

DOI:10.11686/cyxb2024224

http://cyxb.magtech.com.cn

毛开, 许艺, 王学梅, 等. 植物乳植杆菌与糖蜜对花生秧青贮饲料发酵品质、生物胺含量及细菌群落的影响. 草业学报, 2025, 34(5): 146—158.

MAO Kai, XU Yi, WANG Xue-mei, *et al.* Effect of *Lactiplantibacillus plantarum* and molasses on the fermentation quality, biogenic amines contents and bacterial community of peanut vine silage. Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(5): 146—158.

# 植物乳植杆菌与糖蜜对花生秧青贮饲料发酵品质、生物胺含量及细菌群落的影响

毛开<sup>1</sup>, 许艺<sup>1</sup>, 王学梅<sup>1</sup>, 柴欢<sup>1</sup>, 黄帅<sup>1</sup>, 王坚<sup>1</sup>, 郇树乾<sup>1</sup>, 玉柱<sup>2</sup>, 王目森<sup>1\*</sup>

(1. 海南大学热带农林学院, 海南海口 570228; 2. 中国农业大学草业科学与技术学院, 北京 100193)

**摘要:**花生秧青贮过程中真蛋白发生大量降解, 游离氨基酸可在氨基酸脱羧酶作用下进一步脱羧形成生物胺。为降低花生秧青贮饲料生物胺含量, 本试验设置以下处理: 蒸馏水(对照), 2% 糖蜜, 植物乳植杆菌( $1 \times 10^6$  菌落形成单位), 2% 糖蜜和植物乳植杆菌复合处理; 每个处理 4 次重复, 青贮 28 d 并分析样品发酵品质、生物胺含量及细菌群落。结果表明, 花生秧自然青贮发酵品质差, 主要生物胺是酪胺( $1338.36 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  干物质)和尸胺( $417.58 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  干物质); 糖蜜与糖蜜和菌复合处理可显著改善发酵品质( $P < 0.001$ ), 降低酪胺、尸胺及总生物胺含量( $P < 0.05$ )。花生秧原料主要细菌是猪副杆菌(17.51%)、蝙蝠假单胞菌(13.06%)、分散泛菌(5.63%)及柠檬色短小杆菌(5.53%); 自然青贮后细菌种类复杂, 以类肠膜魏斯氏菌(22.71%)、植物乳植杆菌(10.67%)、发酵粘液乳杆菌(10.38%)、坎氏魏斯氏菌(9.27%)、戊糖片球菌(8.34%)、蝙蝠假单胞菌(8.07%)、格氏乳球菌(6.74%)及人参皂苷伴生乳杆菌(5.10%)为主。与对照组相比, 糖蜜提高了植物乳植杆菌和类肠膜魏斯氏菌相对丰度, 降低了戊糖片球菌和坎氏魏斯氏菌丰度; 糖蜜和菌复合处理增加了植物乳植杆菌和桥粘液乳杆菌丰度, 优化了细菌群落结构。斯皮尔曼相关性分析表明, 酪胺和尸胺与 pH、丁酸、氨态氮、猪副杆菌、人参皂苷伴生乳杆菌及坎氏魏斯氏菌呈显著正相关( $P < 0.05$ )。综合发酵品质、营养成分及生物胺含量, 糖蜜与糖蜜和菌复合处理组效果较好。

**关键词:**花生秧; 发酵品质; 细菌群落; 生物胺; 青贮饲料

## Effect of *Lactiplantibacillus plantarum* and molasses on the fermentation quality, biogenic amines contents and bacterial community of peanut vine silage

MAO Kai<sup>1</sup>, XU Yi<sup>1</sup>, WANG Xue-mei<sup>1</sup>, CHAI Huan<sup>1</sup>, HUANG Shuai<sup>1</sup>, WANG Jian<sup>1</sup>, HUAN Shu-qian<sup>1</sup>, YU Zhu<sup>2</sup>, WANG Mu-sen<sup>1\*</sup>

1. School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. College of Grassland Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

**Abstract:** During ensiling of peanut (*Arachis hypogaea*) vine, a large proportion of the true protein is degraded and free amino acids are further decarboxylated to form biogenic amines by amino acid decarboxylases. The aim of this study was to identify ways to decrease the biogenic amines contents of peanut vine silage. Peanut vine silage was prepared using distilled water (control) and three different treatments consisting of 2% molasses, *Lactiplantibacillus plantarum* ( $1 \times 10^6$  colony-forming units) and a combination of molasses and *Lacti. plantarum*. Each treatment had four replicates. After 28 days of fermentation, the silage was analyzed to determine the fermentation quality,

收稿日期: 2024-06-11; 改回日期: 2024-08-30

基金项目: 海南大学科研启动基金(KYQDZR22014)和国家重点研发基金(2022YFE0111000, 2022YFD1602300)资助。

作者简介: 毛开(1999—), 男, 河南信阳人, 在读硕士。E-mail: maokai@hainanu.edu.cn

\* 通信作者 Corresponding author. E-mail: wangms@hainanu.edu.cn

biogenic amines contents and bacterial community composition. The results showed that the main biogenic amines in poorly and naturally fermented stylo silage were tyramine ( $1338.36 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  dry matter) and cadaverine ( $417.58 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  dry matter). The application of molasses alone or in combination with *Lacti. plantarum* significantly improved fermentation quality ( $P < 0.001$ ) and decreased the contents of tyramine, cadaverine and total biogenic amine ( $P < 0.05$ ). The bacterial community in the fresh material was dominated by *Parasaccharibacter apium* (17.51%), *Pseudomonas batumici* (13.06%), *Pantoea dispersa* (5.63%) and *Curtobacterium citreum* (5.53%). After ensiling, the composition of the bacterial community in naturally fermented peanut vine silage was complex, mainly composed of *Weissella paramesenteroides* (22.71%), *Lacti. plantarum* (10.67%), *Limosilactobacillus fermentum* (10.38%), *Weissella kandleri* (9.27%), *Pediococcus pentosaceus* (8.34%), *Pseud. batumici* (8.07%), *Lactococcus garvieae* (6.74%) and *Companilactobacillus ginsenosidimutans* (5.10%). Compared with the control, the molasses treatment increased the relative abundance of *Lacti. plantarum* and *Weiss. paramesenteroides* and decreased that of *Pedio. pentosaceus* and *Weiss. kandleri*. In comparison with the control, a combination of molasses and *Lacti. plantarum* improved the bacterial community structure of silage by increasing *Lacti. plantarum* and *Limosilactobacillus pontis* abundance. Spearman correlation analysis results indicated that tyramine and cadaverine were positively related to pH, butyric acid, ammonia nitrogen, *Paras. apium*, *Compa. ginsenosidimutans* and *Weiss. kandleri* ( $P < 0.05$ ). In conclusion, the silages produced with molasses alone or with the combination of molasses and *Lacti. plantarum* showed improved quality, in terms of fermentation quality, nutritional composition and biogenic amines contents.

**Key words:** peanut vine; fermentation quality; bacterial community; biogenic amines; silage

随着我国经济的迅速发展,人民对优质畜产品的需求日益增加,而限制畜产品品质提高的主要因素是优质蛋白饲料的缺乏。花生(*Arachis hypogaea*)秧是花生收获后的副产物,富含粗蛋白、维生素及矿物质,是一种优质廉价的植物性蛋白来源<sup>[1]</sup>。我国花生秧年产量高达2000万~3000万t,花生秧还田会导致生物资源浪费与环境污染,加剧农田土壤酸化<sup>[2]</sup>。因此,充分利用花生秧资源可有效缓解优质蛋白饲料短缺的局面。青贮是常用的保存花生秧的技术之一。花生秧青贮饲料可扩大蛋白饲料来源,质地柔软,适口性好,消化率高,有利于养殖业集约化、规模化经营<sup>[3]</sup>。然而,花生秧青贮过程中真蛋白发生大量降解<sup>[4]</sup>,游离氨基酸在微生物氨基酸脱羧酶作用下脱羧形成生物胺。

生物胺是一类低分子量含氮有机化合物,按照化学结构分为脂肪胺(腐胺、尸胺、精胺及亚精胺)、芳香胺(酪胺和苯乙胺)及杂环胺(组胺和色胺)<sup>[5]</sup>。青贮饲料中高含量生物胺可降低反刍动物适口性和采食量,损伤瘤胃黏膜,引起免疫疾病;生物胺可与亚硝酸盐发生化学反应生成致癌物质亚硝胺;畜产品中生物胺残留量过高会引发食品安全问题<sup>[6]</sup>。因此,降低青贮饲料中生物胺含量对于优质青贮饲料安全生产和畜牧业健康发展具有重要意义。常见的降低青贮饲料生物胺含量的添加剂有:植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)<sup>[7-9]</sup>、布氏乳杆菌(*Lentilactobacillus buchneri*)<sup>[8-10]</sup>及发酵粘液乳杆菌(*Limosilactobacillus fermentum*)<sup>[7]</sup>、糖蜜<sup>[11-12]</sup>、蔗糖<sup>[13-14]</sup>、甲酸<sup>[8,11,14]</sup>、丙酸及苯甲酸钠<sup>[15]</sup>。

