



添加不同生物益生菌对木薯块根青贮品质和微生物菌群多样性的影响

潘佳慧 喻珊 蔡杰 李开绵 欧文军 王志勇

Effect of different biological probiotics on the quality of cassava root silage and the impact on microbial flora diversity

PAN Jiahui, YU Shan, CAI Jie, LI Kaimian, OU Wenjun, WANG Zhiyong

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2021-0285>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

青贮时间和温度对木薯块根和叶发酵品质及氢氰酸含量的影响

Effect of ensiling time and temperature on the fermentation quality and content of hydrocyanic acid in cassava roots and leaves

草业科学. 2018, 12(5): 1293 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2017-0549>

不同添加剂发酵处理对汽爆玉米秸秆发酵品质及微生物数量的影响

Effects of different additives on fermentation quality and microbial population of steam-exploded corn straw

草业科学. 2021, 38(1): 192 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2020-0114>

甘露寡糖添加方式对哺乳期犊牛瘤胃细菌菌群结构的影响

Effect of oligosaccharide addition on rumen bacterial flora of lactating calves

草业科学. 2020, 37(5): 984 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2019-0502>

乳酸菌添加剂对不同生育期菊芋茎叶青贮发酵品质的影响

Effect of growth stage and lactic acid bacteria additives on quality of Jerusalem artichoke silage

草业科学. 2019, 36(2): 540 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2018-0228>

添加单宁酸对木薯叶青贮品质和有氧稳定性的影响

Effect of tannic acids on the fermentation quality and aerobic stability of cassava foliage

草业科学. 2019, 36(6): 1662 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2018-0464>

桑叶青贮中的微生物变化与青贮品质改良

Microbial changes in and quality improvement of mulberry leaf silage

草业科学. 2020, 37(9): 1912 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2020-0145>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

DOI: 10.11829/j.issn.1001-0629.2021-0285

潘佳慧, 喻珊, 蔡杰, 李开绵, 欧文军, 王志勇. 添加不同生物益生菌对木薯块根青贮品质和微生物菌群多样性的影响. 草业科学, 2021, 38(11): 2301-2312.

PAN J H, YU S, CAI J, LI K M, OU W J, WANG Z Y. Effect of different biological probiotics on the quality of cassava root silage and the impact on microbial flora diversity. Pratacultural Science, 2021, 38(11): 2301-2312.



添加不同生物益生菌对木薯块根青贮品质和微生物菌群多样性的影响

潘佳慧¹, 喻珊², 蔡杰², 李开绵², 欧文军², 王志勇¹

(1. 热带特色林木花卉遗传与种质创新教育部重点实验室/海南大学林学院 热带作物学院, 海南海口 570228;

2. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 海南海口 571101)

摘要: 以华南 9 号鲜木薯 (*Manihot esculenta*) 块根为材料, 设 4 个处理组, 试验组分别添加微生物发酵菌剂 (C₁)、高效复合菌酶制剂 (C₂) 和生物饲料发酵剂 (C₃), 对照组 (CK) 添加等体积蒸馏水, 充分混合后密闭发酵 30 d 开封测定其营养成分、发酵品质及微生物群落结构, 旨在探究添加不同生物益生菌对木薯块根的青贮品质和微生物多样性的影响。结果表明, 添加生物益生菌后, 各处理组的干物质和乳酸含量显著提升 ($P < 0.05$), 可溶性糖、中性洗涤纤维含量和乳酸/乙酸无显著差异 ($P > 0.05$); C₂ 组粗蛋白含量显著低于 CK 组 ($P < 0.05$); C₁ 和 C₃ 组的酸性洗涤纤维显著低于 CK 组 ($P < 0.05$), C₁ 组乙酸显著高于 CK 组 ($P < 0.05$); 4 个处理组的 pH 均在 4.2 以下, 检测到少量丙酸, 未检测到丁酸, 且氨态氮/全氮均低于 10%, 属优良品质饲料。从微生物菌群结构看, 菌群的丰度、多样性和分配的均匀程度均有所降低。在门水平上, 添加生物益生菌后各处理组厚壁菌门 (Firmicutes) 丰度显著增加 ($P < 0.05$), 蓝藻细菌门 (Cyanophyta)、未分类细菌和其他细菌丰度均显著降低 ($P < 0.05$), C₃ 组变形菌门 (Proteobacteria) 显著降低 ($P < 0.05$); 在属水平上, 添加菌剂后乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 和乳球菌属 (*Lactococcus*) 等有益菌属作为优势菌属丰度增高, 未分类肠杆菌属和沙雷菌属 (*Serratia*) 等杂菌和有害菌属丰度则降低。综合分析可知, 不同生物益生菌处理下的木薯块根青贮效果表现为 C₃ > C₁ > C₂。

关键词: 木薯块根; 菌剂; 生物发酵; 发酵品质; 细菌; 菌群结构

文献标志码: A 文章编号: 1001-0629(2021)11-2301-12

Effect of different biological probiotics on the quality of cassava root silage and the impact on microbial flora diversity

PAN Jiahui¹, YU Shan², CAI Jie², LI Kaimian², OU Wenjun², WANG Zhiyong¹

(1. Key Laboratory of Genetics and Germplasm Innovation of Tropical Special Forest Trees and Ornamental Plants, Ministry of Education, College of Forestry & College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou 570228, Hainan, China;

2. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, 571101, Hainan, China)

Abstract: We performed an experiment using fresh cassava root (South China No. 9) tubers under four different treatments: microbial fermenting agent (C₁), high efficiency complex bacterial enzyme preparation (C₂), biological feed fermenting agent (C₃), and the control group (CK), with equal volumes of distilled water. The nutrient composition, fermentation quality, and microbial community structure were measured after 30 days of closed fermentation after the tuber material and bacterial

收稿日期: 2021-05-10 接受日期: 2021-07-06

基金项目: 科技基础资源调查专项 (2017FY100601); 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-11-HNOWJ)

第一作者: 潘佳慧 (1997-), 女, 黑龙江齐齐哈尔人, 在读硕士生, 研究方向为热带饲草植物资源利用。E-mail: 1902798452@qq.com

通信作者: 王志勇 (1979-), 男, 江西乐平人, 教授, 博士, 研究方向为热带草类植物遗传多样性与遗传育种。E-mail: wangzhiyong@hainanu.edu.cn

共同通信作者: 欧文军 (1974-), 男, 湖南汝城人, 研究员, 博士, 研究方向为薯类资源技术研发与应用。E-mail: cassava6973@126.com

agent were thoroughly mixed. The objective was to discover the effect of adding different biological probiotics on silage quality and microbial diversity of cassava tubers. The results showed that the dry matter and lactic acid content were significantly elevated in each treatment group after the addition of bio-probiotics ($P < 0.05$), and there were no significant differences in soluble sugars, neutral detergent fiber content, and lactic acid/acetic acid ($P > 0.05$). The crude protein content of the C₂ group was significantly lower than that of the CK group ($P < 0.05$). The acid detergent fiber content was significantly lower in the C₁ and C₃ groups than in the CK group ($P < 0.05$). The level of acetic acid in the C₁ group was significantly higher than that in the CK group ($P < 0.05$). The pH of all four treatment groups was below 4.2; a small amount of propionic acid was detected, but no butyric acid was detected, and ammoniacal nitrogen/whole nitrogen was below 10% in all the treatment groups. It shows that the four treatment groups are of excellent quality. The microflora structure was then analyzed and we found that the abundance, diversity, and uniformity of distribution of the flora were reduced. At the phylum level, the addition of bioprobiotics resulted in a significant increase in the abundance of the thick-walled phylum ($P < 0.05$), and a significant decrease in the abundance of the cyanobacterial phylum, unclassified bacteria, and other bacteria ($P < 0.05$). Among them, the phylum Proteobacteria was significantly reduced in group C₃ ($P < 0.05$). At the genus level, the addition of bio-probiotics increased the abundance of dominant genera, such as *Lactobacillus* and *Lactococcus* and decreased the abundance of miscellaneous bacteria, such as unclassified *Enterobacter* and *Serratia*. The combined analysis showed that the effect of adding different biological probiotics to cassava tubers was $C_3 > C_1 > C_2$.

