

纤维素分解菌对棉花秸秆纤维素含量的影响

乌斯满·依米提¹, 买尔哈巴·艾合买提², 热孜弯古·雪合热提¹

(1. 新疆大学生命科学与技术学院, 新疆乌鲁木齐 830046; 2. 新疆农业科学院微生物研究所, 新疆乌鲁木齐 830000)

摘要 [目的] 采取纤维素分解菌添加法, 研究纤维素分解菌对棉花秸秆纤维素的分解效果。[方法] 通过瓶装法进行棉花秸秆青贮饲料, 采用干物质(DM)测定法测定中性洗涤纤维(NDF)、酸性纤维素和木质素的含量, 确定纤维素分解菌对棉花秸秆纤维素的分解能力。[结果] 添加纤维素分解菌后, 降低青贮玉米秸的中性洗涤纤维含量。各处理中性洗涤纤维含量比对照组降低了5.1%~30.5%, 差异显著($P < 0.05$); 酸性洗涤纤维(ADF)含量降低了4.9%~19.6%, 与对照组差异显著($P < 0.05$), 其中以处理⑦(3:1)和处理⑨(3:3)降低幅度最大, 与对照组差异极显著($P < 0.01$); 半纤维素(HC)含量的变化幅度比其他成分大, 其中处理⑨(3:3)的降低幅度达50%, 与对照组差异极显著($P < 0.01$)。

关键词 纤维素分解菌; 棉花秸秆; 纤维素分解

中图分类号 S216.2 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)35-13489-03

Influence of Cellulose Decomposition Bacteria on Concentration of Cellulose of Cotton Stalk

WUSIMAN Yimiti et al (College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi, Xinjiang 830046)

Abstract [Objective] To study the decomposition effect of cellulose decomposition bacteria for cellulose of cotton stalk. [Method] By using silage crops of cotton stalks, dry mass (DM) determination technique, concentration of neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) and xylem, the capacity of cellulose decomposition bacteria decomposing cotton stalk cellulose was defined. [Result] NDF concentration in silage corn stalks reduces after adding cellulose decomposition bacteria. NDF concentration in all treatments reduces by 5.1% - 30.5% from that of CK, showing significant difference, $P < 0.05$; ADF concentration reduces by 4.9% - 19.6%, showing significant difference, $P < 0.05$; treatment 7 (3:1) and treatment ⑨ (3:3) reduces the most, showing extremely significant difference with that of CK ($P < 0.01$). Hemicellulose (HC) concentration shows greater changes than other elements, especially treatment ⑨ (3:3) reduces by half, showing extremely significant difference with that of CK ($P < 0.01$).

Key words Cellulose decomposition bacteria; Cotton stalk; Cellulose decomposition

农作物秸秆的主要成分是纤维素、半纤维素和木质素, 其中木质素将纤维素和半纤维素层层包裹。我国的纤维素资源极为丰富, 每年农作物秸秆的产量达 5.7×10^8 kg, 约相当于我国北方草原年打草量的 50 倍。这是一个巨大的可利用再生资源^[1]。到目前为止, 绝大多数纤维素因没有得到很好的利用而被浪费掉。棉花秸秆也是其中之一。棉花种植面积大, 秸秆量多。纤维素含量高主要是木质素含量高。在广大农村除少部分用作燃料、畜禽饲料外, 大部分被丢弃野外自然腐烂或焚烧。这不仅造成自然资源的极大浪费, 而且造成一定的污染^[2]。以植物秸秆为例^[3], 大部分植物秸秆中的纤维素都被燃烧或腐烂, 只有一小部分被人类所利用。所

以, 如何将这些生物资源加以充分利用, 一直是国内外研究的热点。

1 材料与方法

1.1 青贮原料 供试棉花秸秆采自新疆吐鲁番, 其化学成分为干物质 4.94%, 粗蛋白 6.50%, 纤维素 44.10%, 半纤维素 10.70%, 木质素 15.20%, 灰分 4.89%。