目前,青贮饲料中生物胺的研究主要集中在燕麦(*Avena sativa*)、全株玉米(*Zea mays*)、紫花苜蓿(*Medicago sativa*)、全混合日粮及柱花草(*Stylosanthes guianensis*)上,而关于花生秧青贮饲料中生物胺的研究未见报道;植物乳植杆菌和糖蜜常作为发酵促进剂改善青贮品质。因此,本研究旨在探究植物乳植杆菌与糖蜜对花生秧青贮饲料发酵品质、生物胺含量及细菌群落的影响,为实际生产中调制优质安全的花生秧青贮饲料提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 花生秧样品采集与青贮制备

2022年6月29日在海南大学海甸校区农科基地采集花生秧,使用铡刀将其切成2 cm大小,然后立即带入实

验室。糖蜜购自海南万山食品加工发展有限公司;植物乳植杆菌(*Lacti. plantarum* MTD1)购自英国 Ecosyl 产品有限公司(Ecosyl Products Ltd., Stokesley, North Yorkshire, 英国)。将切短的花生秧处理如下:蒸馏水(对照, CK);2%糖蜜(M);植物乳植杆菌( $1 \times 10^6$  CFU·g<sup>-1</sup>, L);2%糖蜜和植物乳植杆菌(ML)。将添加剂与花生秧在塑料盆中手动混合均匀,装入聚乙烯塑料袋中进行真空密封。每个处理4次重复,每袋500 g,室温(20~26 °C)贮藏28 d。

### 1.2 发酵特性与化学成分分析

取20 g样品置于榨汁机(JYL-C23, 九阳股份有限公司, 中国)中,加入180 mL蒸馏水榨汁30 s,然后通过4层粗纱布过滤。所得滤液分为两份,一份使用0.22 μm的有机尼龙滤膜进行处理,使用高效液相色谱仪(岛津 LA-20A, 日本)测定乳酸(lactic acid, LA)、乙酸(acetic acid, AA)、丙酸(propionic acid, PA)、丁酸(butyric acid, BA)的含量<sup>[16]</sup>,其流动相为2.5 mmol·L<sup>-1</sup>硫酸溶液,流速为1 mL·min<sup>-1</sup>,进样量为5 μL,柱温50 °C,检测波长为210 nm。另一份用于pH、氨态氮(ammonia nitrogen, Ammonia-N)和游离氨基酸氮(free amino acid nitrogen, FAA-N)测定。pH使用玻璃电极pH计(PHS-3C, 上海仪电科学仪器股份有限公司)测定;取40 mL上述滤液与10 mL 25% (w/v)的三氯乙酸混合,在4 °C冰箱内过夜以沉淀真蛋白,之后将此溶液在8000 r·min<sup>-1</sup>,4 °C条件下离心10 min,采用苯酚一次氯酸钠法测定 Ammonia-N 含量<sup>[17]</sup>,采用茚三酮—硫酸肼比色法测定 FAA-N 含量<sup>[17]</sup>。

另取80 g样品装入信封袋中,用真空冷冻干燥机(HXLG-10-50B, 上海沪析实业有限公司, 中国)冷冻干燥48 h后,取出测定干物质(dry matter, DM)含量,然后用粉碎机(HBM-8620, 中国)粉碎并过1 mm筛,所得冻干粉置于4 °C冰箱内备用。总氮(total nitrogen, TN)、中性洗涤纤维(neutral detergent fiber, NDF)及酸性洗涤纤维(acid detergent fiber, ADF)含量的测定参照 AOAC<sup>[18]</sup>和 Van Soest 等<sup>[19]</sup>的方法;粗蛋白(crude protein, CP)=TN×6.25;采用蒽酮—硫酸比色法测定水溶性碳水化合物(water-soluble carbohydrates, WSC)含量<sup>[20]</sup>。相对饲用价值(relative feeding value, RFV)由 NDF 和 ADF 含量计算<sup>[21]</sup>。计算公式如下:

$$RFV = [120 / NDF(\%DM)] \times [88.9 - 0.779 \times ADF(\%DM)] / 1.29$$

### 1.3 花生秧青贮饲料发酵品质评定

使用 V-score 评分体系对花生秧青贮饲料发酵品质进行评定。该体系常用于日本粗饲料评定,以 Ammonia-N、AA、PA 及 BA 为指标进行评定,各指标对应分数见表1<sup>[22]</sup>。满分为100分,根据此评分,将青贮饲料发酵品质分为良好(80分以上)、尚可(60~80分)、不良(60分以下)3个级别。

表1 V-score 评分标准

Table 1 V-score scoring criteria

| 氨态氮/总氮<br>Ammonia-N/total nitrogen (%) |                       | 乙酸+丙酸<br>Acetic acid and propionic acid |                       | 丁酸及其他挥发性脂肪酸<br>Butyric acid and other volatile fatty acids |                       | V-score 评分<br>V-score scoring |
|----------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------|-----------------------|------------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------------|
| $X_N$                                  | 计算式 Formula ( $Y_N$ ) | $X_A$                                   | 计算式 Formula ( $Y_A$ ) | $X_B$                                                      | 计算式 Formula ( $Y_B$ ) |                               |
| ≤5                                     | $Y_N=50$              | ≤0.2                                    | $Y_A=10$              | 0~0.5                                                      | $Y_B=40-80X_B$        | $Y=Y_N+Y_A+Y_B$               |
| 5~10                                   | $Y_N=60-2X_N$         | 0.2~1.5                                 | $Y_A=(150-100X_A)/13$ | >0.5                                                       | 0                     |                               |
| 10~20                                  | $Y_N=80-4X_N$         | >1.5                                    | $Y_A=0$               |                                                            |                       |                               |
| >20                                    | $Y_N=0$               |                                         |                       |                                                            |                       |                               |

### 1.4 生物胺分析

采用高效液相色谱—质谱法测定8种生物胺(组胺、腐胺、尸胺、亚精胺、酪胺、精胺、苯乙胺及色胺)含量,该分析由福州贝瑞思生物科技有限公司完成<sup>[14]</sup>。取50 mg样品于离心管中,加入0.5 mL盐酸(0.1 mol·L<sup>-1</sup>),涡旋混匀,室温条件下提取1 h。离心(12000 r·min<sup>-1</sup>, 10 min),取上清液,稀释适当倍数。在瓶中加入10 μL提取样品、70 μL AccQ·Tag Ultra Borate 缓冲液和20 μL AccQ·Tag 试剂。摇匀1 min后,将混合物在55 °C下衍生10 min,待冷却后进行高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)分析。数据采集仪器系统主要

包括超高效液相色谱(Vanquish, UPLC, Thermo, 美国)和高分辨质谱(Q Exactive, Thermo, 美国)。色谱柱采用 Waters BEH C18(50.0 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 进样量为 1 μL; 柱温 55 °C; 流动相: A 相为超纯水(含 0.1% 甲酸), B 相为乙腈(含 0.1% 甲酸); 梯度洗脱, 流速为 0.5 mL·min<sup>-1</sup>。洗脱梯度为: 0 min 水/乙腈(95:5, v/v), 5.5 min 水/乙腈(90:10, v/v), 7.5 min 水/乙腈(75:25, v/v), 8 min 水/乙腈(40:60, v/v), 8.5 min 水/乙腈(95:5, v/v), 13 min 水/乙腈(95:5, v/v)。整个分析过程中样品置于 4 °C 自动进样器中, 采用外标法对生物胺进行定量分析。

