

高油玉米秸秆青贮发酵动态及青贮浸提液 对活体外瘤胃发酵的影响

董晓玲^{1,2} 孟庆翔^{1,2}

(1. 动物营养学国家重点实验室, 北京 100094; 2. 中国农业大学 动物科学技术学院/ 肉牛研究中心, 北京 100094)

摘要 通过研究高油玉米秸秆青贮发酵过程中营养成分和发酵参数变化的动态(试验1),以及青贮浸提液对活体外瘤胃发酵的影响(试验2),初步探明导致高油玉米秸秆青贮提高瘤胃发酵程度的因素。试验1结果显示发酵1周内,可溶性糖损失50%以上,pH降到4.0以下;乳酸含量在6周内逐步升高,而后保持不变,其他营养成分保持稳定;试验2结果表明,添加青贮浸提液后与对照组相比,最大产气量显著增加($P < 0.0001$),产气速度加快($P < 0.0001$),产气延滞期缩短($P = 0.0008$)。其中青贮浸提液灭菌处理与否不影响产气动态参数。添加2种青贮浸提液会导致活体外人工瘤胃发酵pH显著降低($P < 0.0001$)。对照组活体外瘤胃发酵液中乙酸摩尔分数最低(67.79%),其次为添加未处理浸提液组(78.48%)和灭菌浸提液组(80.19%),并且3个处理组差异显著($P < 0.0001$)。丙酸摩尔分数也差异显著($P < 0.0001$),其中对照的丙酸摩尔分数最高,达到21.76%,而其他2个处理组分别为8.81%和6.84%。对照组中异丁酸和异戊酸的摩尔分数均最高,分别为0.66%和0.85%。结果表明,高油玉米秸秆青贮在1周内发酵过程变化很大,发酵6周后,进入稳定阶段。添加青贮浸提液影响活体外瘤胃发酵模式,高油玉米秸秆青贮浸提液的营养成分可能是影响瘤胃微生物发酵的主要因素。

关键词 高油玉米秸秆; 青贮发酵; 青贮浸提液; 瘤胃发酵; 产气量

中图分类号 S816.5

文章编号 1007-4333(2006)05-0035-06

文献标识码 A

Silage fermentation dynamics and in vitro rumen fermentation characteristics as affected by supplementation of slurry fluid extracted from high oil corn stalk silage

Dong Xiaoling^{1,2}, Meng Qingxiang^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Animal Nutrition, Beijing 100094, China; 2. College of Animal Science and Technology/ Beef Cattle Research Center, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract Two experiments using high oil corn (HOC) stovers (variety Qingyou # 1) were designed to examine the dynamic characteristics of ensilage fermentation (Exp. 1) and to determine the effect of addition of silage slurry on rumen fermentation parameters of HOC stovers based on in vitro gas production method (Exp. 2). In Exp 1, triplicate jars were opened at 1, 3, 6, 9 weeks postfilling. In Exp 2, three treatments were used: (1) control (HOC silage + distilled water), (2) HOC silage + silage slurry, (3) HOC silage + sterilized silage slurry. In Exp 1, more than half of WSC was used up within 1 week of ensiling. The pH dropped to 4.0 only after 1 week of ensiling. All nutrients of silage maintained stable after 6 week of ensiling. In Exp 2, addition of silage slurry fluid resulted in higher gas amount ($P < 0.0001$) and rate of gas production ($P < 0.0001$), and shorter fermentation lag time ($P = 0.0008$) than control. As silage slurry fluid was added to the in vitro fermentation, the ruminal pH ($P < 0.0001$) decreased ($P < 0.0001$). Molar proportion of acetate increased significantly (67.79, 78.48, 80.19%; $P < 0.0001$). There was difference be-

收稿日期: 2006-04-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270944); 国家杰出青年基金资助项目(30125033)

