘薯藤^[30]、玉米^[31]、大豆^[32]和紫花苜蓿^[33]青贮饲料相似,且 R-01 的产酸能力更强;此外,与上述研究相比,蚕豆秸秆青贮饲料的多种营养物质表现出不同的变化,这可能是由于蚕豆秸秆中化学成分的含量、菌株的分解能力以及发酵时间不同所致。本研究中, R-01 处理后的蚕豆秸秆青贮粗蛋白含量显著低于未处理的蚕豆秸秆青贮,这可能是由于 R-01 利用非蛋白

氮的能力较差或蚕豆秸秆中非蛋白氮含量较少所致。本研究处理后的蚕豆青贮粗纤维和粗脂肪含量显著或极显著增加,但在上述前人研究中并未发现类似情况,这可能与 R-01 较强的产酸和抑菌能力有关, R-01 能更快地抑制青贮饲料中的腐败微生物,减少了粗脂肪和粗蛋白的消耗。从蚕豆秸秆青贮的发酵结果可以看出,添加 R-01 的青贮饲料有良好的产酸能力和拮抗活性。

青贮饲料的气味、颜色和结构评估是确定青贮饲料物理质量的最佳方法^[34]。本研究中,相较于自然发酵,使用 R-01 乳酸菌添加剂的青贮蚕豆秸秆饲料保持了青贮原料的颜色,减少了刺鼻酸味,与 ERGIN 等^[34]和 YAN 等^[35]的研究结果一致。ZHANG 等^[36]研究表明:青贮饲料中产生的刺鼻酸味与乙酸含量有关,乙酸的产生与葡萄糖醋杆菌属和肠杆菌属在青贮中的生长有关,它们会将乳酸转化为乙酸和其他有机酸,从而导致 pH 值升高和发酵质量受损^[37]。因此,抑制葡萄糖醋杆菌属和肠杆菌属在青贮蚕豆饲料中的生长,可能是 R-01 乳酸菌添加剂使青贮蚕豆秸秆感官评价提高的原因。

3.4 脱毒特性

消除食品或饲料中的霉菌毒素备受关注。在田间、收获前、收获和青贮阶段,常采取多种措施来限制青贮饲料产生霉菌毒素^[38],其中,使用微生物或酶进行生物净化和生物降解是消除霉菌毒素的最佳解决方案。已有研究^[39-41]发现:乳酸菌可降低饲料中的黄曲霉毒素,但对呕吐毒素和 T2 毒素的抑制效果不显著。GB 12078.3—2006 和 GB 21693—2008 规定饲料中呕吐毒素和 T2 毒素的含量不能大于 1 000 ng/mL;世界卫生组织建议饲料中黄曲霉毒素总量小于 15 ng/mL,本研究青贮饲料中霉菌毒素含量均低于限定值,且 R-01 可使青贮饲料中黄曲霉毒素、呕吐毒素和 T2 毒素含量显著或极显著降低,表明 R-01 具有更广谱的霉菌抑制能力。

4 结论

R-01 具有生长快、pH 值下降速度快、拮抗活性强和抗生素耐药性强的特性。添加 R-01 进行发酵可有效改善饲料化学成分和感官评价等指标,降低饲料中霉菌毒素含量,是优良的青贮接种剂菌种。

[参考文献]