1.5 细菌群落分析

细菌群落分析由西安浩瑞基因测序有限公司完成。样品的前处理参照 Wang 等<sup>[23]</sup>的方法, 步骤如下: 取 30 g 样品[新鲜花生秧(fresh peanut vine, FP), 3 个; 青贮饲料每组 3 个, 共 12 个]与 120 mL 无菌生理盐水混合, 置于摇床 120 r·min<sup>-1</sup> 摇匀 20 min, 通过双层粗纱布过滤。滤液在 4 °C 条件下 8000 r·min<sup>-1</sup> 离心 20 min。根据制造商的说明, 使用土壤 DNA 提取试剂盒(天根生物科技有限公司, 北京, 中国)提取总 DNA。用 Nanno Drop-2000 超微量分光光度计(赛默飞世尔科技公司, 美国)和 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 浓度、纯度和质量。所有 DNA 样本均保存于 -20 °C。采用单分子实时(single molecule real-time, SMRT)测序技术, 使用正向引物 27 F(5'-AGRGTT YGATYMTGGCTCAG-3') 和反向引物 1492 R(5'-RGYTACCTTGTTACGACTT-3') 扩增细菌全长 16S rRNA 基因, 每条引物都包含一组 16 个核苷酸的条形码。PCR 扩增的质量控制和序列预处理按照 Ming 等<sup>[24]</sup>和 Mosher 等<sup>[25]</sup>的方法进行。使用 SMRT Bell Template Prep Kit 1.0SPv3(加州太平洋生物科学公司, 美国)构建文库, 使用 PacBio 平台和 DNA/Polymerase Binding Kit 3.0(加州太平洋生物科学公司)进行测序。Shannon 指数和主坐标分析由测序数据得到。数据处理按照 Ming 等<sup>[24]</sup>的方法进行。本研究的所有序列数据均存入 NCBI 数据库, 登录号为 PRJNA1102907。

1.6 统计分析

试验方案为单因素完全随机设计。采用 SPSS 27.0 的单因素方差分析(one-way ANOVA)对青贮饲料发酵特性和生物胺含量进行分析。通过图图云平台(<https://www.cloudtutu.com>)进行斯皮尔曼相关性分析。所有统计学检验均以  $P < 0.05$  为显著差异。

2 结果与分析

2.1 花生秧原料化学成分与生物胺含量

花生秧原料干物质含量为 292.83 g·kg<sup>-1</sup> FM (fresh matter, 鲜样), 粗蛋白含量为 169.69 g·kg<sup>-1</sup> DM, 水溶性碳水化合物含量为 29.71 g·kg<sup>-1</sup> DM, pH 为 5.90, 氨态氮和游离氨基酸氮含量分别为 7.02、4.99 g·kg<sup>-1</sup> TN。花生秧原料中亚精胺含量(28.76 mg·kg<sup>-1</sup> DM) 最高, 其次是精胺(15.05 mg·kg<sup>-1</sup> DM)、尸胺(10.49 mg·kg<sup>-1</sup> DM)、腐胺(9.70 mg·kg<sup>-1</sup> DM)、苯乙胺(4.88 mg·kg<sup>-1</sup> DM)、酪胺(2.87 mg·kg<sup>-1</sup> DM)和色胺(2.41 mg·kg<sup>-1</sup> DM), 未检测到组胺, 总生物胺含量为 74.16 mg·kg<sup>-1</sup> DM(表 2)。

表 2 花生秧原料化学成分与生物胺含量

Table 2 Chemical composition and biogenic amines contents of peanut vine before ensiling

| 项目 Items                                           | 含量 Content |
|----------------------------------------------------|------------|
| 干物质 DM (g·kg <sup>-1</sup> FM)                     | 292.83     |
| 粗蛋白 CP (g·kg <sup>-1</sup> DM)                     | 169.69     |
| 氨态氮 Ammonia-N (g·kg <sup>-1</sup> TN)              | 7.02       |
| 游离氨基酸氮 FAA-N (g·kg <sup>-1</sup> TN)               | 4.99       |
| 水溶性碳水化合物 WSC (g·kg <sup>-1</sup> DM)               | 29.71      |
| pH                                                 | 5.90       |
| 中性洗涤纤维 NDF (g·kg <sup>-1</sup> DM)                 | 376.90     |
| 酸性洗涤纤维 ADF (g·kg <sup>-1</sup> DM)                 | 239.05     |
| 相对饲用价值 RFV                                         | 173.40     |
| 组胺 Histamine (mg·kg <sup>-1</sup> DM)              | 0.00       |
| 腐胺 Putrescine (mg·kg <sup>-1</sup> DM)             | 9.70       |
| 尸胺 Cadaverine (mg·kg <sup>-1</sup> DM)             | 10.49      |
| 亚精胺 Spermidine (mg·kg <sup>-1</sup> DM)            | 28.76      |
| 酪胺 Tyramine (mg·kg <sup>-1</sup> DM)               | 2.87       |
| 精胺 Spermine (mg·kg <sup>-1</sup> DM)               | 15.05      |
| 苯乙胺 Phenethylamine (mg·kg <sup>-1</sup> DM)        | 4.88       |
| 色胺 Tryptamine (mg·kg <sup>-1</sup> DM)             | 2.41       |
| 总生物胺 Total biogenic amine (mg·kg <sup>-1</sup> DM) | 74.16      |

DM: 干物质 Dry matter; FM: 鲜样 Fresh matter; CP: 粗蛋白 Crude protein; TN: 总氮 Total nitrogen; WSC: 水溶性碳水化合物 Water-soluble carbohydrates; Ammonia-N: 氨态氮 Ammonia nitrogen; FAA-N: 游离氨基酸氮 Free amino acid nitrogen; NDF: 中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber; ADF: 酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber; RFV: 相对饲用价值 Relative feeding value. 下同 The same below.

## 2.2 花生秧青贮饲料发酵特性

试验结果表明(表3),添加剂对pH、乳酸、乙酸、乳乙比、丙酸、丁酸、氨态氮、V-score评分、干物质、游离氨基酸氮及水溶性碳水化合物含量均有显著影响( $P<0.05$ )。CK组pH及氨态氮含量较高,发酵品质V-score评分较低;与CK组相比,M和ML处理显著降低了花生秧pH、丁酸及氨态氮含量( $P<0.001$ ),显著增加了V-score评分( $P<0.001$ ),发酵品质优良;L处理显著提高了乙酸、丙酸、丁酸及氨态氮含量( $P<0.05$ ),降低了乳酸和乳乙比( $P<0.001$ )。与CK和L组相比,糖蜜显著增加了水溶性碳水化合物含量( $P<0.001$ )。L组干物质含量显著低于M和ML组( $P<0.05$ );ML组干物质含量最高,但与CK组和M组相比差异不显著( $P>0.05$ )。L组游离氨基酸氮含量最高,且与其他3组相比差异极显著( $P<0.001$ )。

表3 花生秧青贮饲料发酵特性

Table 3 Fermentation characteristics of peanut vine silage

| 项目<br>Items                                           | 处理 Treatments |         |         |         | 标准误<br>SEM | P值<br>P-value |
|-------------------------------------------------------|---------------|---------|---------|---------|------------|---------------|
|                                                       | CK            | M       | L       | ML      |            |               |
| pH                                                    | 5.45A         | 4.93B   | 5.55A   | 4.88B   | 0.048      | $<0.001$      |
| 乳酸 Lactic acid ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DM)    | 23.67B        | 50.13A  | 18.20C  | 48.90A  | 2.100      | $<0.001$      |
| 乙酸 Acetic acid ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DM)    | 17.83B        | 22.43A  | 24.97A  | 21.00A  | 1.750      | 0.010         |
| 乳乙比 Lactic acid to acetic acid                        | 1.52B         | 2.37A   | 0.78C   | 2.36A   | 0.120      | $<0.001$      |
| 丙酸 Propionic acid ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DM) | 16.39B        | 22.12A  | 20.70A  | 20.08A  | 1.390      | 0.011         |
| 丁酸 Butyric acid ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DM)   | 10.64B        | 2.56C   | 11.72A  | 2.23C   | 0.120      | $<0.001$      |
| 氨态氮 Ammonia-N ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ TN)     | 92.78B        | 79.88C  | 107.12A | 66.87D  | 4.420      | $<0.001$      |
| V-score 评分 V-score scoring                            | 63.12C        | 81.87B  | 56.14D  | 84.29A  | 0.920      | $<0.001$      |
| 干物质 DM ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ FM)            | 271.87AB      | 276.35A | 263.05B | 280.18A | 0.450      | 0.015         |
| 粗蛋白 CP ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DM)            | 158.37        | 161.18  | 152.05  | 157.03  | 3.740      | 0.147         |
| 游离氨基酸氮 FAA-N ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ TN)      | 180.19B       | 189.44B | 233.22A | 166.04B | 8.180      | $<0.001$      |
| 水溶性碳水化合物 WSC ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DM)      | 5.89D         | 8.05B   | 6.75C   | 8.84A   | 0.290      | $<0.001$      |
| 中性洗涤纤维 NDF ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DM)        | 388.36        | 352.76  | 363.30  | 363.88  | 20.300     | 0.129         |
| 酸性洗涤纤维 ADF ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DM)        | 248.85        | 226.13  | 243.65  | 242.28  | 9.820      | 0.053         |
| 相对饲用价值 RFV                                            | 168.02        | 188.43  | 179.11  | 180.44  | 11.300     | 0.387         |

SEM: 标准误 Standard error of mean; CK: 蒸馏水 Distilled water; M: 2% 糖蜜 2% molasses; L: 植物乳植杆菌 *Lacti. plantarum* MTD1; ML: 2% 糖蜜和植物乳植杆菌 2% molasses and *Lacti. plantarum* MTD1. 同行不同大写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。Different capital letters in the same row indicate significant differences ( $P<0.05$ ), 下同 The same below.