作者简介: 董晓玲, 博士研究生, E-mail: dongxiaoling1976@yahoo.com.cn; 孟庆翔, 教授, 博士生导师, 通讯作者, 主要从事动物营养与饲料研究, E-mail: qxmeng@cau.edu.cn

tween treatments for molar proportion of propionic acid ($P < 0.0001$). Molar proportions of isobutyrate (0.66%) and isovalerate (0.85%) were higher for control treatment. No difference was found between intact silage slurry and sterilized silage slurry for ruminal fermentation. In conclusion, HOC stover silages went through a rapid fermentation phase, and maintained stable after 6 week postfiling. Silage slurry fluid could affect the ruminal fermentation pattern, and silage fermentation products rather than the microorganisms present in the silage materials might factor that affect ruminal fermentation.

Key words high oil corn stovers; silage fermentation dynamics; silage slurry fluid; in vitro rumen fermentation; gas production

高油玉米是中国农业大学自行培育的籽粒含油量高和秸秆糖分含量高的特种玉米品种,其籽粒成熟后的秸秆适合制作青贮饲料。研究高油玉米秸秆青贮发酵过程中营养物质和发酵参数的动态变化,对于控制发酵条件和制作质量优良的秸秆青贮饲料非常重要。我国已经进行了高油玉米秸秆青贮的营养价值评定研究^[1-2],证明高油玉米秸秆青贮在含糖量、蛋白质和矿物质含量以及活体外消化率等方面,显著优于普通玉米秸秆青贮。但是,关于高油玉米秸秆青贮过程的营养物质和发酵参数动态变化,尚缺乏深入研究。通常认为,青贮饲料的营养价值优于相同来源的干燥物料。但是,究竟是青贮饲料中的微生物成分还是化学成分造成了这种差异,目前还不得而知。Weinberg等^[3]研究发现,青贮饲料中的乳酸菌可以在瘤胃液中存活,并且假定青贮中的乳酸菌会以2种形式影响动物的生产性能,即乳酸菌可能具有益生菌的作用,或与瘤胃微生物相互影响,从而影响瘤胃发酵^[3]。但是Keady等^[4]研究发现,玉米青贮饲喂前添加乳酸菌接种剂,并没有显著影响青贮主要营养物质消化率。高油玉米秸秆青贮中存在乳酸菌以及丰富的营养物质,其中何者影响反刍动物瘤胃发酵,进而影响动物的生产性能,尚需进一步研究。本试验旨在通过研究高油玉米秸秆青贮发酵过程中营养成分和发酵参数的动态变化,为更好地改善高油玉米秸秆青贮的品质和提高反刍动物生产性能提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 青贮样品的来源与制备

试验1和2的高油玉米秸秆样本采集于中国农业大学河北承德玉米试验区,带回实验室后立即切短粉碎,混匀后装填青贮瓶,压实、密封。试验1分别在发酵的第1、3、6和9周开瓶取样。试验2所使用培养底物为试验1发酵9周的青贮风干样本。

1.2 活体外产气量试验

试验2采用Menke等^[5]的活体外产气法进行活体外瘤胃发酵培养。本试验分为3个处理组,分别为:青贮风干样+蒸馏水(对照组);青贮浸提液+青贮风干样;青贮浸提液(灭菌)+青贮风干样。试验开始前准确称取200mg培养底物送至培养管的前端(培养管为德国产100mL注射器,最小刻度为1mL),不加培养底物的培养管作为空白管。将已加入培养底物的培养管和空白管放置在恒温箱中(39℃)预热6h以上。

体外培养试验开始的前一天晚上,准备好青贮浸提液(按每30g青贮鲜样加入100mL灭菌蒸馏水进行浸提,将所得青贮浸提液分成2部分,其中一部分在紫外线下灭菌过夜,另一部分在室温下放置过夜)和瘤胃发酵稀释液(A、B和C液),稀释液配方参见Menke等^[5]。试验前将稀释液和相关培养设施预热至(39±0.2)℃,并以无氧CO₂饱和。