Keywords: cassava tuber; bacterial agent; biofermentation; fermentation quality; bacteria; bacterial flora structure

Corresponding author: WANG Zhiyong E-mail: wangzhiyong@hainanu.edu.cn

OU Wenjun E-mail: cassava6973@163.com

木薯 (*Manihot esculenta*) 为大戟科木薯属植物, 其块根富含淀粉且产量较高、价格低廉, 可代替玉米 (*Zea mays*) 等能量饲料, 在我国南方可作为地源性饲料进行综合利用^[1]。但鲜木薯块不易保存且含有有害物质氢氰酸, 不能直接供动物大量采食。青贮作为一种不消耗能量且能最大限度保存饲料营养的一种低成本处理方法, 能够有效去除氢氰酸^[2-3], 同时青贮可以分解大分子蛋白质及难消化的纤维类物质, 提高消化利用率, 改善饲料适口性并延长保存时间^[4-5], 而添加优良的菌种则是提高青贮品质和缩短青贮时间的关键^[6-7]。

微生物在青贮过程中发挥了重要作用, 其菌群群落构成及丰度变化直接影响到青贮品质, 同时青贮品质也受到添加菌剂类型、环境条件等因素的影响^[8-9]。因此, 研究添加生物益生菌对木薯块根青贮后微生物多样性的影响具有重要意义。目前有关木薯青贮的研究主要集中在木薯茎叶^[10-12]、木薯渣^[13-15]等木薯副产物的加工利用, 缺乏对木薯块根青贮后的微生物变化及其对青贮品质的影响和二者间相关性的分析。市场上微生物菌种及酶发酵剂产品丰富多样, 但针对南方地区专用的木薯青贮生物益生菌菌剂种类较少。

因此, 本研究以鲜木薯块根为青贮原料, 通过添加不同生物益生菌产品和直接青贮的比较试验, 利用常规营养分析方法和二代测序法, 对木薯块根青贮后的青贮品质和微生物菌群结构及二者间相关性进行分析, 筛选适合南方地区鲜木薯块根青贮的添加菌剂以获得高品质木薯青贮饲料, 为我国南方地区的无抗饲料生产、健康养殖及木薯综合利用提供实践应用和理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验品种选用华南 9 号木薯 (SC9), 2019 年 3 月 20 日在海南省文昌县田尾基地 (110°75' E, 19°61' N), 将长 10 cm 左右的木薯种茎下端呈 45°~65°斜插种植于垄中 5~7 cm, 株行距 1.0 m × 1.0 m, 采取常规田间管理。于 2020 年 10 月 9 日收获木薯块根。将木薯块根 (带皮) 清洗干净后, 用粉碎机 (195 汽油机动力) 粉碎为 1 cm 左右的小块, 供青贮后分析使用。青贮材料干物质 (dry matter, DM) 含量为 31.26%, 可溶性糖 (water soluble carbohydrates, WSC) 含量为 25.51%, 粗蛋白 (crude protein, CP) 含

量为 2.33%, 中性洗涤纤维 (neutral detergent fiber, NDF) 含量为 14.73%, 酸性洗涤纤维 (acid detergent fiber, ADF) 含量为 5.38%。

添加的生物益生菌分别为微生物发酵菌剂 (芽孢杆菌、乳酸菌、酵母菌, 潍坊生益生物公司)、高效复合菌酶制剂 (芽孢杆菌、乳酸菌、酵母菌、酶, 中国热带农业科学院生物技术研究所以) 和生物饲料发酵剂 (芽孢杆菌、乳酸杆菌、酵母菌, 海南盛旭生物科技有限公司)。

1.2 试验设计

试验以新鲜木薯块根单独青贮作为对照 (CK), 试验组分别添加微生物发酵菌剂 (C_1)、高效复合菌酶制剂 (C_2) 和生物饲料发酵剂 (C_3) 共 4 个处理, 每个处理组 3 个重复。严格按照各生物益生菌菌剂的使用方法在样品中加入菌剂, C_1 在鲜样中的添加量为 $5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, C_2 为 $1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, C_3 为 $2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 以 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 蒸馏水溶解, CK 组添加等量的蒸馏水。

1.3 青贮饲料制作

以粉碎后 1 cm 左右的木薯块根为原料, 按处理分组添加不同菌剂后充分混匀, 装入 $30\text{ cm}\times 20\text{ cm}$ 的聚乙烯青贮袋中, 每个处理设 3 个重复, 每袋 300 g, 用真空打包机抽真空后密封。在室温 (27 ± 3) $^{\circ}\text{C}$ 条件下遮光贮藏。于青贮第 30 天后开封进行营养指标、发酵品质及微生物多样性的测定。

1.4 测定指标与方法

1.4.1 青贮饲料营养成分及发酵品质的测定

青贮 30 d 后的木薯块根开袋取样, $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干 48 h, 粉碎过 0.425 mm 筛, 然后进行各指标测定。干物质采用烘干法测定^[16]; 粗蛋白采用凯氏定氮法 (海能 k1100 全自动凯氏定氮仪) 测定^[17]; 可溶性糖采用蒽酮-硫酸法测定^[18]; 中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维采用改进后的滤袋分析法用纤维分析仪 (SonnenF10 型自动纤维仪) 进行测定^[19]。

开袋后, 将发酵饲料混匀, 称取 20 g 样品放入 250 mL 三角瓶中, 加入 70 mL 蒸馏水搅拌均匀, 在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温冰箱中浸泡 24 h 摇匀后依次用 4 层纱布和中速定量滤纸过滤, 所得浸提液用 pH 计测定发酵饲料的 pH^[20]; 氨态氮 (ammonia nitrogen, AN) 采用苯酚-次氯酸钠比色法测定^[21], 并计算氨态氮占总氮的比例 (ammonia nitrogen/total nitrogen, AN/TN); 有

机酸采用液相色谱分析仪测定^[22], 浸提液先后抽滤到 10 mL 离心管并使用 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 尼龙有机滤膜过滤, 用岛津 LC-20A 液相色谱仪加载 Venusil XBP C18 柱 ($250\text{ mm}\times 4.6\text{ mm}$) 进行二元梯度洗脱, 在 15% 甲醇与 85% $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ ($\text{pH } 2.65$, $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 中, 总流速 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 单次 25 min, 柱温 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 波长 210 nm 下测定乳酸 (lactic acid, LA)、乙酸 (acetic acid, AA)、丙酸 (propionic acid, PA) 和丁酸 (butyric acid, BA)。

1.4.2 微生物多样性分析

二代测序每组青贮样本按青贮袋充分混合, 取 3 个重复样品, 使用 E.Z.N.ATM Mag-Bind Soil DNA Kit 的试剂盒 (OMEGA, 美国) 提取样品的总 DNA, 利用前引物 341F (ATGCGTAGCCGACCTGAGA) 与后引物 805R (CGTCAGACTTTCGTCCATTGC) 获取细菌 V3~V4 高变区 16S rRNA 基因。PCR 扩增产物回收纯化利用 Qubit3.0 DNA 检测试剂盒对基因组 DNA 精确定量, 采用 Illumina 公司的 Tru Seq TM DNA Sample PrepKit 制备测序文库。使用 MiSeq 测序仪进行 $2\times 300\text{ bp}$ 的双端测序并对结果进行分析。Illumina HiSeq 测序和结果分析测序及序列物种信息由生工生物工程 (上海) 股份有限公司协助完成。

1.5 数据处理

使用 Excel 2013 进行数据统计及分析, 用 SPSS 软件对所有数据进行单因素方差分析及营养成分和发酵品质指标的显著性检验, 用 Duncan 法对平均值进行多重比较 ($P<0.05$)。将各处理组干物质、可溶性糖、粗蛋白、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、pH、乳酸、乙酸、氨态氮/全氮共 9 个指标采用模糊数学的隶属函数理论^[23], 对其青贮品质进行综合评价。

$$\text{隶属函数: } R(x_i) = \frac{x_i - x_{\min}}{x_{\max} - x_{\min}};$$

$$\text{反隶属函数: } R(x_i) = 1 - \frac{x_i - x_{\min}}{x_{\max} - x_{\min}}。$$

式中: x_i 为当前指标测定值, $x_{\max}$ 和 $x_{\min}$ 为指标最大值和最小值; 其中中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、pH 和氨态氮/全氮为反隶属函数, 其他均为正隶属函数。隶属函数均值越大, 说明其品质越好。