1.2 菌种 供试高产纤维素酶菌株为 Y6 和 Nf。

1.3 试验设计 试验设对照组、试验 1 组(菌株 Y6)、试验 2 组(菌株 Nf)和试验 3 组(Y6 + Nf)的菌悬液。分别在试验组添加浓度 2.0% 的 Y6 培养液、Nf 培养液和 Y6 培养液 + Nf 培养液。对照组添加等量的水, 均匀地喷洒在棉花秸秆上,

表 1 棉花秸秆青贮试验设计

组别	棉花秸秆//kg	水//L	尿素//%	食盐//%	蔗糖//%	油榨//%	Y6//%	Nf//%	Y6 + Nf//%
对照组	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	0
试验组 1	1.0	1.0	0.02	0.02	0.0	0.0	2.0	2.0	1.0 + 1.0
试验组 2	1.0	1.0	0.02	0.02	0.02	0.0	2.0	2.0	1.0 + 1.0
试验组 3	1.0	1.0	0.02	0.02	0.00	0.02	2.0	2.0	1.0 + 1.0

装入 1 kg 塑料发酵瓶中, 随机区组设计(表 2), 每个组 3 次重复。

1.4 青贮棉花秸秆的加工调制 首先, 将棉花秸秆放入切割机内, 切成 2~3 cm 长度, 添加不同比例的纤维素分解菌培养液处理后, 以 1 kg 为单位装入发酵瓶中, 压实, 排除空气密

封, 置于常温下 45 d 后开封检测。

1.5 青贮饲料的感官评价方法 青贮饲料的感官评定主要包括青贮后青贮料的气味、颜色和质地。品质优良的青贮饲料通常具有轻微的酸味和水果味。如果青贮后有陈腐的脂肪臭味, 则说明青贮料在青贮过程中产生大量的丁酸。这是青贮不成功的标志。霉味说明在青贮过程中原料没有压实, 引起饲料的霉变。青贮后原料的色泽也可以表明发酵中的潜在的问题。优质的青贮料非常接近青贮前原料的本色。

基金项目 国家自然科学基金(31260014)。

作者简介 乌斯满·依米提(1962-), 男, 维吾尔族, 新疆吐鲁番人, 副教授, 博士, 硕士生导师, 从事资源微生物学方面的研究。

收稿日期 2013-11-12

如果青贮前为绿色,青贮后为绿色或黄绿色,则说明青贮成功。如果颜色变成棕色和黑色,则说明青贮质量不成功。青贮饲料的质地也可以作为评价发酵标准之一。如果青贮料手感松散、柔而不粘手,则说明青贮质量为优;如果发酵后青贮料发黏或者结块,则说明青贮质量差。该研究参照德国农业协会(DLG)青贮质量感官评分标准^[2]。

1.6 青贮饲料营养成分的分析和测定方法 试验最终所要达到的目的,是通过微生物添加剂发酵作用增加青贮后饲料的干物质(DM)和粗蛋白(CP)含量,降低中性洗涤纤维(NDF)和酸性洗涤纤维(ADF)的含量,减少青贮后青贮料的霉变率,提高动物体对青贮料的利用率。取发酵到预定时间的青贮料,将青贮堆表面5 cm左右的一层青贮料去掉后,混匀后采用四分法取样。取样后,在实验室内进行各种营养成分的分析。

粗蛋白的测定采用凯氏定氮法。中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维的测定采用范式纤维测定法^[3]。取鲜样25 g,加入225 ml蒸馏水,用玻璃棒搅拌1 min,使用pH计立即进行测定。采用范氏(Van Soest)的洗涤纤维分析法测定中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维。植物性饲料经中性洗涤剂煮沸处理,不溶解的残渣为中性洗涤纤维,主要为细胞壁成分,其中包括半纤维素、纤维素、木质素和硅酸盐。植物性饲料经酸性洗涤剂处理,剩余的残渣为酸性洗涤纤维,其中包括纤维素、木质素和硅酸盐。酸性洗涤纤维经浓度72%硫酸处理后的残渣为木质素和硅酸盐,从酸性洗涤纤维值中减去浓度72%硫酸处理后的残渣为饲料的纤维素含量。将浓度72%硫酸处理后的残渣灰化,在灰化过程中逸出的部分为酸性洗涤木质素(ADL)的含量。