## 2.3 花生秧青贮饲料生物胺含量

CK组发酵后酪胺( $1338.36\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  DM)和尸胺( $417.58\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  DM)含量迅速增加并成为主要生物胺,而组胺、腐胺、精胺、亚精胺、苯乙胺和色胺含量均较低( $<100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  DM),CK组总生物胺含量为 $1956.91\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  DM。与CK组相比,M、L及ML处理显著降低了酪胺、尸胺及总生物胺含量( $P<0.001$ ),ML处理总生物胺( $879.42\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  DM)降低效果最好。M和ML组中组胺含量分别为408.42和461.57  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  DM,显著高于CK和L组( $P<0.001$ ,表4)。

## 2.4 花生秧原料及其青贮饲料细菌群落

花生秧原料及其青贮饲料细菌群落多样性如图1所示。鲜样中Shannon指数最高,其次为CK、M及ML组,L组最低(图1A)。根据主坐标分析(principal co-ordinates analysis,PCoA),15个样品可清晰地分成5组(图1B)。花生秧青贮饲料属和种水平的细菌群落组成如图2所示,花生秧鲜样细菌群落组成复杂,在属水平上主要细菌为假单胞菌属(*Pseudomonas*, 13.81%)、副杆菌属(*Parasaccharibacter*, 17.47%)、甲基杆菌属(*Methylobacterium*,

表 4 花生秧青贮饲料生物胺含量

Table 4 Biogenic amines contents of peanut vine silage (mg·kg<sup>-1</sup> DM)

| 项目<br>Items               | 处理 Treatments |          |          |         | 标准误<br>SEM | P 值<br>P-value |
|---------------------------|---------------|----------|----------|---------|------------|----------------|
|                           | CK            | M        | L        | ML      |            |                |
| 酪胺 Tyramine               | 1338.36A      | 561.57C  | 968.54B  | 274.68D | 92.63      | <0.001         |
| 尸胺 Cadaverine             | 417.58A       | 164.17C  | 289.00B  | 58.45D  | 30.47      | <0.001         |
| 组胺 Histamine              | 11.78B        | 408.42A  | 57.72B   | 461.57A | 33.72      | <0.001         |
| 腐胺 Putrescine             | 68.94A        | 50.05AB  | 57.88A   | 37.55B  | 7.97       | 0.024          |
| 苯乙胺 Phenethylamine        | 62.90A        | 10.35C   | 17.03B   | 6.36D   | 2.44       | <0.001         |
| 亚精胺 Spermidine            | 29.18B        | 33.45A   | 22.28C   | 24.93C  | 1.69       | <0.001         |
| 精胺 Spermine               | 8.90B         | 12.75A   | 11.68A   | 12.58A  | 0.96       | 0.013          |
| 色胺 Tryptamine             | 19.28AB       | 13.75B   | 24.88A   | 3.30C   | 2.70       | <0.001         |
| 总生物胺 Total biogenic amine | 1956.91A      | 1254.50B | 1449.01B | 879.42C | 128.11     | <0.001         |

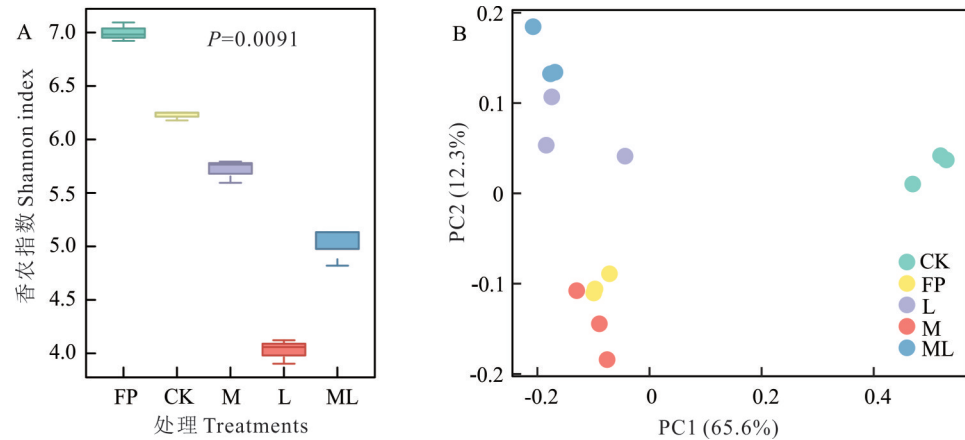


图 1 花生秧原料及其青贮饲料香农指数和主坐标分析

Fig. 1 Shannon index and principal coordinate analysis of fresh and ensiled peanut vine

A: 细菌群落香农指数 Bacterial community Shannon index; B: 细菌群落主坐标分析 Bacterial community principal coordinate analysis. FP: 花生秧鲜样 Fresh peanut vine; CK: 蒸馏水 Distilled water; M: 2% 糖蜜 2% molasses; L: 植物乳植杆菌 *Lacti. plantarum* MTD1; ML: 2% 糖蜜和植物乳植杆菌 2% molasses and *Lacti. plantarum* MTD1. 下同 The same below.

17.50%)、短小杆菌属(*Curtobacterium*, 5.53%)及鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*, 6.04%, 图 2A)。青贮 28 d 后, CK 组优势菌属与鲜样相比发生明显变化, 其中乳植杆菌属(*Lactiplantibacillus*, 10.67%)、魏斯氏菌属(*Weissella*, 34.95%)、粘液乳杆菌属(*Limosilactobacillus*, 10.38%)、假单胞菌属(8.07%)和乳球菌属(*Lactococcus*, 8.65%)为前 5 种优势菌属。M 组优势菌属组成与 CK 组相似, 但乳植杆菌属(22.61%)、魏斯氏菌属(37.32%)、粘液乳杆菌属(14.18%)和乳球菌属(9.84%)相对丰度高于 CK 组; 假单胞菌属(7.40%)相对丰度低于 CK 组。L 组与 CK 组相比优势菌组成相对简单, 乳植杆菌属(86.78%)占主导地位。ML 组优势菌属为乳植杆菌属(49.69%)、魏斯氏菌属(2.29%)和粘液乳杆菌属(39.54%)。种水平上, 不同组之间的细菌群落组成存在差异。鲜样主要为猪副杆菌(*Paras. apium*, 17.51%)、蝙蝠假单胞菌(*Pseud. batumici*, 13.06%)、分散泛菌(*Panto. dispersa*, 5.63%)和柠檬色短小杆菌(*Curto. citreum*, 5.53%, 图 2B)。随着植物乳植杆菌的添加, L 组和 ML 组群落组成趋于简单, 优势菌种均为植物乳植杆菌且相对丰度分别为 86.78% 和 49.69%。CK 组与 M 组细菌群落组成相似, 但 M 组植物乳植杆菌(22.61%)、类肠膜魏斯氏菌(*Weiss. paramesenteroides*, 29.40%)和发酵粘液乳杆菌(12.75%)相对丰度高于 CK 组。