二代测序得到的 PE reads 首先根据 overlap 关系进行拼接, 区分样本后对序列质量进行质控和过滤, 然后进行 OTU 聚类 (ASV 去噪) 分析和物种分类学分析。基于 OTU 聚类 (ASV 去噪) 分析结果, 用 Usearch、QIIME 以及 Mothur 等软件进行深入的统

计学和可视化生物信息学分析, 利用 R 软件作图。

2 结果与分析

2.1 添加不同生物益生菌对木薯块根青贮营养成分和发酵品质的影响

与 CK 组相比, 添加菌剂后 3 组的干物质均显著提高 ($P < 0.05$) (表 1), 但 3 组间无显著差异 ($P > 0.05$); 添加菌剂后 3 组处理可溶性糖含量与 CK 组差异均不显著, 但 C₂ 和 C₃ 组显著高于 C₁ 组; C₂ 组粗蛋白显著低于 CK 组; 中性洗涤纤维各组间差异均不显著; C₁ 和 C₃ 组酸性洗涤纤维显著低于 CK

组, 且两组间无显著差异。

所有组的 pH 均低于 4.2, 其中 C₃ 组显著低于 CK 组 ($P < 0.05$), C₂ 显著高于 CK 组; 添加菌剂的 3 组处理乳酸均显著高于 CK 组, 其中 C₁ 组最高, 且 C₁ 组乙酸显著高于 CK 组; 乳酸/乙酸各组间无显著差异; 所有组均检测到少量丙酸且组间无显著差异 ($P > 0.05$); 各组均未检测到丁酸。所有组氨态氮/总氮均小于 10%, 其中 C₂ 组显著高于其余各组。

添加不同生物益生菌后, 隶属函数平均值结果 (表 2) 显示, C₃ 理组的综合表现最优, 平均值为 0.79, C₁ 组表现较优, 平均值为 0.70, C₂ 组隶属函数值最低, 低于 CK 组。

表 1 添加不同生物益生菌对木薯块根青贮营养成分和发酵品质的影响
Table 1 Effect of adding different biological probiotics on the nutrient composition and fermentation quality of cassava root silage

项目 Item	指标 Parameter	处理 Treatment				显著性 Significance
		CK	C ₁	C ₂	C ₃	
营养成分 Nutrients	干物质(DM) Dry matter/%	33.62 ± 0.28b	34.97 ± 0.20a	34.92 ± 0.18a	35.06 ± 0.20a	***
	可溶性糖(WSC) Water soluble carbohydrates/%	37.98 ± 1.24ab	32.62 ± 2.30b	40.14 ± 3.03a	41.48 ± 5.27a	NS
	粗蛋白(CP) Crude protein/%	2.41 ± 0.07a	2.31 ± 0.03ab	2.23 ± 0.04b	2.32 ± 0.09ab	*
	中性洗涤纤维(NDF) Neutral detergent fiber/%	11.95 ± 0.48	12.84 ± 2.61	13.76 ± 2.55	12.30 ± 1.33	NS
	酸性洗涤纤维(ADF) Acid detergent fiber/%	5.24 ± 0.33a	4.37 ± 0.36b	4.92 ± 0.22ab	4.48 ± 0.17b	*
	pH	3.66 ± 0.00b	3.66 ± 0.15b	3.68 ± 0.01a	3.63 ± 0.01c	***
发酵指标 Fermentat ion index	乳酸(LA) Lactic acid/%	5.69 ± 0.11b	7.02 ± 0.47a	6.53 ± 0.55a	6.40 ± 0.09a	*
	乙酸(AA) Acetic acid/%	0.58 ± 0.07b	0.73 ± 0.04a	0.67 ± 0.08ab	0.64 ± 0.01ab	NS
	丙酸(PA) Propionic acid/%	0.04 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.04 ± 0.02	NS
	丁酸(BA) Butyric acid/%	ND	ND	ND	ND	
	乳酸/乙酸(LA/AA) Lactic acid/acetic acid	9.89 ± 1.10	9.68 ± 0.23	9.76 ± 0.78	9.97 ± 0.08	NS
	氨态氮/全氮(AN/TN) Ammonia nitrogen/total nitrogen	5.85 ± 0.46b	5.94 ± 0.21b	6.69 ± 0.35a	6.06 ± 0.04b	*

ND, 未检测到。同行不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$); *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$, NS, 不显著; 乳酸、乙酸、丙酸、丁酸以干物质基础计算; 下表同。

ND, not detected. Different lowercase letters within the same row indicate significant differences at the 0.05 level; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$, NS, no significant effect; Lactic acid, acetic acid, propionic acid, and butyric acid were calculated on a dry matter basis; this is applicable for the following tables as well.

2.2 添加不同菌剂对木薯块根青贮微生物多样性的影响

2.2.1 木薯块根青贮细菌 OTUs 基础分析

由木薯块根青贮细菌 OTUs 基础分析 (图 1) 可知,

4 个处理组共获得 174 个 OTUs, 其中共有的 OTUs 为 146 个, CK 组和 C₁ 组独有的均为 2 个, C₂ 和 C₃ 组均没有独有的, CK、C₁、C₂ 和 C₃ 组的 OTUs 数目分别为 165、163、164 和 165 个。说明 4 组处理间物种分布差异不显著 ($P > 0.05$)。

表 2 添加不同生物益生菌木薯块根青贮品质的隶属函数值

Table 2 Affiliation function values of cassava tuber silage quality under different bio-probiotic treatments

处理 Treatment	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉	平均值 Mean	排序 Rank
CK	0.00	0.60	1.00	1.00	0.00	0.40	0.00	0.00	1.00	0.44	III
C ₁	0.94	0.00	0.44	0.51	1.00	0.40	1.00	1.00	0.98	0.70	II
C ₂	0.90	0.85	0.00	0.00	0.37	0.00	0.21	0.60	0.00	0.33	IV
C ₃	1.00	1.00	0.50	0.81	0.87	1.00	0.53	0.40	0.96	0.79	I

R₁ – R₉分别代表各处理组干物质、可溶性糖、粗蛋白、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、pH、乳酸、乙酸、氨态氮/全氮的隶属函数值。
R₁ – R₉ represent the membership function values of dry matter, soluble sugar, crude protein, neutral detergent fiber, acid detergent fiber, pH, lactic acid, acetic acid, and ammonia nitrogen/total nitrogen in each treatment group, respectively.

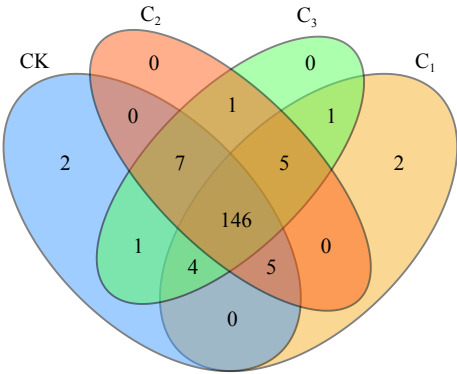


图 1 木薯块根青贮物种分布韦恩图

Figure 1 Venn diagram of cassava root tuber silage species distribution

2.2.2 Alpha 多样性分析

木薯块根青贮开封后的微生物 Alpha 多样性指

数 (表 3) 表明, 测序样本序列数量较大, 且各处理组的覆盖度均大于 0.99, 说明基本覆盖了样本中所有微生物的核心组成; 相较于 CK 组, 各添加菌剂组的 Chao 指数和 Ace 指数均有所降低, 表明菌群的丰度降低; Shannon 指数的降低和 Simpson 指数的增高说明生物菌群多样性降低, 其中 C₃ 最低; Shannoneven 指数的降低说明菌群分配的均匀程度降低。综上可知, 添加生物益生菌可以影响木薯块根青贮饲料中微生物群落的多样性。

2.2.3 木薯块根青贮后基于门水平的微生物群落结构

根据物种注释结果, 选取每个样品在门分类水平上丰度大于 1% 的菌种, 分析各青贮样品在门分类水平上相对丰度较高的物种及其比例 (表 4)。基于门水平的木薯块根青贮微生物群落结构表明, 各

表 3 不同样本的 Alpha 多样性指数

Table 3 Alpha diversity analysis of different samples

处理 Treatment	样本序列数 Number of sample sequences	序列分类单元 OTUs	Shannon	Chao	Ace	Simpson	Shannoneven	覆盖度 Coverage
CK	39 794	141.33	1.84	174.94	171.57	0.32	0.37	0.999
C ₁	44 614	136.67	1.72	155.95	158.85	0.35	0.35	0.999
C ₂	42 869	141.00	1.76	163.47	166.31	0.33	0.36	0.999
C ₃	44 824	135.67	1.68	160.13	158.06	0.36	0.34	0.999