浸提液的添加量为10mL/30mL瘤胃液,对照组中蒸馏水的添加量与浸提液的添加量相同。使培养管保持厌氧环境,39℃下培养72h。分别记录0、1、2、3、4、5、6、8、10、12、14、16、18、22、24、48和72h各时间点每个培养管的气体产生量。发酵24h后,将每个处理中的一部分发酵管取出,立即放入冰水中,使其停止发酵,立即测定发酵液pH。发酵液离心(10000g,15min)取上清液待测挥发酸(VFA)和氨态氮(NH₃-N)含量。

1.3 检测指标与分析方法

青贮发酵过程中的第1、3、6和9周采样。55℃下烘干72h测定样品干物质含量。所采集样本冻干粉碎,用于分析青贮样品的总N、ADF、NDF含量。ADF和NDF采用Van Soest等^[6]方法测定,总氮采用杜马斯燃烧法测定(AOAC 990.03; Rapid N, Elementar, Germany)。将20g青贮鲜样加入到100mL蒸馏水中剧烈搅拌,制备青贮浸提液。分别测定浸提液的pH、可溶性糖^[7]、氨态氮^[8]、

VFA和乳酸含量^[9]。VFA的测定方法条件:在HP-INNOWax(30.0 m × 320 μm × 0.5 μm)分离,气相色谱柱箱程序升温(120 保持3 min,10 /min升至180 ,保持1 min);进样口和检测器温度分别为220和250 。体外发酵培养72 h的瘤胃液用于测定pH、氨态氮和VFA。测定方法同青贮浸提液。

1.4 结果计算与统计分析

利用SAS广义线性模型(GLM)的单因子方差分析及邓肯氏新复极差法对青贮发酵过程中的营养成分进行统计分析。活体外产气量试验中,计算0.200 0 g玉米青贮发酵底物干物质的净产气量(72 h),并根据动态发酵模型,利用SAS统计软件中Non-Linear方法计算样本动态发酵参数。该模型为 $Y = B \times (1 - \exp(-c \times (t - \text{lag})))$ 。式中: Y 为 t 时间点0.200 0 g(DM)底物产气量,mL; B 为0.200 0 g(DM)底物理论最大产气量,mL; c 为样本的产气速度, h^{-1} ;lag为产气延滞期,h。

2 结果与讨论

2.1 高油玉米秸秆青贮发酵过程中营养成分的动态变化(试验1)

高油玉米秸秆青贮发酵过程中DM、NDF、

ADF、WSC和CP含量的动态变化见表1。从表中可以看出,青贮发酵前秸秆的DM最高,为28.98%;发酵1周后,DM为27.56%,发酵9周后,DM为27.21%。整个青贮发酵过程中,DM含量虽然有降低的趋势,但是变化幅度不明显,表明青贮DM损失主要发生在青贮的第1周。青贮过程中,可溶性糖是微生物发酵利用的主要底物,作物中的可溶性糖含量是影响青贮发酵品质的主要因素^[10]。与普通玉米秸秆相比,高油玉米秸秆中具有较高的可溶性糖含量^[17-21],本试验所选用的高油玉米秸秆中的可溶性糖含量为7.32%(DM),这为青贮的更好发酵提供了可能。同时发现,在青贮发酵的第1周,可溶性糖含量损失50%以上,但是以后的发酵过程中,可溶性糖变化很小,从第1周的3.20%降到第9周的3.02%,表明青贮发酵在第1周内微生物活性较强。随着pH的下降,某些微生物的活性受到了抑制,使发酵进入一个新的阶段。随着发酵时间的延长,CP、NDF、ADF均持续增加,但是各时间点的变化不明显。CP、NDF、ADF的持续增加,或许要归因于青贮发酵过程中WSC含量的降低。