计算公式如下:

$$NDF(\%) = (W1 - W2) / W \times 100$$

式中,W1为玻璃坩埚和NDF重(g);W2为玻璃坩埚重(g);W为试样重(g)。

$$ADF(\%) = (G1 - G2) / G \times 100$$

式中,G1为玻璃坩埚和ADF重(g);G2为玻璃坩埚重(g);W为试样重(g)。

$$\text{半纤维素}(\%) = NDF(\%) - ADF(\%)$$

$$\text{纤维素} = ADF(\%) - \text{经}72\% \text{硫酸处理后的残渣}(\%)$$

$$ADL(\%) = \text{残渣}(\%) - \text{灰分(硅酸盐,}\%)$$

2 结果与分析

2.1 青贮棉花秸秆的感官评价 由表2可知,Y6处理组、Nf处理组、Y6+Nf处理组的棉花秸秆青贮饲料的感官评定得分均比对照组高,说明添加纤维素分解菌均可明显改善青贮饲料的气味、色泽和质地。

表2 青贮棉杆饲料的感官评定

组别	pH	DM//%	气味	色泽	质地	总分
对照组	4.91	25.30	淡霉味	暗褐色	少量腐烂	60(中等)
试验组1						
1	4.03	31.12	甘酸香味	黄褐色	松散完整	78(优)
2	3.81	30.98	酸酒香味	黄褐色	完整	80(优)
3	4.05	29.67	甘酸香味	黄褐色	松散完整	80(优)
试验组2						
1	3.80	36.28	酸酒香味	亮黄色	完整	88(优)
2	3.73	36.22	酸酒香味	亮褐色	松散完整	85(优)
3	3.7	31.38	酸酒香味	亮黄色	松散完整	84(优)
试验组3						
1	3.95	30.95	酸酒香味	暗褐色	松散完整	81(优)
2	3.86	33.4	淡酸酒香味	黄褐色	松散完整	86(优)
3	4.01	30.38	淡酸酒香味	黄褐色	松散完整	80(优)

一般,青贮原料的含水量为30%~50%时最适宜微生物生长繁殖;当含水量>80%时,汁液流失,促进腐败菌发酵;当含水量<30%时,收获损失,青贮饲料温度升高。对照组与各试验组棉花秸秆青贮料在色泽上差异不大,均呈黄褐色或暗褐色,但对对照组质地黏滑,表面有少量霉变。与对照组相比,试验各组青贮料有比较浓的酸香味,pH最低达到3.7,感官评定属于优质青贮料,表明添加纤维素分解菌处理能促进纤维素降解成糖,从而促进棉花秸秆自身的乳酸菌发酵,产生大量的有机酸。

2.2 青贮棉花秸秆的化学成分 由表3可知,各处理DM含量差异不显著($P < 0.05$),各处理的NDF、ADF和HC的含量均低于对照组,其中试验组2含量最低。与对照组相比,各处理组的CP含量的增加差异显著($P < 0.05$),其中试验组2

表3 青贮棉花秸秆的化学成分

组别	CP	NDF	ADF	ADL	HC	灰分	纤维素	%
对照组	8.5	46.92	38.32	13.71	7.85	3.46	33.65	
试验组1								
1	15.8	42.39	35.33	11.70	5.06	2.31	23.45	
2	20.5	39.15	34.82	9.10	4.33	2.93	22.64	
3	18.6	37.71	29.92	12.40	6.39	1.67	27.10	
试验组2								
1	30.6	29.23	23.21	9.76	4.02	3.33	24.03	
2	29.7	35.15	29.85	9.80	5.30	2.28	21.62	
3	32.1	31.73	22.12	10.02	3.61	2.69	23.71	
试验组3								
1	24.8	34.22	29.37	10.70	4.85	2.72	26.22	
2	26.9	33.43	27.81	10.10	5.62	2.32	25.43	
3	25.4	30.11	26.73	11.70	5.38	2.71	23.89	