表 4 基于门水平的木薯块根青贮微生物群落结构比例

Table 4 Microbial community structure of cassava tuber silage based on phylum level

菌门 Phylum	处理 Treatment				显著性 Significance
	CK	C ₁	C ₂	C ₃	
厚壁菌门 Firmicutes	76.76 ± 0.98c	81.20 ± 0.68ab	79.59 ± 1.81b	82.30 ± 0.33a	***
变形菌门 Proteobacteria	19.12 ± 1.27a	16.91 ± 1.05ab	18.72 ± 1.83a	15.59 ± 0.30b	*
蓝藻细菌门 Cyanobacteria_Chloroplast	2.28 ± 0.74a	1.09 ± 0.31b	0.98 ± 0.21b	1.19 ± 0.06b	*
未分类细菌 Unclassified_Bacteria	1.50 ± 0.66a	0.54 ± 0.09b	0.45 ± 0.01b	0.66 ± 0.19b	*
其他 Others	0.34 ± 0.05a	0.26 ± 0.02b	0.25 ± 0.02b	0.26 ± 0.02b	*

处理组的优势菌门均为厚壁菌门和变形菌门,这两个在青贮中占主导作用的菌门均占菌群分类的 95% 以上。除此之外,蓝藻细菌门、未分类细菌及其他细菌有少量存在。 C_1 、 C_2 和 C_3 组厚壁菌门的相对丰度相较于 CK 组 (76.76%) 均显著增加 ($P < 0.05$), 分别达到 81.20%、79.59% 和 82.30%, 同时变形菌门的相对丰度相较于 CK 组 (19.12%) 分别降低至 17.04%、18.63% 和 15.58%, 其中 C_3 组显著降低, 且蓝藻细菌门、未分类细菌和其他细菌丰度均显著降低。这说明添加菌剂可提高木薯块根青贮饲料中厚壁菌门所占比例, 降低变形菌门所占比例, 减少其他细菌产生。

2.2.4 木薯块根青贮后基于属水平的微生物群落结构

根据物种注释结果, 选取每个样品在属分类水平上丰度大于 1% 的菌种, 分析各青贮样品在属分类水平上相对丰度较高的物种及其比例 (表 5)。基于门水平的木薯块根青贮微生物群落结构表明, 4 个处理组的优势菌属均为乳杆菌属、乳球菌属、未分类属肠杆菌和沙雷菌属。其中 CK 组的 4 种菌属相对丰度分别为 56.28%、14.10%、10.85% 和 6.93%; 相较于 CK 组, 各处理组有益菌属表现为乳杆菌属和乳球菌属有所增高, 其中 C_1 、 C_3 组乳杆菌属相对丰度显著增高至 60.19%、59.33% ($P < 0.05$); C_2 、 C_3 组乳球菌属的相对丰度显著增高, 分别为 16.30% 和 16.86%; C_1 组肠球菌属显著降低; 链球菌属、明串

珠菌属相对丰度各添加菌剂组均显著降低; 魏斯氏菌属相对丰度各间均无显著差异 ($P > 0.05$)。各处理组有害菌属和杂菌表现为: 与 CK 相比, C_3 未分类属肠杆菌显著降低, 为 9.42%; C_1 、 C_2 和 C_3 组沙雷菌属相对丰度均显著降低, 分别为 5.45%、6.04% 和 5.09%; 未分类细菌相对丰度均显著降低; 不动杆菌属、未分类乳酸杆菌属和其他菌属相对丰度较 CK 组无显著差异。

2.2.5 微生物多样性与环境相关性

利用 Spearman 相关系数研究青贮木薯块根细菌菌群相对丰度与 pH、发酵代谢产物之间的相关性, 得到两两之间的相关性系数和显著性。基于门水平青贮品质指标与细菌菌群相关性分析热图 (图 2) 表明, 厚壁菌门与 LA、AA 显著正相关 ($P < 0.05$), 与 pH、ADF 显著负相关 ($P < 0.05$); 变形菌门与 pH、ADF 显著正相关 ($P < 0.05$), 与 LA 显著负相关 ($P < 0.05$); 蓝藻细菌门与 CP 极显著正相关 ($P < 0.01$)。

基于属水平青贮品质指标与细菌菌群相关性分析热图 (图 3) 表明, 乳杆菌属与 ADF 极显著负相关 ($P < 0.01$); 乳球菌属与环境因子相关性不显著 ($P > 0.05$); 沙雷菌属与 pH 显著正相关 ($P < 0.05$), 与 ADF 极显著正相关 ($P < 0.01$), 与 LA 极显著负相关 ($P < 0.01$); 链球菌属与 CP 极显著正相关 ($P < 0.01$), 与 DM 显著负相关 ($P < 0.05$), 明串珠菌属与 CP 显著正相关 ($P < 0.05$), 与 DM 显著负相关 ($P < 0.05$); 魏斯

表 5 基于属水平的木薯块根青贮微生物群落结构比例
Table 5 Microbial community structure of cassava tuber silage based on genus level

菌属 Genus	处理 Treatment				显著性 Significance
	CK	C_1	C_2	C_3	
乳杆菌属 <i>Lactobacillus</i>	56.28 ± 2.07c	60.19 ± 0.56a	57.32 ± 1.40bc	59.33 ± 0.70ab	*
乳球菌属 <i>Lactococcus</i>	14.10 ± 0.71c	15.13 ± 0.44bc	16.30 ± 1.02ab	16.86 ± 0.56a	**
沙雷菌属 <i>Serratia</i>	6.93 ± 0.36a	5.45 ± 0.32bc	6.04 ± 0.47b	5.09 ± 0.07c	***
链球菌属 <i>Streptophyta</i>	2.28 ± 0.74a	1.09 ± 0.31b	0.98 ± 0.21b	1.19 ± 0.06b	*
明串珠菌属 <i>Leuconostoc</i>	1.79 ± 0.25a	1.25 ± 0.23b	1.11 ± 0.14b	1.27 ± 0.18b	*
魏斯氏菌属 <i>Weissella</i>	0.76 ± 0.09	0.97 ± 0.20	1.05 ± 0.20	1.09 ± 0.20	NS
肠球菌属 <i>Enterococcus</i>	1.08 ± 0.14a	0.87 ± 0.11b	0.92 ± 0.09ab	0.85 ± 0.01a	NS
不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i>	0.84 ± 0.12	0.69 ± 0.04	1.19 ± 0.95	0.68 ± 0.04	NS
未分类属肠杆菌 <i>Unclassified_Enterobacteriaceae</i>	10.85 ± 0.76a	10.41 ± 0.75ab	11.06 ± 0.69a	9.42 ± 0.19b	NS
未分类属乳酸杆菌 <i>Unclassified_Lactobacillales</i>	1.04 ± 0.05	0.99 ± 0.04	1.02 ± 0.02	0.99 ± 0.06	NS
未分类的细菌 <i>Unclassified_Bacteria</i>	1.50 ± 0.66a	0.54 ± 0.09b	0.45 ± 0.01b	0.66 ± 0.19b	*
其他 <i>Others</i>	2.56 ± 0.17	2.41 ± 0.12	2.55 ± 0.13	2.57 ± 0.09	NS