与普通玉米秸秆发酵结果^[11]相似,高油玉米秸秆青贮也经历了一个快速的发酵过程。在发酵第1

表1 青贮发酵过程中营养成分的动态变化

Table 1 Chemical composition of HOC silage during fermentation

营养成分	发酵时间/周					SEM	P
	0	1	3	6	9		
干物质/ %	28.98	27.56	27.86	27.37	27.21	0.35	0.25
可溶性糖 WSC/ %	7.32 a	3.20 b	3.13 b	3.04 b	3.02 b	0.13	0.01
蛋白质 CP/ %	7.08	7.11	7.22	7.35	7.58	0.21	0.14
中性洗涤纤维 NDF/ %	59.31	62.12	64.21	64.45	65.68	1.25	0.09
酸性洗涤纤维 ADF/ %	37.56	38.64	40.78	41.89	41.23	1.01	0.09

注:以质量分数表示;同行平均数字母不同者差异显著($P < 0.05$);SEM为平均值标准差。下同。

周内,pH迅速降到4.0以下。从发酵第1周结束至发酵第9周,随着发酵时间的延长,pH虽然有下降的趋势,但各个时间点的变化不明显。随着发酵时间的延长,青贮中的乳酸浓度呈显著升高的趋势($P = 0.02$),发酵6周后,乳酸浓度不再升高。乳酸含量高、pH低于4.2是青贮得到很好保存的重要特征^[12]。本研究中,高油玉米秸秆青贮pH低于3.8,乳酸在3%以上,而且没有检测到丁酸,表明高油玉米秸秆青贮具有很好的发酵特性。发酵6周后,各

种发酵产物基本不再发生变化,青贮发酵已经进入稳定状态。

Schaadt等^[13]研究发现,玉米青贮中的乳酸主要以D-乳酸形式存在。Cai等^[14]报道,青贮中的D-乳酸占总乳酸浓度的62%~68%。本研究中,随着发酵时间的延长,D-乳酸占总乳酸的比例呈显著下降趋势,发酵9周后,D-乳酸占总乳酸的比例小于50%。这表明,高油玉米秸秆青贮中含有比例相对更低的D-乳酸。同时也可以看到,发酵3周后,

表2 青贮发酵过程中发酵产物的动态变化

Table 2 Fermentation end product profile of HOC silages

项目	青贮时间/周				SEM	P
	1	3	6	9		
pH	3.45	3.4	3.38	3.39	0.11	0.28
乳酸摩尔分数/ %	2.36 b	2.49 b	3.01 a	3.04 a	0.31	0.02
L-乳酸/ D-乳酸	0.80 b	1.01 a	1.01 a	1.03 a	0.08	0.03
乙酸摩尔分数/ %	0.86	0.91	0.92	0.94	0.04	0.06
丙酸摩尔分数/ %	0.03	0.03	0.02	0.02	0.001	0.06
氨氮摩尔分数/ %	0.078 b	0.084 ab	0.088 ab	0.091 a	0.004	0.02

D-乳酸占总乳酸的比例不再发生变化,但是总乳酸的浓度继续升高,表明青贮发酵3周后,虽然乳酸的各种异构体的浓度均升高,但是增加的比例均相同。

2.2 体外发酵(试验2)

由图1可以看出,对照组的产气量一直以平缓的趋势增加,但是添加青贮浸提液后,在培养6h时产气量迅速增加,8h后增加趋势趋于缓慢。从培养开始至72h结束,添加青贮浸提液的2个处理组的产气量一直显著高于对照组,但2个处理组之间差异不显著($P > 0.05$)。