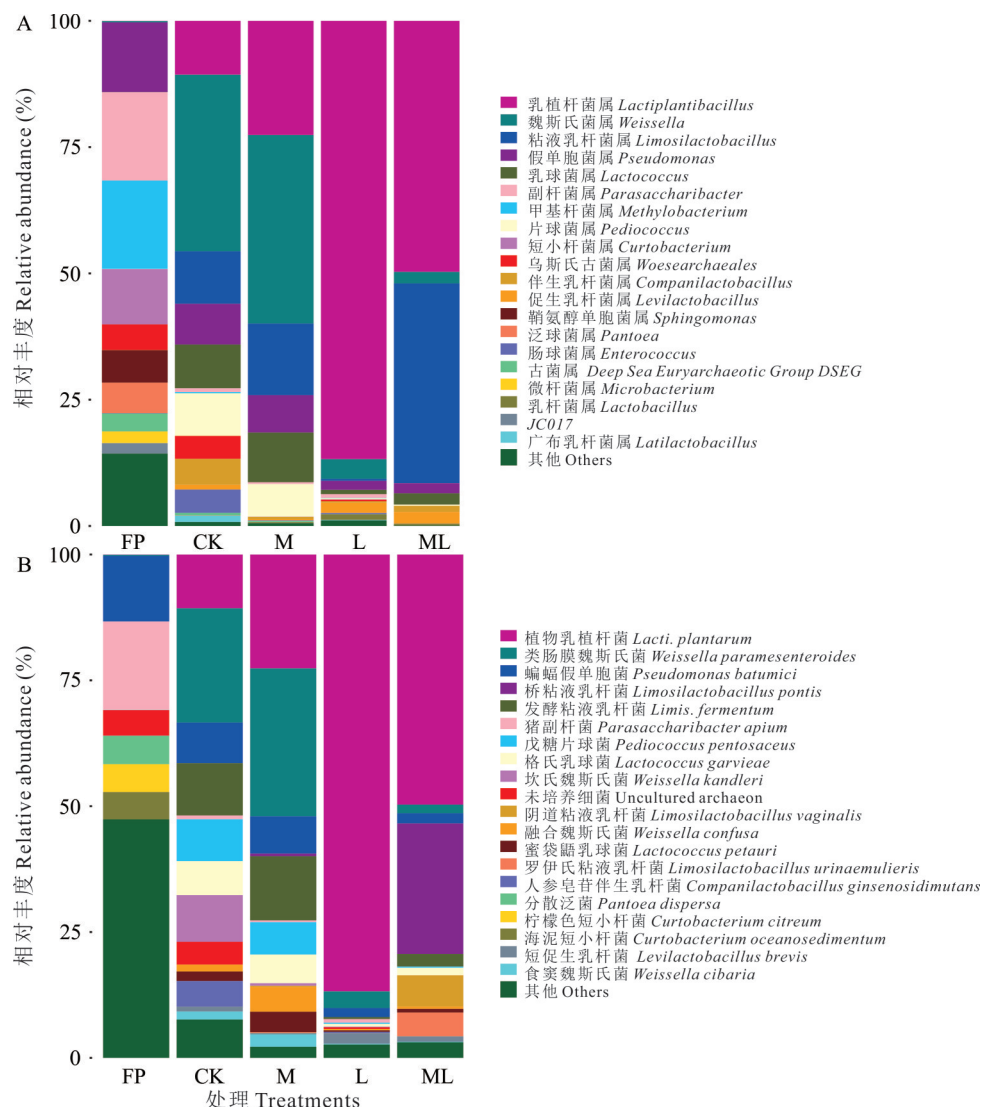


图2 花生秧原料及其青贮饲料细菌群落

Fig. 2 Bacterial community of fresh and ensiled peanut vine

A: 属水平相对丰度 Relative abundance of bacterial community at the genus level; B: 种水平相对丰度 Relative abundance of bacterial community at the species level.

### 2.5 花生秧青贮饲料发酵特性和优势细菌与生物胺相关性分析

花生秧青贮饲料发酵特性和优势细菌与生物胺相关性分析结果表明(图3),酪胺和尸胺与pH、丁酸、氨态氮呈显著正相关( $P < 0.01$ ),与乳乙比、水溶性碳水化合物、乳酸、V-score评分及干物质呈显著负相关( $P < 0.05$ ,图3A);酪胺和尸胺与坎氏魏斯氏菌(*Weiss. kandleri*)、人参皂苷伴生乳杆菌(*Compa. ginsenosidimutans*)和猪副杆菌之间呈显著正相关( $P < 0.05$ ),与桥粘液乳杆菌(*Limos. pontis*)、阴道粘液乳杆菌(*Limos. vaginalis*)和罗伊氏粘液乳杆菌(*Limos. urinaemulieris*)呈显著负相关( $P < 0.05$ ,图3B)。组胺与乳乙比、水溶性碳水化合物、乳酸、V-score及干物质呈显著正相关( $P < 0.01$ ),与pH、丁酸、氨态氮及游离氨基酸氮呈显著负相关( $P < 0.05$ );组胺与桥粘液乳杆菌、阴道粘液乳杆菌和罗伊氏粘液乳杆菌呈显著正相关( $P < 0.05$ ),与坎氏魏斯氏菌、人参皂苷伴生乳杆菌及猪副杆菌呈显著负相关( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 花生秧原料

WSC和DM含量是影响原料青贮能力的重要因素,本试验花生秧鲜样中WSC含量低于理想的含量(60~80

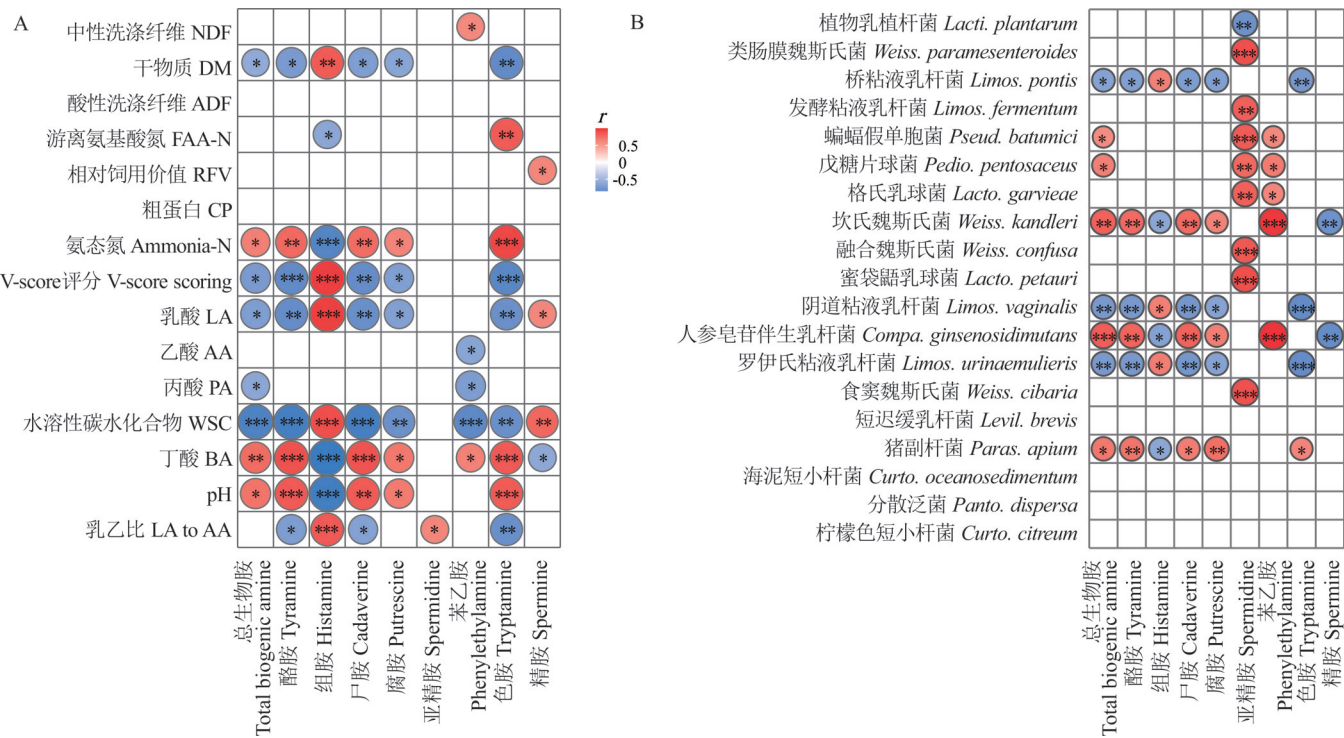


图 3 花生秧青贮饲料发酵特性和优势细菌与生物胺相关性分析

**Fig. 3 Correlation analysis between fermentation characteristics and predominant bacteria with biogenic amines**

A: 花生秧青贮饲料发酵特性与生物胺相关性分析 The correlation analysis between fermentation characteristics and biogenic amines; B: 优势细菌与生物胺相关性分析 The correlation analysis between predominant bacteria and biogenic amines. NDF: 中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber; DM: 干物质 Dry matter; ADF: 酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber; FAA-N: 游离氨基酸氮 Free amino acid nitrogen; RFV: 相对饲用价值 Relative feed value; CP: 粗蛋白 Crude protein; Ammonia-N: 氨态氮 Ammonia nitrogen; LA: 乳酸 Lactic acid; AA: 乙酸 Acetic acid; PA: 丙酸 Propionic acid; WSC: 水溶性碳水化合物 Water-soluble carbohydrates; BA: 丁酸 Butyric acid; LA to AA: 乳乙比 Lactic acid to acetic acid. \*表示相关性显著 ( $P<0.05$ ), \*\*表示相关性极显著 ( $P<0.01$ ), \*\*\*表示相关性极显著 ( $P<0.001$ ). \* indicates significant correlation ( $P<0.05$ ), \*\* indicates extremely significant correlation ( $P<0.01$ ), \*\*\* indicates extremely significant correlation ( $P<0.001$ ).