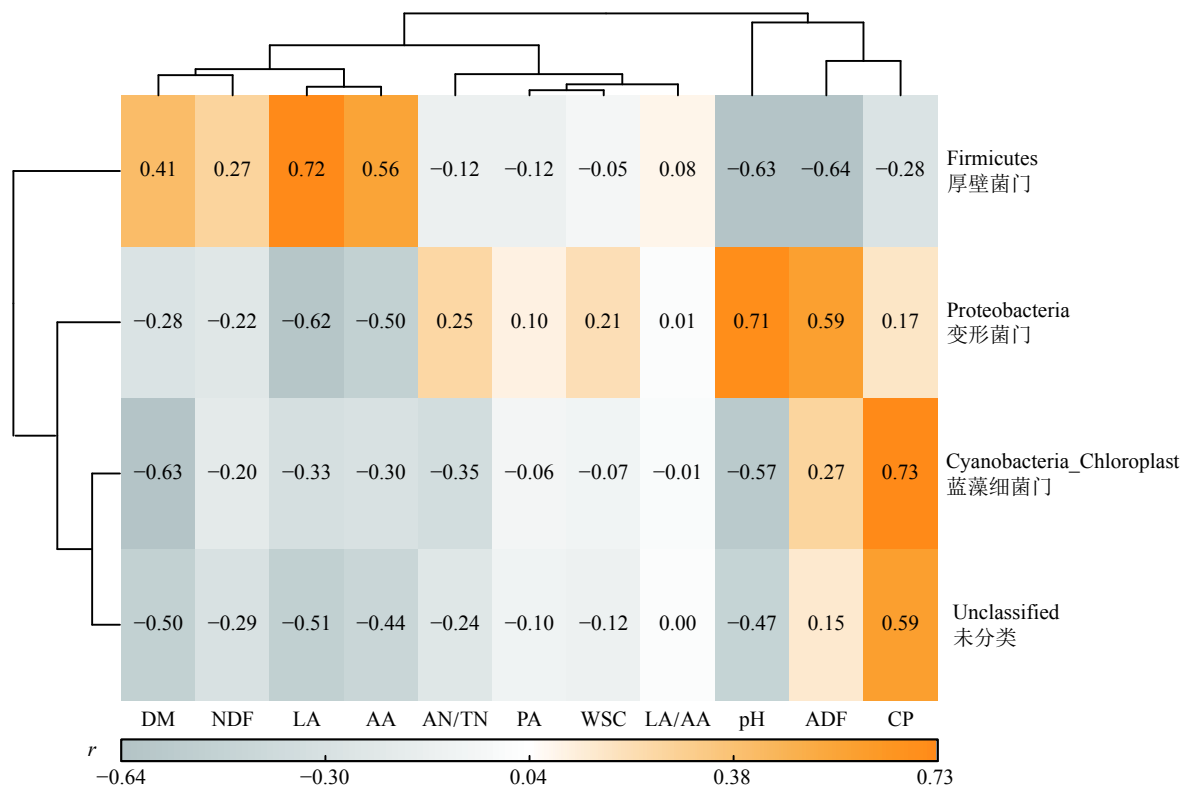


图 2 基于门水平青贮品质指标与细菌菌群相关性分析热图

Figure 2 Heat map of correlation analysis between silage quality indicators and bacterial flora based on phylum level

DM, 干物质; WSC 可溶性糖; CP, 粗蛋白; NDF, 中性洗涤纤维; ADF, 酸性洗涤纤维; LA, 乳酸; AA, 乙酸; PA, 丙酸; BA, 丁酸; AN/TN, 氨态氮/全氮; r 介于-1 和 1 之间, $r < 0$ 时为负相关, $r > 0$ 时为正相关。颜色深浅表示相关性系数大小; 下同。

DM, dry matter; WSC, water soluble carbohydrates; CP, crude protein; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; LA, lactic acid; AA, acetic acid; PA, propionic acid; BA, butyric acid; AN/TN, ammonia nitrogen/total nitrogen; r is between -1 and 1. When $r < 0$, there is a negative correlation, and when $r > 0$, there is a positive correlation. Color shades indicate the magnitude of the correlation coefficient; this is applicable for the following figure as well.

氏菌属与 LA 极显著正相关 ($P < 0.01$), 与 AA 显著正相关 ($P < 0.05$); 肠球菌属与 DM 显著负相关 ($P < 0.05$); 不动杆菌属与 ADF 显著正相关 ($P < 0.05$), 与 DM 显著负相关 ($P < 0.05$)。

3 讨论与结论

3.1 添加不同菌剂对木薯块根青贮营养成分和发酵品质的影响

本研究结果显示, 添加菌剂对木薯块根的营养品质和发酵效果有着不同程度的影响。与 CK 组相比, 添加菌剂后 3 个处理组的干物质均显著提高 ($P < 0.05$), 可能是可溶性糖含量较高情况下, 添加菌剂加速乳酸产生, 减少了有害微生物的含量, 从而减少了干物质的损失^[24]; 中性洗涤纤维和可溶性糖含量差异均不显著 ($P > 0.05$), 与陆永祥等结果相似^[25]; C₁ 和 C₃ 组酸性洗涤纤维显著低于 CK 组 ($P < 0.05$),

可能是由于较低 pH 构成的酸性环境促进了细胞壁成分的酸解作用^[26]; 粗蛋白的降解会影响饲料的营养价值, C₂ 组粗蛋白含量显著低于 CK 组 ($P < 0.05$), 可能存在某些降解蛋白的菌促进蛋白的分解^[27]。

pH、有机酸是衡量青贮饲料发酵品质的重要指标, 品质优良的青贮饲料的 pH 在 4.2 以下^[28]。本研究 4 个处理组的 pH 均在 3.6 左右, 发酵效果极好, 主要是由于木薯本身干物质、可溶性糖含量较高, 添加菌剂后为发酵提供了更多底物, 使其迅速发酵产生乳酸降低 pH, 这与 Zhang 等^[29] 在湿玉米麸皮和玉米秸秆混合饲料中加入乳酸菌菌剂后 pH 比不添加任何菌剂的对照组更低的研究结果一致。添加生物益生菌处理组的乳酸相较于 CK 组均显著提高 ($P < 0.05$), 其中 C₁ 组乙酸的含量显著高与 CK 组 ($P < 0.05$), 可能是添加的菌剂主成分均为乳酸菌菌种, 提高了产乳酸能力, 与王丹丹^[30] 在玉米 (*Zea mays*)

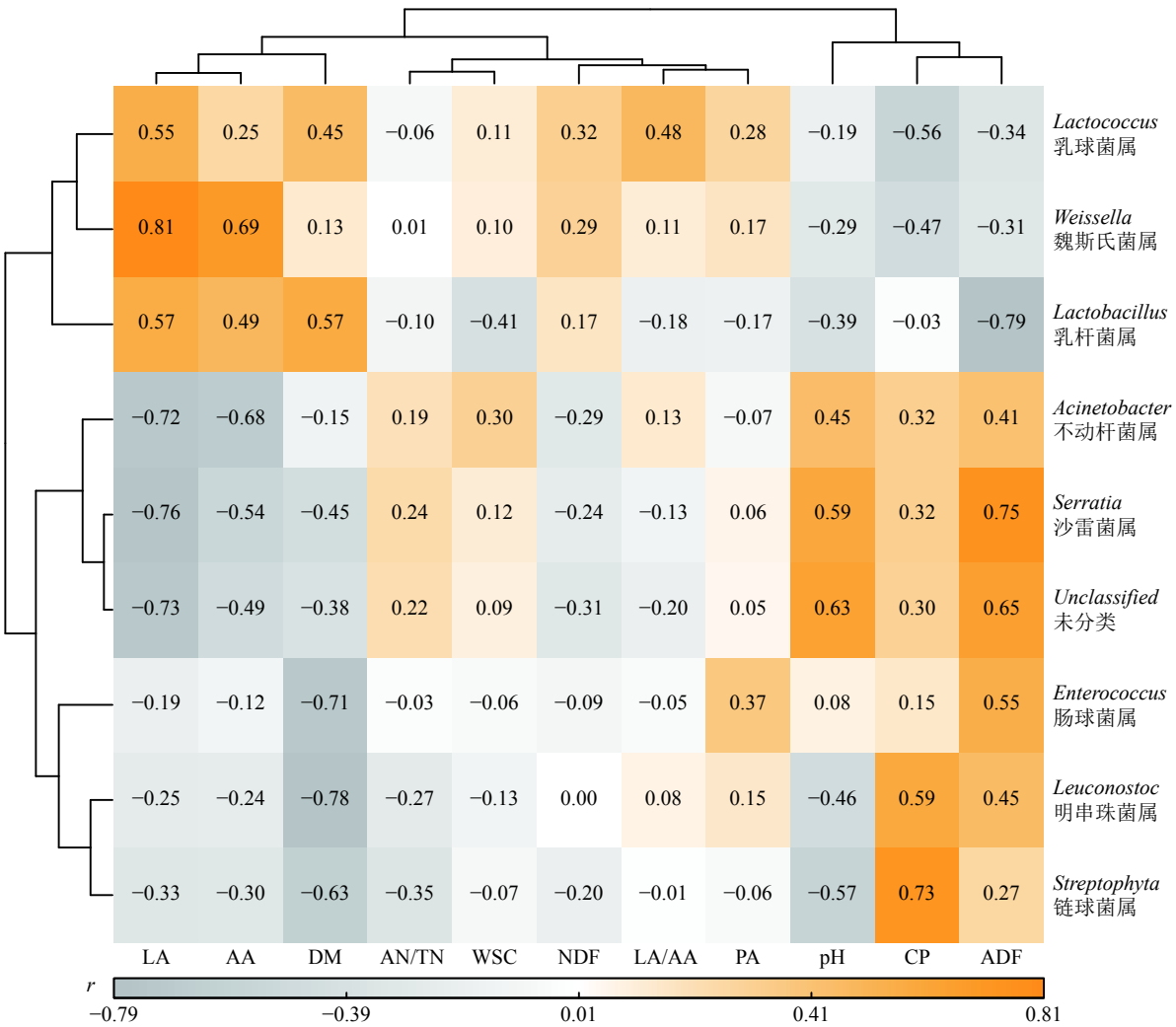


图 3 基于属水平青贮品质指标与细菌菌群相关性分析热图

Figure 3 Heat map of correlation analysis between silage quality indicators and bacterial flora based on genus level