的增加量差异极显著($P < 0.01$)。试验组 1、试验组 2 和试验组 3 的 NDF 含量分别平均降低了 15.3%、31.7% 和 27.7%，ADF 含量分别降低了 13.4%、34.6% 和 27%，HC 含量分别降低了 33%、45.1% 和 32.7%。对照组的 NDF 和 ADF 含量与原料相比分别降低了 7.8% 和 5.6%。结果表明，筛选出的 2 株纤维素菌均能改善青贮品质，不同程度地降低纤维素的含量，其中试验组 3 添加的 2 种菌的混合菌液降解棉花秸秆纤维素的效果最明显。

3 结论与讨论

研究表明，在青贮棉花秸秆过程中添加纤维素降解菌 Y6 和 Nf 均能降低 pH，提高 DM 和 CP 含量。通过产纤维素酶降解纤维素，这 2 种菌液均降低了 NDF、ADF 和 HC 的含量，不同程度地提高了棉花秸秆的青贮品质。其中，2 种菌液混合处理对改善青贮品质有显著的作用。生物发酵农作物秸秆后，半纤维素、纤维素等得到降解，提高了秸秆的柔软度，生产菌体蛋白，从而缓解了蛋白质资源的严重不足，如青贮发酵、人工瘤胃发酵、微生物处理、纤维素酶解等。许宗运等^[4]采用生物菌发酵法对棉秆进行微贮，发现粗纤维平均降低了 22.50%；棉酚降低了 38 mg/kg；粗蛋白含量提高，粗纤维含量下降，营养价值得到改善。该研究中纤维素分解菌使得棉花秸秆中的中性洗涤纤维含量降低了 31.7%，酸性洗涤纤维降低了 34.6%，半纤维素含量降低了 45.1%。除纤维素分解菌对青贮料的影响外，添加的尿素、盐和蔗糖对发酵过程也有一定的影响。有研究表明，在玉米青贮中同时加入尿素和盐，可以抑制微生物的发酵，使得乳酸和总的挥发酸降低，干物质、有机物和粗蛋白在牛内的消化率增加，日增重也提高；在青贮甜菜渣时添加了尿素和糖蜜，发现尿素青贮组的尿素水解率很低，CP、CF 消化率和细菌氮合成显著高于其他处理组，尿素处理最适合瘤胃细菌蛋白的合成。

糖类的增加在青贮早期可加速乳酸菌的繁殖，使得青贮饲料 pH 快速降低^[5-7]。这样不仅可抑制酵母菌、梭菌等有害菌的生长，而且可抑制青贮原料中植物酶的活性，减少青贮早期植物呼吸作用对糖的氧化和对蛋白质的水解，保存更多的可溶性碳水化合物，并减少青贮期间蛋白质的降解。研究表明，纤维素具有提高蛋白质、纤维素利用率的作用^[8]。酶处理组比未经酶处理组(CK)棉花秸秆干物质消失率在 0.05 水平显著增加。这是由于纤维素酶具有降解植物细胞壁的功能。中性洗涤纤维包括半纤维素、纤维素和木质素等

物质，其中的半纤维素和大部分纤维素可被反刍动物所利用，而木质素部分基本不被利用。纤维素酶对中性洗涤纤维素的影响主要是由于酶提高了中性洗涤纤维的利用率，造成其残余量下降。有研究表明，在一定范围内，粗纤维的消失率随酶添加量的增加而增大，但超过一定的添加量时粗纤维的消失率并不随酶的添加量增加而提高。将纤维素分解菌产生的纤维素酶提取出来用于复合酶制剂的生产和应用具有很大的应用前景。