$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DM}$ )<sup>[26]</sup>,这可能会导致乳酸菌发酵底物不足;CP含量高于先前的研究报道<sup>[27]</sup>,可能是受品种和采摘期的影响。花生秧鲜样DM含量为 $292.83 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ FM}$ ,低于优质青贮饲料的理想DM含量( $300 \sim 400 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ FM}$ )<sup>[28]</sup>。本试验鲜样中主要生物胺为亚精胺、精胺、尸胺及腐胺,与Li等<sup>[13]</sup>和Jia等<sup>[29]</sup>的研究结果基本一致。

3.2 植物乳植杆菌与糖蜜对花生秧青贮饲料发酵特性及化学成分的影响

评价青贮饲料发酵品质常用的指标有pH、有机酸和Ammonia-N。本研究表明,M和ML对花生秧青贮饲料的LA发酵有显著的促进作用。发酵理想的青贮饲料中,同型发酵乳酸菌利用WSC进行生长繁殖,产生大量LA,从而快速降低pH。本试验中,LA、AA和PA是花生秧青贮饲料的主要有机酸,M和ML组中BA含量较低,LA浓度较高,而L组中LA浓度在青贮后反而低于CK组,原因可能是花生秧鲜样中WSC含量低,难以为乳酸菌提供充足底物进行同型发酵,从而降低LA产量,而M的添加为乳酸菌提供充足底物,有助于其主导青贮微生物群落。相关研究发现,在青贮发酵的早期阶段,原料附着的乳酸菌会影响LA的增加速率和pH值的下降<sup>[30]</sup>。本试验中单独接种L对青贮饲料pH影响不大,这与其低LA含量相对应,Ni等<sup>[26]</sup>在平板培养法中研究大豆(*Glycine max*)秸秆青贮饲料pH变化发现,单独添加L发酵28 d后pH与CK组相比无显著差异。与对照相比,不同接种剂的添加提高了青贮饲料的AA浓度。一般来说,AA是异型发酵途径的终产物之一,原因可能是随着青贮时间的延长,LA转化为AA,这与Jahanzad等<sup>[31]</sup>的研究结果一致。乳乙比通常被用作发酵的定性指标,发酵良好的青贮饲料乳乙比约为 $2.5 \sim 3.0$ <sup>[3]</sup>。本试验中,4组青贮饲料乳乙比均低于2.5,M和ML组的青贮饲料乳乙比显著增高,表明在发酵开始时,M和ML的添加加速了青贮饲料中的同型乳酸菌发酵。

Ammonia-N与FAA-N均为蛋白降解所形成的非蛋白氮,是发酵过程中氮元素损失的主要途径,含量过高会

降低青贮饲料的品质。由于非蛋白氮组分不能被反刍动物有效利用,从而导致过多的氮排出体外,造成污染<sup>[32]</sup>。在M和ML组中低Ammonia-N与FAA-N含量可能是两组发酵过程中快速酸化抑制了氮组分降解,这与这两组中高CP含量相对应,而L组的Ammonia-N与FAA-N含量最高,表明其发酵过程中存在更多的蛋白降解,这也与其最低的CP含量相对应。WSC因其在青贮前期作为可发酵底物,故在发酵过程中发挥着至关重要的作用。本试验中,在青贮28 d后,M组与ML组中观察到较高的WSC含量;CK组中WSC含量最低。Zhao等<sup>[33]</sup>研究发现,糖蜜、植物乳植杆菌及其复合添加在水稻(*Oryza sativa*)秸秆青贮中均比对照保留了更高的WSC含量。原因一方面是糖蜜的添加增加了WSC含量,另一方面是在酸性条件下,淀粉和纤维素可以被微生物和植物酶降解为简单的WSC。V-score评分是综合评价青贮饲料品质的重要指标<sup>[22]</sup>,本试验结果表明,单独使用植物乳植杆菌的青贮效果较差,糖蜜与植物乳植杆菌复合处理的青贮饲料品质最高。NDF和ADF分别影响饲料的采食率和消化率,是评估饲料营养价值的重要指标。本试验中青贮后NDF和ADF含量下降,但不同组之间差异不显著。根据NDF和ADF含量计算的RFV是评估饲料饲用价值的常用指标<sup>[34]</sup>。本试验中M和ML组的RFV值均高于CK组,表明其具备较高的饲用价值。

### 3.3 植物乳植杆菌与糖蜜对花生秧青贮饲料生物胺含量的影响

生物胺在青贮饲料和发酵饲料中普遍存在<sup>[10,35-36]</sup>,其可与亚硝酸盐反应生成亚硝胺(强致癌物质)。花生秧作为豆科饲草,其青贮过程中真蛋白降解成肽类和游离氨基酸,游离氨基酸在微生物氨基酸脱羧酶作用下可脱羧形成生物胺。本试验结果表明,花生秧青贮饲料主要生物胺为酪胺和尸胺,该结果与燕麦青贮饲料、多年生黑麦草(*Lolium multiflorum*)青贮饲料和玉米秸秆青贮饲料一致<sup>[13,15]</sup>,但不同于苜蓿青贮饲料<sup>[35]</sup>。组胺和酪胺是青贮饲料和发酵饲料中毒性较强的生物胺,其他生物胺(腐胺、亚精胺、尸胺和精胺)可增强组胺和酪胺毒性。酪胺由酪氨酸通过羟色氨酸脱羧酶或酪氨酸脱羧酶形成;组胺由组氨酸脱羧酶通过组氨酸脱羧产生。所有青贮饲料中尸胺含量均高于腐胺含量,M、L和ML组中总生物胺含量分别降低36%、26%和55%。单独添加植物乳植杆菌后生物胺含量显著降低,但高于M和ML组,原因可能是植物乳植杆菌为氨基酸脱羧酶阳性微生物<sup>[37]</sup>,但生物胺的积累不仅与乳酸菌添加剂自身有关,其对青贮发酵品质的调控也可能影响生物胺的生成。M和ML组显著降低花生秧青贮饲料中酪胺、尸胺和苯乙胺含量,其中ML组的降低最显著。研究表明,乳酸可以减少生物胺的含量<sup>[38]</sup>。M和ML组乳酸含量显著增加,抑制了有害微生物生长,进而防止生物胺的积累。由于生物胺的毒性剂量与它们的组成、机制和个体耐受性有关,目前还没有青贮饲料中生物胺的严格限量标准,可以参考发酵食品中的限量标准:酪胺,100~800 mg·kg<sup>-1</sup> DM;总生物胺,1000 mg·kg<sup>-1</sup> DM<sup>[39]</sup>。本试验中只有ML组符合上述标准。青贮饲料中生物胺的种类和含量的差异可能是由于饲料原料、微生物群落和发酵条件的不同造成的。

### 3.4 植物乳植杆菌与糖蜜对花生秧青贮饲料细菌群落的影响

青贮后细菌群落的 $\alpha$ 多样性显著降低,M、L和ML组Shannon指数均低于对照,意味着其微生物种类较低。植物乳植杆菌的添加使乳植杆菌属相对丰度显著增高,从而导致细菌群落组成相对简单。Xu等<sup>[40]</sup>的研究表明,当优势菌的组成相对简单时,青贮过程中的 $\alpha$ 多样性降低;糖蜜的添加为发酵提供底物,降低了青贮饲料pH,低pH可抑制微生物生长,降低微生物多样性,Wang等<sup>[41]</sup>研究表明在牧草青贮时添加L和M也表现出类似的结果。 $\beta$ 多样性结果表明不同组之间细菌群落组成存在差异,表明不同处理是影响花生秧微生物群落差异的重要因素。