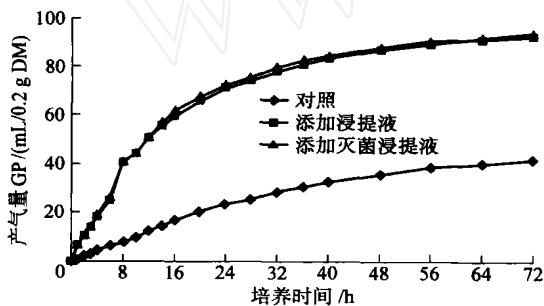


图1 添加青贮浸提液对玉米秸秆青贮活体外瘤胃培养动态产气量的影响

Fig. 1 Dynamic of gas produced from HOC stalk silages fermented for 72 hours *in vitro*

将图中产气量的动态变化数据进行曲线拟和,求得产气动态参数(表3)。添加青贮浸提液后,72h累积产气量显著增加($P < 0.0001$),为对照组的2倍以上,并且理论最大产气量与实际最大产气量相接近。添加青贮浸提液后,产气延滞期显著缩短($P = 0.0008$),产气速度显著增加,几乎为对照组的3倍(分别为0.065、0.066和0.026, $P < 0.0001$)。与添加未处理青贮浸提液相比,添加灭菌青贮浸提液在各个时间点的产气量均没有显著差异($P > 0.05$)。一定时间内产气量的多少是反映底物被瘤

胃微生物利用的程度,它代表着底物营养价值的高低。上述结果表明,青贮浸提液中的营养成分比青贮风干样中的化学成分更容易被微生物发酵利用,并且发现,是青贮浸提液中的营养成分而不是其中的微生物促进了瘤胃发酵程度的提高。

从表4可以看出,与对照组相比,添加青贮浸提液可以显著降低瘤胃发酵液的pH($P < 0.0001$),结果与Weibnerg等^[3]研究结果相似,这可能是因为青贮浸提液中含有大量的乳酸,从而降低了瘤胃发酵液的pH,但是青贮浸提液灭菌与否对瘤胃发酵液pH无显著影响($P > 0.05$),表明青贮中的乳酸菌在瘤胃液中存活的可能性不大,即使能够存活,所产生的乳酸量也很少,还不能影响到瘤胃发酵液的pH。

活体外发酵液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的质量浓度受到缓冲培养液组成、底物蛋白质降解和微生物利用等多因素共同影响^[15]。与对照组相比,添加青贮浸提液后,瘤胃发酵液的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 质量浓度呈显著升高的趋势($P = 0.0237$),这可能源于青贮浸提液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的外源添加。瘤胃液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的临界值是50和280 mg/L瘤胃液^[16]。由表2中数据可以看出,所有处理组的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 水平都处于这个临界值内,有利于瘤胃的正常发酵,因此瘤胃微生物的生长以及底物的发酵潜力均最大。

总VFA产生量与产气量之间具有强相关关系,它的变化是由微生物所获得的可发酵碳水化合物和特性所决定^[17]。青贮浸提液中不仅包含大量的乳酸,还含有可溶性糖、乙酸等营养成分。瘤胃微生物会利用青贮浸提液中的乳酸和可溶性糖,产生气体和挥发性脂肪酸,因此,添加青贮浸提液后,总挥发酸和产气量均显著升高($P < 0.0001$)。总挥发

表 3 添加青贮浸提液对玉米青贮活体外培养的产气量和产气动态参数的影响

Table 3 Amount and dynamic parameters of gas produced from HOC silages fermented for 72 h *in vitro* included in slurry of silages

项 目	对照	添加浸提液	添加灭菌浸提液	SEM	<i>P</i>
72 h 产气量/ mL	41.48 b	92.23 a	92.79 a	0.89	<0.000 1
潜在产气量/ mL	49.75 b	93.28 a	94.73 a	0.91	<0.000 1
产气速度/ h ⁻¹	0.02 b	0.06 a	0.06 a	0.0006	<0.000 1
产气延滞期/ h	0.79 a	0.12 b	0.14 b	0.07	0.000 8

表 4 添加青贮浸提液对玉米秸秆青贮活体外发酵参数的影响

Table 4 Effects of additions of slurry of silages on ruminal fermentative parameters of HOC silages (0.2 g DM) incubated with rumen microorganisms for 72 h *in vitro*