棉花是新疆地区重要的经济作物，而且是重要的战略物资。种植棉花不仅是农民致富的有效途径，而且是经济发展和社会稳定、畜牧业发展的需要。但是，农民通常是在棉花采摘后将棉秆直接留在田中，待冬灌时将其全部粉碎还田。这种施肥方法会对来年的棉花种植产生一定的不良影响。随着畜牧业的发展，蛋白质饲料供不应求，价格不断上涨，供求矛盾日益突出。棉籽是重要的油脂加工原料。棉籽油是生物柴油的最好原料。无酚棉籽蛋白又是优质的饲料资源。利用复合微生物菌剂对棉籽饼粕、秸秆混合发酵脱毒，使得废弃的秸秆和棉籽饼粕同时得到充分利用，变废为宝，可增加蛋白质饲料的来源，降低饲料和饲养成本，促进畜牧业的发展，也为农副产品的综合利用提供一条新途径。少投资，保护畜舍的内环境。另外，棉花秸秆是重要的能源材料，有效地利用这些棉花秸秆，为广大农村提供生活所需的能源，节约大量的常规能源，防止因随便处置而对土质肥力造成不良影响；同时，解决资源的浪费，防止因焚烧产生的大量有害气体对环境的污染，从而改善农村的生活环境，缓解农村能源紧缺的现状。

参考文献

- [1] 郝月, 杨翔华, 洪新. 秸秆纤维素分解菌的分离筛选实验[J]. 中国饲料, 2005(11): 15-17.
- [2] 艾云灿, 赵学慧, 余家林. 判断纤维素酶系基因组组合重组的统计分析法[J]. 生物工程学报, 1994, 10(1): 45.
- [3] 日本饲料分析基准研究会. 饲料分析法和解说[M]. 东京: 2004.
- [4] 许宗运, 张锐, 张玲, 等. 棉秆不同微贮方法效果研究[J]. 中国草食动物, 1999, 4(1): 22-24.
- [5] 杨连玉, 中岛芳也. 化学和生物学处理对玉米秸秆营养价值的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2001, 23(1): 83-87.
- [6] 杨新刚, 沈益新. 纤维素酶制剂在青贮饲料中的应用[J]. 畜牧与兽医, 2002(9): 37-39.
- [7] 张继泉, 孙玉英. 玉米秸秆纤维素酶解条件的初步研究[J]. 粮食与饲料工业, 2002(4): 21-23.
- [8] 王泉林, 王曙雁, 赵树根. 纤维素酶饲用复合酶制剂的生产和应用研究[J]. 饲料博览, 1996(8): 1.
- [9] 郝月, 杨翔华, 洪新. 秸秆纤维素分解菌的分离筛选实验[J]. 中国饲料, 2005(11): 15-17.
- [10] 艾云灿, 赵学慧, 余家林. 判断纤维素酶系基因组组合重组的统计分析法[J]. 生物工程学报, 1994, 10(1): 45.
- [11] IZZARD A S, RIZZONI D, AGABITI Rn E, et al. Small artery structure and hypertension: adaptive changes and target organ damage[J]. J Hypertens, 2010, 23(2): 247-250.
- [12] TABIT C E, CHUNG W B, HAMBURG N M, et al. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: molecular mechanisms and clinical implications[J]. Rev Endocr Metab Disord, 2010, 11(1): 61-74.
- [13] NICOLLS M R, HASKINS K, FLORES S C. Oxidant stress, immune dysregulation, and vascular function in type I diabetes[J]. AntioXid Redox Signal, 2011, 9(7): 879-889.
- [14] GOKCE N, VITA J A, MCDONNELL M, et al. Effect of medical and surgical weight loss on endothelial vasomotor function in obese patients[J]. Am J Cardiol, 2005, 95(2): 266-268.
- [15] LTEIF A A, HAN K, MATHER K J. Obesity, insulin resistance, and the metabolic syndrome: determinants of endothelial dysfunction in whites and blacks[J]. Circulation, 2010, 112(1): 32-38.

(上接第 13485 页)