乳杆菌属、片球菌属、乳球菌属等是青贮中主要的菌属<sup>[42]</sup>;目前乳杆菌属重新被分成包括乳植杆菌、粘液乳杆菌、伴生乳杆菌、迟缓乳杆菌等在内的25个属<sup>[43]</sup>。花生秧青贮前后,优势细菌由假单胞菌属、副杆菌属和甲基杆菌属向乳植杆菌属和魏斯氏菌属转变,原因在于假单胞菌属和甲基杆菌属等为好氧性细菌,在厌氧条件下难以生长;乳植杆菌属和魏斯氏菌属作为厌氧型细菌,在青贮中启动乳酸发酵,并大量积累。糖蜜的添加未改变青贮饲料的细菌群落组成,但扩大了乳植杆菌属和魏斯氏菌属等优势菌群的相对丰度,这也与M组较低的pH和较高的LA含量相对应。L的添加改变了细菌群落组成,使乳植杆菌属的相对丰度达到86.78%。Xu等<sup>[40]</sup>研究表明,与对照相比,接种植物乳植杆菌或布氏乳杆菌导致玉米青贮中细菌群落组成显著改变。在青贮过程中,CK组中植物乳植杆菌属的相对丰度达到10.67%,表明本研究中自然发酵的花生秧青贮中存在植物乳植杆菌属,因此L组

中植物乳植杆菌属可能并非全为后期添加。此外,ML组中植物乳植杆菌属的相对丰度低于L组,但粘液乳杆菌属的相对丰度高于L组。粘液乳杆菌属可促进戊糖的异型发酵,提高乳酸和乙酸的产量<sup>[44]</sup>。种水平上的结果表明,CK和M组优势菌组成相同,但相对丰度存在差异,M组中植物乳植杆菌和类肠膜魏斯氏菌相对丰度明显增高。相关研究表明,类肠膜魏斯氏菌种作为丙酸产生菌,能有效抑制发酵食品中的腐败菌生长<sup>[45]</sup>。ML组中乳杆菌种主要为植物乳植杆菌和桥粘液乳杆菌。

### 3.5 青贮饲料发酵特性和细菌群落与生物胺相关性分析

总体而言,在所有组中,总生物胺含量和部分生物胺(酪胺、腐胺、色胺和尸胺)含量与pH值之间显著正相关( $P<0.05$ )。pH值显著影响氨基酸脱羧酶活性,低pH环境会降低微生物氨基酸脱羧酶的活性<sup>[46]</sup>。上述胺类与Ammonia-N和BA之间显著正相关( $P<0.05$ ),Nishino等<sup>[10]</sup>和Van Os等<sup>[11]</sup>发现Ammonia-N与生物胺之间存在显著的正相关关系,尽管Ammonia-N和生物胺产生于脱氨基和脱羧两种反应,但两者关系密切,均伴随着氨基酸降解。LA含量与除组胺外的生物胺之间显著负相关( $P<0.05$ ),有机酸的积累导致的酸性环境可能减少生物胺的产生。WSC和DM含量与总生物胺、腐胺、酪胺和尸胺之间显著负相关( $P<0.05$ ),原因可能是WSC与DM含量越高,表明青贮发酵品质越好,发酵良好的青贮饲料中生物胺含量较低。

生物胺的生成主要依赖于对应的氨基酸前体和微生物产生的氨基酸脱羧酶。游离氨基酸可以被微生物吸收并转化为细胞质中的生物胺,后通过主动运输系统分泌到细胞基质中。通过相关性热图可评估生物胺与微生物群落之间的相关性。酪胺、尸胺、组胺和腐胺为本试验中主要的生物胺。乳酸杆菌在生物胺产生中的报道更为广泛<sup>[47]</sup>。植物乳植杆菌在所有组中均存在,且在M、ML和L组中相对丰度依次增加,同时生物胺含量在这3组中显著降低。相关性分析表明,植物乳植杆菌只与亚精胺的含量呈显著负相关。Qin等<sup>[48]</sup>研究表明,植物乳植杆菌中7种相关功能基因可参与生物胺的降解,其中*potD*基因优先与亚精胺结合。类肠膜魏斯氏菌是一种功能性微生物,在CK和M组中相对丰度较高,L组中相对丰度仅次于植物乳植杆菌。结果表明其仅与亚精胺的含量呈显著正相关,可能并不参与其他生物胺的生成。Hu等<sup>[45]</sup>研究表明,添加类肠膜魏斯氏菌JL-5的发酵食品中生物胺含量降低至 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ DM}$ 以下。坎氏魏斯氏菌、人参皂苷伴生乳杆菌和猪副杆菌主要存在于CK组中,其与总生物胺、酪胺、腐胺和尸胺含量呈显著正相关。结果表明其可能参与酪胺、腐胺和尸胺的生成。此外,桥粘液乳杆菌、阴道粘液乳杆菌和罗伊氏粘液乳杆菌3个种与生物胺的产生呈负相关,表明它们可能通过抑制产生生物胺的微生物降解生物胺或影响生物胺的合成。值得注意的是,相关性分析可能不足以解释微生物与生物胺之间的关系,需要进一步的研究来验证,并具体阐明它们对生物胺形成或降解的作用。

## 4 结论

花生秧鲜样因WSC含量较低导致发酵品质较差,M和ML显著提高了发酵品质。花生秧青贮过程中生物胺大量生成,且以酪胺和尸胺为主。相关性分析表明,pH、BA和Ammonia-N含量与酪胺含量呈显著正相关,坎氏魏斯氏菌、人参皂苷伴生乳杆菌和猪副杆菌与总生物胺、酪胺含量呈显著正相关,表明其可能参与酪胺等生物胺的生成。各添加剂组均可减少青贮过程中生物胺含量,其中ML组中总生物胺含量降低了55%,效果最为显著。综合发酵品质、营养成分及生物胺含量,糖蜜与糖蜜和菌复合处理组效果较好,推荐用于优质花生秧青贮饲料生产。

## 参考文献 References:

- [1] Tang M Q, Hou P J, Ding L, *et al.* Comparison of yield and nutritional value of different varieties of peanut. *Acta Ecologiae Animalis Domastici*, 2020, 41(12): 56—60.  
唐梦琪, 侯沛君, 丁丽, 等. 不同花生品种花生秧产量及营养价值的比较. *家畜生态学报*, 2020, 41(12): 56—60.
- [2] Liang F, Li B Z, Rolf D V, *et al.* Straw return exacerbates soil acidification in major Chinese croplands. *Resources, Conservation and Recycling*, 2023, 198: 107176.
- [3] Suo X J, Zhang N, Yang Q P, *et al.* Effects of peanut vine and alfalfa meal on weight gain performance, internal organ development, and blood indexes of Boer×Macheng crossbred goats. *Acta Prataculturae Sinica*, 2021, 30(5): 146—154.