项 目	对照	添加浸提液	添加灭菌浸提液	SEM	<i>P</i>
pH	6.86 a	6.35 b	6.40 b	0.03	<0.000 1
氨氮质量浓度/ (mg/ 100 mL)	12.82 b	13.71 a	13.95 a	0.21	0.0237
总挥发酸浓度/ (mmol/L)	44.92 c	59.29 a	54.51 b	0.57	<0.0001
乙酸摩尔分数/ %	67.79 c	78.48 b	80.19 a	0.19	<0.000 1
丙酸摩尔分数/ %	21.75 a	8.81 b	6.83 c	0.16	<0.000 1
异丁酸摩尔分数/ %	0.66 a	0.16 b	0.16 b	0.01	<0.000 1
丁酸摩尔分数/ %	8.29 b	10.69 a	10.87 a	0.06	<0.000 1
异戊酸摩尔分数/ %	0.85 a	0.71 b	0.78 ab	0.02	0.014 9
戊酸摩尔分数/ %	0.62 b	1.13 a	1.13 a	0.01	<0.000 1
乙酸 丙酸	3.11 c	8.91 b	11.73 a	0.18	<0.000 1
干物质消化率/ %	46.37 a	30.93 b	31.58 b	0.48	0.002

酸与产气量的变化趋势相一致,与发酵液 pH 的变化规律是相反的,即:添加青贮浸提液使总挥发酸产量显著升高,发酵液 pH 显著降低。

瘤胃发酵液中乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸和戊酸的摩尔分数均受到青贮浸提液添加的显著影响 ($P < 0.01$)。在所有处理中,乙酸在总 VFA 中摩尔分数最高,均在 60% 以上。同时发现,对照组活体外瘤胃发酵液中乙酸摩尔分数最低 (67.79%),其次为添加未处理浸提液组 (78.48%) 和灭菌浸提液组 (80.19%),并且 3 个处理组间存在显著差异 ($P < 0.000 1$)。在活体外瘤胃发酵液中,3 个处理组之间的丙酸摩尔分数存在显著差异 ($P < 0.000 1$),其中对照组丙酸摩尔分数最高,达到 21.76%,而其他 2 个处理组分别为 8.81% 和 6.84%,导致灭菌浸提液组的乙 丙酸比例最高,为 11.73。对照组中异丁酸和异戊酸的摩尔分数均最高,分别为 0.66% 和 0.85%。与对照组相比,添加青贮浸提液 (2 个处理

组) 的处理组所产生的丁酸 (10.69% 和 10.87%) 和戊酸 (1.13% 和 1.13%) 的摩尔分数均显著升高 ($P < 0.000 1$)。乳酸是青贮发酵的主要有机酸,青贮浸提液的添加会突然增加瘤胃发酵液中乳酸,这可能会影响瘤胃微生物区系的变化,从而引起发酵液中总挥发性脂肪酸产生量和各种酸的摩尔分数发生改变。关于添加青贮浸提液导致活体外瘤胃发酵液丙酸摩尔分数降低和乙酸摩尔分数升高的原因尚不清楚,但高油玉米秸秆青贮中乙酸较高而丙酸很低,可能是造成这种结果的部分原因。

研究青贮饲料对于动物生产性能的作用时,人们通常关注于青贮饲料本身的化学成分含量,而很少考虑青贮发酵过程产生的发酵产物和青贮微生物对瘤胃发酵以及动物生产性能的影响。本研究发现,青贮浸提液对活体外瘤胃发酵模式具有很大影响,表明高油玉米秸秆青贮前后的样品对瘤胃发酵的作用程度可能不同。因此,影响动物生产性能的