中加入微生物添加剂后乳酸和乙酸有显著增高的研究一致。丁酸是蛋白质和乳酸被腐败菌分解所产生，本研究中各组均未检测出丁酸，只检测到少量丙酸，说明饲料发酵品质较高^[31]。乳酸/乙酸始终高于 3，说明木薯块根青贮发酵过程主要以同型乳酸发酵为主。本研究中各组氨态氮/总氮均小于 10%，达到优质青贮饲料标准，说明氨基酸和蛋白质分解较少^[32]，而 C₂ 组的氨态氮/总氮显著高于 CK 组 ($P < 0.05$)，这主要是由于 C₂ 组 pH 较 CK 组高，导致一些以蛋白质为营养的有害微生物增殖，产生相对较多的氨态氮。

本研究中的 4 个处理组青贮品质均达到优质青贮饲料标准，但添加菌剂增加干物质和可溶性糖等发酵底物含量和产酸能力，并降低酸性洗涤纤维等不易被动物吸收的物质含量。将各项营养和发酵指

标通过模糊数学隶属函数法进行综合分析，各指标平均隶属函数值越高则代表青贮品质越好，对比可以看出 C₃ 组的综合表现最优，其次为 C₁ 组，C₂ 组则排在最后，所以在不同生物益生菌处理中的木薯块根青贮品质为 C₃ > C₁ > C₂。

3.2 添加不同菌剂对木薯块根青贮微生物多样性的影响

复杂的微生物在青贮过程中存在共生且有着相互作用的关系，微生物多样性也与青贮品质有着一定的相关性^[8]。本研究采用高通量测序技术对添加不同生物益生菌菌剂的木薯块根青贮后微生物菌群群落结构进行分析，从丰度、结构等定义微生物的多样性。从木薯块根青贮细菌 OTUs 基础分析结果来看，添加生物益生菌菌剂对物种分布差异影响不大；但由 Alpha 多样性分析结果显示，木薯块根青贮后

微生物的多样性有一定的影响,相较于 CK 组,菌群的丰度、多样性和分配的均匀程度均降低,这种变化可能是受群落里优势菌属的影响,有研究表明优势菌属越丰富,细菌群落的多样性越少^[33],Wang 等^[34]在辣木 (*Moringa oleifera*) 乳酸菌接种青贮饲料中发现乳酸杆菌的高丰度导致细菌多样性低与本研究结果相似。上述结果说明添加生物益生菌菌剂会影响木薯块根青贮饲料微生物群落结构的多样性。

根据高通量测序结果在门水平上分析核心菌群,4 个木薯块根青贮处理组在菌群组成上并无明显差异,各组的优势菌门均为厚壁菌门和变形菌门。其中厚壁菌门与 LA、AA 含量显著正相关 ($P < 0.05$),与 pH、ADF 显著负相关 ($P < 0.05$),是因为厚壁菌门中多是参与乳酸发酵的菌群,其丰度增加提高了产酸能力导致 pH 降低,并对酸性洗涤纤维进行进一步分解,从而提高发酵品质^[35];本研究中各添加菌剂组的厚壁菌门相对丰度相较于 CK 组均显著提高 ($P < 0.05$),其中 C₃ 组的相对丰度最高,其次是 C₁、C₂ 组。变形菌门与 pH、ADF 显著正相关 ($P < 0.05$),与 LA 显著负相关 ($P < 0.05$),是由于变形菌门部分菌属能进行脱氨反应生成氨,使 pH 的降低减缓的同时可与乳酸菌竞争可溶性糖的利用,对酸性洗涤纤维的分解和乳酸的产生起到不利的影响,这与闫晶等^[36]发现变形菌门与 pH 呈正相关关系的研究结果相同;本研究中添加菌剂后变形菌门相对丰度均降低,其中 C₃ 相对丰度显著降低,其次是 C₁、C₂ 组。添加益生菌后蓝藻细菌门和其他菌均显著降低,且蓝藻细菌门与 CP 极显著正相关 ($P < 0.05$),说明处理组 CP 含量降低可能与此菌门丰度降低有一定关联。综上,添加生物益生菌能增加厚壁菌门所占比例,减少变形菌门和其他菌类占比,与王丽学等^[37]在苜蓿 (*Medicago sativa*) 中添加乳酸菌改善细菌菌群结构的研究结果基本一致。

在属水平上分析核心菌群,各处理组的优势菌属均为乳杆菌属、乳球菌属,其次为未分类肠杆菌属和沙雷菌属。乳杆菌属是青贮发酵的主要菌属,在 pH 较低环境下可以正常生长,是导致本研究中

厚壁菌门微生物含量多的直接原因^[38],乳球菌属占比相对较少则是因为不如乳杆菌属耐酸^[39];魏斯氏菌属为异型发酵乳酸菌,有较强耐酸碱性,与 LA、AA 有正相关关系^[40];链球菌属和明串珠菌相对丰度在接种生物益生菌后显著减少 ($P < 0.05$),可能是因为生物益生菌的添加导致发酵环境中的酸碱度快速下降,从而降低了这类不耐酸菌属的丰度,这与 Yang 等^[41]发现低 pH 是酸性环境中微生物多样性有限的主要因素和 Wang 等^[42]在辣木中接种乳酸菌后乳酸杆菌增强,肠杆菌、肠球菌和豌豆球菌的相对丰度则降低等研究结果相似。且 CP 含量与其存在正相关关系,DM 与其存在负相关关系,所以 C₂ 组的 CP 含量降低和 3 个处理组的 DM 含量增高可能与其丰度降低有关;沙雷菌属及其主要发酵产物与酸化环境有关,或至少在这种条件下维持^[43],其与 pH 和 ADF 正相关,与 LA 负相关,是因为沙雷菌属、未分类肠杆菌属和不动杆等菌属等为变形菌门下菌属。正是由于发酵过程中乳杆菌属、乳球菌属、魏斯氏菌属、明串珠菌属、链球菌属、肠球菌属等有益乳酸菌群占据优势主导地位,生成一定量的乳酸使 pH 快速下降,才使得上述腐败菌被有效抑制,从而更好地保证饲料的发酵品质。综上,添加生物益生菌菌剂后乳杆菌属、乳球菌属丰度增高,未分类肠杆菌、沙雷菌属丰度的降低,可以说明木薯块根青贮中添加生物益生菌菌剂可以增强产酸能力强的乳酸菌菌种的丰度,且抑制有害菌群的繁殖,从而提高发酵饲料品质。

综上,添加生物益生菌菌剂对木薯块根青贮的营养品质和发酵品质有不同程度的改善,从菌群结构看,添加菌剂能提高木薯块根青贮饲料中厚壁菌门下乳酸菌菌种的丰度,降低变形菌门下沙雷菌属和不动杆菌属等菌属的丰度,减少杂菌产生,且菌群结构的改变与青贮品质指标有一定相关性。其中,厚壁菌门菌群丰度为 $C_3 > C_1 > C_2$,变形菌门菌群丰度为 $C_3 < C_1 < C_2$,其各菌门下各菌属菌群丰度与此趋势相同。所以综合各项指标及微生物群落结构的分析判断,木薯块根青贮效果表现为 $C_3 > C_1 > C_2$ 。

参考文献 References:

- [1] 肖鑫辉,叶剑秋,王明,许瑞丽,张洁,万仲卿. 木薯种质资源淀粉特性分析与评价. *热带作物学报*, 2021, 42(2): 339-348.