- 索效军, 张年, 杨前平, 等. 日粮添加花生秧和苜蓿草粉对波麻杂交羊增重性能、内脏器官发育及血液指标的影响. 草业学报, 2021, 30(5): 146—154.
- [4] He L W, Wang Y M, Guo X, *et al.* Evaluating the effectiveness of screened lactic acid bacteria in improving crop residues silage: fermentation parameter, nitrogen fraction, and bacterial community. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 680988.
- [5] Li B B, Lu S L. The importance of amine-degrading enzymes on the biogenic amine degradation in fermented foods: A review. *Process Biochemistry*, 2020, 99: 331—339.
- [6] Scherer R, Gerlach K, Südekum K H. Biogenic amines and gamma-amino butyric acid in silages: Formation, occurrence and influence on dry matter intake and ruminant production. *Animal Feed Science and Technology*, 2015, 210: 1—16.
- [7] Olt A, Krt O, Kaldme H, *et al.* The effect of additive and dry matter content on silage protein degradability and biogenic amine content. *Journal of Agricultural Science*, 2005, 16(2): 110—116.
- [8] Steidlová Š, Kalač P. The effects of lactic acid bacteria inoculants and formic acid on the formation of biogenic amines in grass silages. *Archives of Animal Nutrition*, 2004, 58(3): 245—254.
- [9] Steidlová Š, Kalač P. The effects of using lactic acid bacteria inoculants in maize silage on the formation of biogenic amines. *Archives of Animal Nutrition*, 2003, 57(5): 359—368.
- [10] Nishino N, Hattori H, Wada H, *et al.* Biogenic amine production in grass, maize and total mixed ration silages inoculated with *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 103(2): 325—332.
- [11] Van Os M, Van Wikselaar P G, Spoelstra S F. Formation of biogenic amines in well fermented grass silages. *The Journal of Agricultural Science*, 1996, 127(1): 97—107.
- [12] Krizsan S J, Randby A T. The effect of fermentation quality on the voluntary intake of grass silage by growing cattle fed silage as the sole feed. *Journal of Animal Science*, 2007, 85(4): 984—996.
- [13] Li R R, Zheng M L, Zheng M H, *et al.* Metagenomic analysis reveals the linkages between bacteria and the functional enzymes responsible for potential ammonia and biogenic amine production in alfalfa silage. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 132(4): 2594—2604.
- [14] Mao K, Franco M, Xu Y, *et al.* Fermentation parameters, amino acids profile, biogenic amines formation, and bacterial community of ensiled stylo treated with formic acid or sugar. *Animals*, 2024, 14(16): 2397.
- [15] Jia T T, Yun Y, Yu Z. Propionic acid and sodium benzoate affected biogenic amine formation, microbial community, and quality of oat silage. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 750920.
- [16] Zhang Y X, Ke W C, Bai J, *et al.* The effect of *Pediococcus acidilactici* J17 with high-antioxidant activity on antioxidant,  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -carotene, fatty acids, and fermentation profiles of alfalfa silage ensiled at two different dry matter contents. *Animal Feed Science and Technology*, 2020, 268: 114614.
- [17] Broderick G A, Kang J H. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 1980, 63(1): 64—75.
- [18] Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis the 15th edition. Arrington: Association of Official Analytical Chemists, 1990(2): 22.
- [19] Van Soest P J, Robertson J B, Lewis B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 1991, 74(10): 3583—3597.
- [20] Owens V N, Albrecht K A, Muck R E, *et al.* Protein degradation and fermentation characteristics of red clover and alfalfa silage harvested with varying levels of total nonstructural carbohydrates. *Crop Science*, 1999, 39(6): 1873—1880.
- [21] Linn J G, Martin N P. Forage quality analyses and interpretation. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 1991, 7(2): 509—523.
- [22] Guo X S, Ding W R, Yu Z. The evaluation system of fermentation quality of ensiled forage and its improvement. *Chinese Journal of Grassland*, 2008, 30(4): 100—106.  
郭旭生, 丁武蓉, 玉柱. 青贮饲料发酵品质评定体系及其新进展. 中国草地学报, 2008, 30(4): 100—106.
- [23] Wang M S, Chen M Y, Bai J, *et al.* Ensiling characteristics, *in vitro* rumen fermentation profile, methane emission and archaeal and protozoal community of silage prepared with alfalfa, sainfoin and their mixture. *Animal Feed Science and Technology*, 2022, 284: 115154.
- [24] Ming H X, Fan J F, Liu J W, *et al.* Full-length 16S rRNA gene sequencing reveals spatiotemporal dynamics of bacterial community in a heavily polluted estuary, China. *Environmental Pollution*, 2021, 275: 116567.
- [25] Mosher J J, Bernberg E L, Shevchenko O, *et al.* Efficacy of a 3rd generation high-throughput sequencing platform for analyses

- of 16S rRNA genes from environmental samples. *Journal of Microbiological Methods*, 2013, 95(2): 175–181.
- [26] Ni K K, Wang F F, Zhu B G, *et al.* Effects of lactic acid bacteria and molasses additives on the microbial community and fermentation quality of soybean silage. *Bioresource Technology*, 2017, 238: 706–715.
- [27] Wang L B, Sun L N, Gao X J, *et al.* Peanut by product nutrition proprieties and application in pasturage. *Feed Review*, 2011, 3(3): 30–32.
- 王利宾, 孙利娜, 郜希君, 等. 花生副产品的营养特点及其在畜牧生产中的应用. *饲料博览*, 2011, 3(3): 30–32.
- [28] Flythe M D, Russell J B. The effect of pH and a bacteriocin (bovicin HC5) on *Clostridium sporogenes* MD1, a bacterium that has the ability to degrade amino acids in ensiled plant materials. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 47(2): 215–222.
- [29] Jia T T, Yu Z. Effect of temperature and fermentation time on fermentation characteristics and biogenic amine formation of oat silage. *Fermentation*, 2022, 8(8): 352.
- [30] Wang S R, Guo G, Li J F, *et al.* Improvement of fermentation profile and structural carbohydrate compositions in mixed silages ensiled with fibrolytic enzymes, molasses and *Lactobacillus plantarum* MTD-1. *Italian Journal of Animal Science*, 2019, 18(1): 328–335.
- [31] Jahanzad E, Sadeghpour A, Hashemi M, *et al.* Silage fermentation profile, chemical composition and economic evaluation of millet and soya bean grown in monocultures and as intercrops. *Grass and Forage Science*, 2016, 71(4): 584–594.
- [32] Wang Q, Wang Z, Awasthi M K, *et al.* Evaluation of medical stone amendment for the reduction of nitrogen loss and bioavailability of heavy metals during pig manure composting. *Bioresour Technology*, 2016, 220: 297–304.
- [33] Zhao J, Dong Z H, Li J F, *et al.* Evaluation of *Lactobacillus plantarum* MTD1 and waste molasses as fermentation modifier to increase silage quality and reduce ruminal greenhouse gas emissions of rice straw. *Science of the Total Environment*, 2019, 688: 143–152.
- [34] Wang F M, Zhang A Z, Jiang N, *et al.* GI and RFV determination and comparison study of common ruminant forage in Heilongjiang Province. *Chinese Journal of Animal Science*, 2014, 50(17): 33–39.
- 王法明, 张爱忠, 姜宁, 等. 黑龙江省反刍动物常用粗饲料分级指数及饲料相对值的测定与比较研究. *中国畜牧杂志*, 2014, 50(17): 33–39.
- [35] Selwet M, Galbas M, Porzucek F, *et al.* Effects of the method of alfalfa ensiling on the content of biogenic amines and numbers of some strains of *Lactobacillus* spp. *Medycyna Weterynaryjna*, 2013, 69(6): 358–362.
- [36] Scherer R, Gerlach K, Taubert J, *et al.* Effect of forage species and ensiling conditions on silage composition and quality and the feed choice behaviour of goats. *Grass and Forage Science*, 2019, 74(2): 297–313.
- [37] Suzzi G, Gardini F. Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 2003, 88(1): 41–54.
- [38] Min J S, Lee S O, Jang A, *et al.* Control of microorganisms and reduction of biogenic amines in chicken breast and thigh by irradiation and organic acids. *Poultry Science*, 2007, 86(9): 2034–2041.
- [39] Jin Y H, Lee J H, Park Y K, *et al.* The occurrence of biogenic amines and determination of biogenic amine-producing lactic acid bacteria in *Kkakdugi* and *Chonggak* kimchi. *Foods*, 2019, 8(2): 73.
- [40] Xu D M, Wang N, Rinne M, *et al.* The bacterial community and metabolome dynamics and their interactions modulate fermentation process of whole crop corn silage prepared with or without inoculants. *Microbial Biotechnology*, 2020, 14(2): 561–576.
- [41] Wang Y, He L W, Xing Y Q, *et al.* Bacterial diversity and fermentation quality of *Moringa oleifera* leaves silage prepared with lactic acid bacteria inoculants and stored at different temperatures. *Bioresource Technology*, 2019, 284: 349–358.
- [42] Zhao J, Yin X J, Wang S R, *et al.* Effects of storage time on the fermentation quality, bacterial community composition, and functional profile of sweet sorghum silage. *Acta Prataculturae Sinica*, 2023, 32(8): 164–175.
- 赵杰, 尹雪敬, 王思然, 等. 贮藏时间对甜高粱青贮发酵品质、微生物群落组成和功能的影响. *草业学报*, 2023, 32(8): 164–175.
- [43] Zheng J S, Wittouck S, Salvetti E, *et al.* A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*; description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2020, 70(4): 2782–2858.
- [44] Zhang H, Wu J W, Zhao X L, *et al.* Improving aerobic stability and methane production of maize stover silage with lactic acid bacteria inoculants: focus on pentose-fermentation. *Industrial Crops and Products*, 2023, 201: 116861.
- [45] Hu G Y, Wang Y J, Chen J, *et al.* Synergistic fermentation with functional bacteria for production of salt-reduced soy sauce

with enhanced aroma and saltiness. Food Bioscience, 2024, 57: 103459.

- [46] Ma J J, Zhang J J, Zhang L J, *et al.* Systematic analysis of key fermentation parameters influencing biogenic amines production in spontaneous fermentation of soy sauce. Food Bioscience, 2023, 52: 102484.
- [47] Sang X, Ma X X, Hao H S, *et al.* Evaluation of biogenic amines and microbial composition in the Chinese traditional fermented food grasshopper sub shrimp paste. LWT-Food Science and Technology, 2020, 134: 109979.
- [48] Qin S, Zeng X M, Jiang M, *et al.* Genomic and biogenic amine-reducing characterization of *Lactiplantibacillus planatraum* JB1 isolated from fermented dry sausage. Food Control, 2023, 154: 109971.