主要因素不仅仅局限于青贮饲料的化学组成,而且与其发酵产物,如挥发酸、乳酸等也存在某种关系。另外从本试验结果发现,高油玉米秸秆青贮中的微生物部分对瘤胃发酵的影响很小。该结果与 Weinberg^[3]所做研究不完全一致,其原因可能与他的试验添加乳酸菌的数量(10^6 cfu/g)远远超过青贮本身具有的乳酸菌数量(10^3 cfu/g)有关。

3 结 论

高油玉米秸秆青贮在第1周发酵速度很快,发酵6周后进入稳定阶段。添加青贮浸提液会影响活体外瘤胃发酵模式,其中影响瘤胃发酵程度的主要因素是青贮浸提液中的营养成分,而不是其中的微生物。

参 考 文 献

- [1] 赵遵阳. 高油玉米品种与成熟期的互作对青贮发酵品质和生长牛饲喂价值影响的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2003
- [2] 阎贵龙. 影响秸秆营养价值的作物学因素及复合化学处理的效果研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2005
- [3] Weinberg Z G, Muck R E, Weimer P J, et al. Lactic acid bacteria used in silage inoculants as probiotics for ruminant[J]. *Appl Biotechnol*, 2004, 118:17-10
- [4] Keady T W J, Steen W J. Effects of applying a bacterial inoculant to silage immediately before feeding on silage intake, digestibility, degradability and rumen volatile fatty acids concentrations in growing beef cattle[J]. *Grass Forage Sci*, 1996, 51:155-162
- [5] Menke K H, Raab L, Salewski A, et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro[J]. *J Aric Sci (Camb)*, 1979, 93:217-222
- [6] Van Soest P J, Robertson J B, Lewis B A. Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle[J]. *J Dairy Sci*, 1991, 74: 583-3597
- [7] Nelson N. A photometric adaptation of the Somogy method for the determination of glucose [J]. *J Biol Chem*, 1944, 153:376-379
- [8] Broderick G A, Kang J H. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acid in ruminal fluids and in vitro media[J]. *J Dairy Sci*, 1980, 63(1): 64-75
- [9] 常影, 邱静, 魏吉安, 等. 衍生化气相色谱法检测瘤胃和青贮液中乳酸对映体和挥发酸[J]. *中国农业大学学报*, 2006, 11(2): 49-53
- [10] Weissbach F, Schmid L, Hein E. Method of anticipation of the run of fermentation in silage making based on chemical composition of green fodder[M]. *Proc 12th Inter. Moscow: Grassland Congress*, 1974, 3:663-673
- [11] Higginbotham G E, Mueller S C, Bolsen K K, et al. Effects of inoculants containing propionic acid bacteria on fermentation and aerobic stability of corn silage[J]. *J Dairy Sci*, 1998, 81: 2185-2192
- [12] Bolsen K K, Ashbell G, and Weinberg Z. Silage fermentation and silage additives review. *Asia-Australia [J]. J Anim Sc*, 1996, 9:483-493
- [13] Schaadt H, Johnson R R. Effect of maturity treatment on D (-) and L (+) lactic acid in corn silage[J]. *J Dairy Sci*, 1968, 51:802-805
- [14] Cai Y, and Kumai S. The proportion of lactate isomers in farm silage and the influence of inoculation with lactic acid bacteria on the proportion of L-lactate in silage[J]. *Jpn J Zotech Sci*, 1994, 65: 788-795
- [15] Meng Q, Kerley M S, Ludden P A, et al. Fermentation substrate and dilution rate interact to affect microbial growth and efficiency[J]. *J Anim Sci*, 1999, 77: 206-214
- [16] Durand D J, Goodman A, Ray P, Ballard R A, et al. Theophylline treatment in the extubation of infants weighing less than 1,250 grams: a controlled trial[J]. *Pediatrics*, 1987, 80: 684-688
- [17] Blummel M, Orskov E R. Comparison of an in vitro gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle[J]. *Anim Feed Sci Tech*, 1993, 40: 109-119