- [1] CARVALHO B, SALES G, SCHWAN R, et al. Criteria for lactic acid bacteria screening to enhance silage quality[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2021, 130(2): 341. DOI: [10.1111/jam.14833](https://doi.org/10.1111/jam.14833).
- [2] KESHRI J, CHEN Y, PINTO R, et al. Bacterial dynamics of wheat silage[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1532. DOI: [10.3389/fmicb.2019.01532](https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01532).
- [3] SOUNDHARRAJAN I, PARK H S, RENGASAMY S, et al. Application and future prospective of lactic acid bacteria as natural additives for silage production: a review[J]. *Applied Sciences*, 2021, 11(17): 8127. DOI: [10.3390/app11178127](https://doi.org/10.3390/app11178127).
- [4] ADDAH W, BAAH J, GROENEWEGER P, et al. Comparison of the fermentation characteristics, aerobic stability and nutritive value of barley and corn silages ensiled with or without a mixed bacterial inoculant[J]. *Canadian Journal of Animal Science*, 2011, 91(1): 133. DOI: [10.4141/CJAS10071](https://doi.org/10.4141/CJAS10071).
- [5] BROBERG A, JACOBSSON K, STROM K, et al. Metabolite profiles of lactic acid bacteria in grass silage[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(17): 5547. DOI: [10.1128/AEM.02939-06](https://doi.org/10.1128/AEM.02939-06).
- [6] GOLLOP N, ZAKIN V, WEINBERG Z. Antibacterial activity of lactic acid bacteria included in inoculants for silage and in silages treated with these inoculants[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2005, 98(3): 662. DOI: [10.1111/j.1365-2672.2004.02504.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02504.x).
- [7] 徐进益, 那彬彬, 刘顺, 等. 青贮饲料的优良乳酸菌及其应用[J]. *生物技术通报*, 2021, 37(9): 39. DOI: [10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2021-0806](https://doi.org/10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2021-0806).
- [8] 苏嘉琪, 辛杭书, 张广宁, 等. 国内外青贮饲料原料来源、品质评价及影响因素的研究进展[J]. *动物营养学报*, 2022, 34(12): 1. DOI: [10.3969/j.issn.1006-267x.2022.12.012](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-267x.2022.12.012).
- [9] 徐晓俞, 李爱萍, 吴凌云, 等. 蚕豆秸秆综合利用研究进展[J]. *福建农业学报*, 2015, 30(2): 204. DOI: [10.19303/j.issn.1008-0384.2015.02.020](https://doi.org/10.19303/j.issn.1008-0384.2015.02.020).
- [10] 崔占鸿, 刘书杰, 柴沙驼, 等. 青海省农牧交错区牦牛 12 种常用粗饲料营养参数的测定[J]. *中国饲料*, 2011(15): 41. DOI: [10.3969/j.issn.1004-3314.2011.15.012](https://doi.org/10.3969/j.issn.1004-3314.2011.15.012).
- [11] HOMBACH M, BLOEMBERG G V, BÖTTGER E C. Effects of clinical breakpoint changes in CLSI guidelines 2010/2011 and EUCAST guidelines 2011 on antibiotic susceptibility test reporting of Gram-negative bacilli[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2012, 67(3): 622. DOI: [10.1093/jac/dkr524](https://doi.org/10.1093/jac/dkr524).
- [12] 佚名. 青贮饲料质量评定标准(试行)[J]. *中国饲料*, 1996(21): 5.
- [13] 刘飞. 青贮饲料中优良乳酸菌的分离鉴定及其应用[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2005.
- [14] MCDONALD P, HENDERSON A, HERON S J E. The biochemistry of silage[M]. Kingston: Chalcombe Publications, 1991.
- [15] 袁洁, 马冉冉, 张文洁, 等. 自然青贮多花黑麦草优良乳酸菌的筛选及对多花黑麦草青贮品质的影响[J]. *草业学报*, 2021, 30(11): 132. DOI: [10.11686/cyxb2021064](https://doi.org/10.11686/cyxb2021064).
- [16] YANG E, FAN L H, YAN J P, et al. Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin

- production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria[J]. AMB Express, 2018, 8(1): 10. DOI: [10.1186/s13568-018-0536-0](https://doi.org/10.1186/s13568-018-0536-0).
- [17] 徐媛. 构树叶乳酸菌分离及对构树青贮品质的影响[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2021.
- [18] DAUGHTRY K V, JOHANNINGSMEIER S D, SAN-OZKY-DAWES R, et al. Phenotypic and genotypic diversity of *Lactobacillus buchneri* strains isolated from spoiled, fermented cucumber[J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 280: 46. DOI: [10.1016/j.ij-foodmicro.2018.04.044](https://doi.org/10.1016/j.ij-foodmicro.2018.04.044).
- [19] AGUIRRE-EZKAURIATZA E, AGUILAR-YÁÑEZ J, RAMÍREZ-MEDRANO A, et al. Production of probiotic biomass (*Lactobacillus casei*) in goat milk whey: comparison of batch, continuous and fed-batch cultures[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(8): 2837. DOI: [10.1016/j.biortech.2009.10.047](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.047).
- [20] AMARAL R C, CARVALHO B F, COSTA D M, et al. Novel lactic acid bacteria strains enhance the conservation of elephant grass silage cv. BRS Capiaçu[J]. Animal Feed Science and Technology, 2020, 264: 114472. DOI: [10.1016/j.anifeedsci.2020.114472](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114472).
- [21] STEFAŃSKA I, KWIECIEŃ E, JÓŹWIAK-PIASECKA K, et al. Antimicrobial susceptibility of lactic acid bacteria strains of potential use as feed additives-the basic safety and usefulness criterion[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2021, 8: 687071. DOI: [10.3389/fvets.2021.687071](https://doi.org/10.3389/fvets.2021.687071).
- [22] GAVRILOVA E, ANISIMOVA E, GABDELKHADIEVA A, et al. Newly isolated lactic acid bacteria from silage targeting biofilms of foodborne pathogens during milk fermentation[J]. BMC Microbiology, 2019, 19(1): 1. DOI: [10.1186/s12866-019-1618-0](https://doi.org/10.1186/s12866-019-1618-0).
- [23] EL-SHENAWY M, DAWOUD E, AMIN G, et al. Antimicrobial activity of some lactic acid bacteria isolated from local environment in Egypt[J]. African Journal of Microbiology Research, 2017, 11(8): 327. DOI: [10.5897/AJMR2016.8191](https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8191).
- [24] ZENG Y, LI Y, WU Q P, et al. Evaluation of the antibacterial activity and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* isolated from Chinese homemade pickles[J]. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology, 2020, 2020: 11. DOI: [10.1155/2020/8818989](https://doi.org/10.1155/2020/8818989).
- [25] 冯伟, 冯雅琪, 徐晶雪. 泡菜中高产乳酸功能性乳酸菌的筛选[J]. 安徽农学通报, 2021, 27(7): 32. DOI: [10.16377/j.cnki.issn1007-7731.2021.07.011](https://doi.org/10.16377/j.cnki.issn1007-7731.2021.07.011).
- [26] 万倩, 李启明, 吴华星, 等. 传统发酵食品中乳酸菌的安全性评估[J]. 现代食品科技, 2021, 37(6): 276. DOI: [10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.6.1057](https://doi.org/10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.6.1057).
- [27] 陈大卫, 张龙飞, 黄玉军, 等. 优良乳酸菌的筛选及其耐药性研究[J]. 轻工科技, 2017(12): 5.
- [28] 周莉. 苜蓿发酵品质的影响因素研究[J]. 饲料研究, 2019, 42(9): 118. DOI: [10.13557/j.cnki.issn1002-2813.2019.09.029](https://doi.org/10.13557/j.cnki.issn1002-2813.2019.09.029).
- [29] DE ALMEIDA RUFINO L D, PEREIRA O G, RIBEIRO K G, et al. Effects of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic potential on the chemical composition and fermentation profile of forage peanut (*Arachis pintoi*) silage[J]. Animal Feed Science and Technology, 2022, 290: 1895. DOI: [10.1016/j.anifeedsci.2022.115340](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115340).
- [30] JOO Y H, KIM D H, PARADHIPTA D H, et al. Effect of microbial inoculants on fermentation quality and aerobic stability of sweet potato vine silage[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2018, 31(12): 1897. DOI: [10.5713/ajas.18.0264](https://doi.org/10.5713/ajas.18.0264).
- [31] PARADHIPTA D H V, LEE S S, KANG B, et al. Dual-purpose inoculants and their effects on corn silage[J]. Microorganisms, 2020, 8(5): 765. DOI: [10.3390/microorganisms8050765](https://doi.org/10.3390/microorganisms8050765).
- [32] DE MORAIS J, JÚNIOR R C, GARCIA T, et al. Chitosan and microbial inoculants in whole-plant soybean silage[J]. The Journal of Agricultural Science, 2021, 159(3/4): 227. DOI: [10.1017/S0021859621000447](https://doi.org/10.1017/S0021859621000447).
- [33] PENG C, SUN W T, DONG X, et al. Isolation, identification and utilization of lactic acid bacteria from silage in a warm and humid climate area[J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 1. DOI: [10.1038/s41598-021-92034-0](https://doi.org/10.1038/s41598-021-92034-0).
- [34] ERGIN S, GUMUS H. Silage quality, fermentation dynamics and chemical composition of alfalfa silage prepared with salt and lactic acid bacteria inoculants[J]. Animal Nutrition and Feed Technology, 2020, 20(3): 367. DOI: [10.5958/0974-181X.2020.00033.5](https://doi.org/10.5958/0974-181X.2020.00033.5).
- [35] YAN Y H, LI X M, GUAN H, et al. Microbial community and fermentation characteristic of Italian ryegrass silage prepared with corn stover and lactic acid bacteria[J]. Bioresource Technology, 2019, 279: 166. DOI: [10.1016/j.biortech.2019.01.107](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.107).
- [36] ZHANG Q, GUO X, ZHENG M Y, et al. Altering microbial communities: a possible way of lactic acid bacteria inoculants changing smell of silage[J]. Animal Feed Science and Technology, 2021, 279: 114998. DOI: [10.1016/j.anifeedsci.2021.114998](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114998).
- [37] ZI X J, LI M, CHEN Y Y, et al. Effects of citric acid and *Lactobacillus plantarum* on silage quality and bacterial diversity of king grass silage[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 631096. DOI: [10.3389/fmicb.2021.631096](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.631096).
- [38] OGUNADE I, JIANG Y, CERVANTES A P, 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): 2048. DOI: [10.3168/jds.2017-12876](https://doi.org/10.3168/jds.2017-12876).
- [39] LI J Y, WANG W B, CHEN S F, et al. Effect of lactic acid bacteria on the fermentation quality and mycotoxins concentrations of corn silage infested with mycotoxigenic fungi[J]. Toxins, 2021, 13(10): 699. DOI: [10.3390/toxins13100699](https://doi.org/10.3390/toxins13100699).
- [40] GALLO A, FANCELLO F, GHILARDELLI F, et al. Effects of several lactic acid bacteria inoculants on fermentation and mycotoxins in corn silage[J]. Animal Feed Science and Technology, 2021, 277: 114962. DOI: [10.1016/j.anifeedsci.2021.114962](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114962).
- [41] KALÚZOVÁ M, KAČÁNIOVÁ M, BÍRO D, et al. The change in microbial diversity and mycotoxins concentration in corn silage after addition of silage additives[J]. Diversity, 2022, 14(8): 592. DOI: [10.3390/d14080592](https://doi.org/10.3390/d14080592).

责任编辑: 何承刚