- XIAO X H, YE J Q, WANG M, XU R L, ZHANG J, WAN Z Q. Analysis on starch properties in cassava germplasm resources. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2021, 42(2): 339-348.
- [2] 冯巧娟, 朱琳, 吴安琪, 张建国. 青贮时间和温度对木薯块根和叶发酵品质及氢氰酸含量的影响. *草业科学*, 2018, 35(5): 1293-1298.
- FENG Q J, ZHU L, WU A Q, ZHANG J G. Effect of ensiling time and temperature on the fermentation quality and content of hydrocyanic acid in cassava roots and leaves. *Pratacultural Science*, 2018, 35(5): 1293-1298.
- [3] 田静, 朱琳, 董朝霞, 王晓亚, 张建国. 处理方法对木薯块根氢氰酸含量和营养成分的影响. *草地学报*, 2017, 25(4): 875-879.
- TIAN J, ZHU L, DONG C X, WANG X D, ZHANG J G. Effects of treatment methods on the hydrocyanic acid content and nutrient composition of cassava roots. *Acta Agrestia Sinica*, 2017, 25(4): 875-879.
- [4] NASCIMENTO T V C, OLIVEIRA R L, MENEZES D R, DELUCENA A R F, QUEIROZ M A A, LIMA A G V O, RIBEIRO R D X, BEZERRA L R. Effects of condensed tannin-amended cassava silage blend diets on feeding behavior, digestibility, nitrogen balance, milk yield and milk composition in dairy goats. *Animal*, 2021, 15(1): 112-115.
- [5] TIBERIO D A S, CAROLINACORREA D F M, FEITOSA E M S, GLAUCIASABRINE D O M, ANTONIOJOELSON N, DANIELBARROS C, MAGALHES A L R, MELO A A S D. Effect of association of fresh cassava root with corn silage in replacement for cactus cladodes on dairy cow performance. *Tropical Animal Health and Production*, 2020, 52(3): 234-243.
- [6] 经争辉, 娄宇飞, 张梦瑶, 徐养滨, 郭萌萌, 张科, 杨雨鑫, 陈玉林. 饲用复合菌剂对玉米秸秆青贮品质的影响. *中国畜牧杂志*, 2019, 55(10): 111-115.
- JING Z H, LOU Y F, ZHANG M Y, XU Y B, GUO M M, ZHANG K, YANG Y X, CHEN Y L. The Effect of compound microorganism for feed on the quality of corn stalk silage. *Chinese Journal of Animal Science*, 2019, 55(10): 111-115.
- [7] KAEWPILA C, THIPUTEN S, CHERDTHONG A, KHOTA W. Impact of cellulase and lactic acid bacteria inoculant to modify ensiling characteristics and in vitro digestibility of sweet corn stover and cassava pulp silage. *Agriculture*, 2021, 11(1): 66.
- [8] 黄媛, 代胜, 梁龙飞, 孙文涛, 彭超, 陈超, 郝俊. 不同添加剂对构树青贮饲料发酵品质及微生物多样性的影响. *动物营养学报*, 2021, 33(3): 1607-1617.
- HUANG Y, DAI S, LIANG L F, SUN W T, PENG C, CHEN C, HAO J. Effects of different additives on fermentation quality and microbial diversity of paper mulberry silage. *Chinese Journal Of Animal Nutrition*, 2021, 33(3): 1607-1617.
- [9] LIU B, YANG Z, HUAN H, GU H, DING G. Impact of molasses and microbial inoculants on fermentation quality, aerobic stability, and bacterial and fungal microbiomes of barley silage. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 102-107.
- [10] 李茂, 字学娟, 刁其玉, 胡海超, 唐军, 周汉林. 添加单宁酸对木薯叶青贮品质和有氧稳定性的影响. *草业科学*, 2019, 36(6): 1662-1667.
- LI M, ZI X J, DIAO Q Y, HU H C, TANG J, ZHOU H L. Effect of tannic acids on the fermentation quality and aerobic stability of cassava foliage. *Pratacultural Science*, 2019, 36(6): 1662-1667.
- [11] LI M, ZHANG L, ZHANG Q, ZI X J, LV R L, TANG J, ZHOU H L. Impacts of citric acid and malic acid on fermentation quality and bacterial community of cassava foliage silage. *Frontiers in Microbiology*, 2020(11): 595.
- [12] LI M, ZI X J, ZHOU H L, LYU R L, TANG J, CAI Y M. Silage fermentation and ruminal degradation of cassava foliage prepared with microbial additive. *AMB Express*, 2019, 9(1): 180.
- [13] 项轩, 倪姮佳, 黄兴国, 李颖慧. 发酵木薯渣的营养价值及其在畜禽生产中的应用进展. *黑龙江畜牧兽医*, 2020(19): 45-50.
- XIANG X, NI H J, HUANG X G, LI Y H. Nutritional value of fermented cassava residue and its application in livestock and poultry production. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2020(19): 45-50.
- [14] 郑宇慧, 张新雨, 李胜利. 木薯渣与甜菜颗粒粕组合效应对奶牛瘤胃发酵特性的影响. *中国畜牧杂志*, 2021, 57(2): 130-136.
- ZHENG Y H, ZHANG X Y, LI S L. Effects of different proportions of cassava residue and pelleted beet pulp on rumen fermentation characteristics of dairy cows. *Chinese Journal of Animal Science*, 2021, 57(2): 130-136.
- [15] 蒋慧姣, 李净, 彭辉平, 倪姮佳, 方俊, 孔祥峰. 微生物发酵对木薯渣营养成分的影响. *微生物学通报*, 2021, 48(2): 407-413.
- JAING H J, LI J, PENG H P, NI H J, FANG J, KONG X F. Effect of microbial fermentation on nutrient composition of cassava residues. *Microbiology China*, 2021, 48(2): 407-413.
- [16] 孟凡胜, 张苏, 栗胜兰, 刘继明, 梁萌, 李宏, 郭洁, 宫玲玲. GB/T 6435-2014 饲料中水分的测定. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- MENG F S, ZHANG S, LI S L, LIU J M, LAING M, LI H, GUO J, GONG L L. GB/T 6435-2014 Determination of Moisture in Feed. Beijing: Standards Press of China, 2014.

- [17] 肖志明, 樊霞, 马东霞, 李丽蓓, 王石, 贾铮, 刘晓露, 王志刚, 刘军. GB/T 6432-2018 饲料中粗蛋白的测定凯氏定氮法. 北京: 中国标准出版社, 2018.
- XIAO Z M, FAN X, MA D X, LI L B, WANG S, JIA Z, LIU X L, WANG Z G, LIU J. GB/T 6432-2018 Determination of Crude Protein in Feedstuff Kjeldahl Method. Beijing: Standards Press of China, 2018.
- [18] 邹琦. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- ZOU Q. Plant Physiology Experiment Guidance. Beijing: China Agriculture Press, 2000.
- [19] 张丽英. 饲料分析及饲料质量检测技术. 北京: 中国农业大学出版社, 2003.
- ZHANG L Y. Feed Analysis and Feed Quality Inspection Technology. Beijing: China Agricultural University Press, 2003.
- [20] 司丙文. 三种灌木饲用植物青贮微生物种群动态变化与发酵特性. 北京: 中国农业科学院博士学位论文, 2012.
- SI B W. The dynamic changes of microbial flora in three shrub forage silage and its fermentation characteristics. PhD Thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012.
- [21] 闫峻, 王文杰, 高玉鹏, 潘振亮, 穆淑琴. 自动凯氏定氮仪快速测定青贮饲料中的氨态氮. *粮食与饲料工业*, 2009(4): 47-48.
- YAN J, WANG W J, GAO Y P, PAN Z L, MU S Q. Automatic Kjeldahl nitrogen analyzer for rapid determination of ammonia nitrogen in silage. *Cereal & Feed Industry*, 2009(4): 47-48.
- [22] 白杰. 不同红麻品种营养价值的比较及青贮利用技术的研究. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2016.
- BAI J. Comparison of nutritional value of different kenaf (*Hibiscus cannabinus*) varieties and the study on silage utilization technology of kenaf. Master Thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2016.
- [23] 严琳玲, 张瑜, 白昌军. 13 份柱花草品系生产性能比较. *草业科学*, 2018, 35(4): 867-875.
- YAN L L, ZHANG Y, BAI C J. Comparative study on the production performance of 13 *Stylosanthes guianensis*. *Pratacultural Science*, 2018, 35(4): 867-875.
- [24] KUNG L, SHAVER R D, GRANT R J, SCHMIDT R J. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(5): 4020-4033.
- [25] 陆永祥, 陈良寅, 陈仕勇, 成启明, 范康, 苟文龙, 李平. 乳酸菌对青藏高原藜草青贮饲料发酵品质和细菌群落的影响. *草学*, 2020(5): 16-24.
- LU Y X, CHEN L Y, CHEN S Y, CHENG Q M, FAN K, GOU W L, LI P. Effect of lactic acid bacteria on fermentation quality and bacterial community of *Phalaris arundinacea* silage on the Qinghai-Tibet plateau. *Journal of Grassland and Forage Science*, 2020(5): 16-24.
- [26] 董志浩, 原现军, 闻爱友, 王坚, 郭刚, 李君凤, 白晰, 周顺陶, 邵涛. 添加乳酸菌和发酵底物对桑叶青贮发酵品质的影响. *草业学报*, 2016, 25(6): 167-174.
- DONG Z H, YUAN X J, WEN A Y, WANG J, GUO G, LI J F, BAI X, ZHOU S T, SHAO T. Effect of lactic acid bacteria and fermentation substrates on the quality of Mulberry (*Morus alba*) leaf silage. *Acta Pratacultural Sinica*, 2016, 25(6): 167-174.
- [27] 任海伟, 王莉, 朱朝华, 孙安琪, 王治业, 李金平, 李志忠. 白酒糟与菊芋渣混合青贮发酵品质及微生物菌群多样性. *农业工程学报*, 2020, 36(15): 235-244.
- REN H W, WANG L, ZHU C H, SUN A Q, WANG Z Y, LI J P, LI Z Z. Ensiling co-fermentation quality and microbial community diversity of grain stiller and inulin processing residue from *Helianthus tuberosus*. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2020, 36(15): 235-244.
- [28] ERTEKIN B, KZLIMEK M. Effects of lactic acid bacteria inoculation in pre-harvesting period on fermentation and feed quality properties of alfalfa silage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2020, 33(2): 245-253.
- [29] ZHANG G, FANG X, FENG G, LI Y, ZHANG Y. Silage fermentation, bacterial community, and aerobic stability of total mixed ration containing wet corn gluten feed and corn stover prepared with different additives. *Animals*, 2020, 10(10): 389-394.
- [30] 王丹丹. 微生物接种剂对玉米秸秆青贮品质和有氧稳定性的影响. *饲料研究*, 2021(6): 109-113.
- WANG D D. Effects of microbial inoculants on the quality and aerobic stability of corn stalk silage. *Feed Research*, 2021(6): 109-113.
- [31] 申瑞瑞, 孙晓玉, 刘博, 李运起, 高艳霞, 李建国, 曹玉凤, 李秋凤. 不同复合微生物制剂对薯渣与大豆秸秆混贮发酵品质、营养成分及瘤胃降解率的影响. *动物营养学报*, 2019, 31(7): 3319-3329.
- SHEN R R, SUN X Y, LIU B, LI Y Q, GAO Y X, LI J G, CAO Y F, LI Q F. Effects of different compound microorganism preparations on fermentation quality, nutritional components and rumen degradation rate of mixed silage of potato pulp and soybean

- straw. [Chinese Journal Of Animal Nutrition](#), 2019, 31(7): 3319-3329.
- [32] DESTA S T, YUAN X J, LI J, SHAO T. Ensiling characteristics, structural and nonstructural carbohydrate composition and enzymatic digestibility of Napier grass ensiled with additives. [Bioresource Technology](#), 2016, 221(12): 447-454.
- [33] NI K, WANG F, ZHU B, YANG J, ZHOU G, PAN Y, ZHONG J. Effects of lactic acid bacteria and molasses additives on the microbial community and fermentation quality of soybean silage. [Bioresource Technology](#), 2017, 238(10): 706-715.
- [34] WANG Y, HE L, XING Y, ZHOU W, PIAN R, YANG F, CHEN X, ZHANG Q. 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(6): 349-358.
- [35] OGUNADE I M, JIANG Y, CERVANTES A A P, KIM D H, OLIVEIRA A S, VYAS D, WEINBERG Z G, JEONG K C, ADESOGAN A T. Bacterial diversity and composition of alfalfa silage as analyzed by Illumina MiSeq sequencing: Effects of *Escherichia coli* O157: H7 and silage additives. [Journal of Dairy Science](#), 2017, 101(3): 2048-2059.
- [36] 闫晶, 陆冰圆, 席华悦, 孟星尧, 袁旭峰, 朱万斌, 崔宗均. 外源添加剂对黄贮小麦秸秆产甲烷潜力及微生物群落的影响. [农业工程学报](#), 2020, 36(15): 252-260.
- YAN J, LU B Y, XI H Y, MENG X R, YUAN X F, ZHU W B, CUI Z J. Effects of yellow silage additives on methane production and microbial community dynamics during anaerobic digestion of wheat straw. [Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering](#), 2020, 36(15): 252-260.
- [37] 王丽学, 韩静, 陈龙宾, 余新越, 刘景喜, 马毅, 霍文娟. 不同乳酸菌组合对苜蓿青贮细菌群落结构的影响. [草地学报](#), 2021, 29(2): 388-395.
- WANG L X, HAN J, CHEN L B, YU X Y, LIU J X, MA Y, HUO W J. Effects of various lactic acid bacteria combinations on bacterial community structure of alfalfa silage. [Acta Agrestia Sinica](#), 2021, 29(2): 388-395.
- [38] 卢强, 孙林, 任志花, 撒多文, 都帅, 李俊峰, 袁宁, 贾玉山. 发酵时间对苜蓿青贮品质和微生物群落的影响. [中国草地学报](#), 2021, 43(1): 111-117.
- LU Q, SUN L, REN Z H, SA D W, DU S, LI J F, YUAN N, JIA Y S. Dynamic analysis of nutritional quality and microbial community of alfalfa silage. [Chinese Journal of Grassland](#), 2021, 43(1): 111-117.
- [39] 司华哲, 李志鹏, 南韦肖, 金春爱, 李光玉, 刘晗璐. 添加植物乳杆菌对低水分稻秸青贮微生物组成影响研究. [草业学报](#), 2019, 28(3): 184-192.
- SI H Z, LI Z P, NAN W X, JIN C A, LI G Y, LIU H L. Effects of bacterial community composition on fermentation characteristics of *Lactobacillus plantarum* in low moisture content rice stalk silage. [Acta Prataculturae Sinica](#), 2019, 28(3): 184-192.
- [40] 张红梅, 段珍, 李霞, 梁建勇, 张建华, 李晓康. 青贮饲料乳酸菌添加剂的应用现状. [草业科学](#), 2017, 34(12): 2575-2583.
- ZHANG H M, DUAN Z, LI X, LIANG J Y, ZHANG J H, LI X K. Actual research and application of the silage lactic acid bacteria additives. [Pratacultural Science](#), 2017, 34(12): 2575-2583.
- [41] YANG L, YUAN X, LI J, DONG Z, SHAO T. Dynamics of microbial community and fermentation quality during ensiling of sterile and nonsterile alfalfa with or without *Lactobacillus plantarum* inoculant. [Bioresource Technology](#), 2018(3): 176-181.
- [42] WANG Y, HE L W, XING Y Q, ZHENG Y T, ZHOU W, PIAN R Q, YANG F Y, CHEN X Y, ZHANG Q. Dynamics of bacterial community and fermentation quality during ensiling of wilted and unwilted *Moringa oleifera* leaf silage with or without lactic acid bacterial inoculants. [mSphere](#), 2019, 4(4): 76-85.
- [43] RAMIREZ H, ARTEAGA-GARIBAY R I, MAYA-LUCAS O, GOMEZ-RODRIGUEZ V M, ZELAYA-MOLINA L X. The bacterial community associated with the Amarillo Zamorano maize (*Zea mays*) landrace silage Process. [Microorganisms](#), 2020, 8(10): 56-61.

(责任编辑 王芳)