

doi: 10.11733/j.issn.1007-0435.2026.01.034

引用格式: 李钦, 林冰, 毛培春, 等. 添加蔗糖和乳酸菌剂对高水分苜蓿青贮中优势梭菌和乳酸菌菌群的影响[J]. 草地学报, 2026, 34(1): 356–365

LI Qin, LIN Bing, MAO Pei-chun, et al. Effects of Sucrose and Lactic Acid Bacteria Inoculation on Dominant Clostridia and Lactic Acid Bacteria Communities in High-moisture Alfalfa Silage[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(1): 356–365

添加蔗糖和乳酸菌剂对高水分苜蓿青贮中优势梭菌和乳酸菌菌群的影响

李钦^{1,2}, 林冰¹, 毛培春², 田小霞², 马帅², 孟林², 郑明利^{2*}, 郭玉霞^{1*}

(1. 河南农业大学动物科技学院, 河南 郑州 450046; 2. 北京市农林科学院草业花卉与景观生态研究所, 北京 100097)

摘要: 试验旨在通过高通量测序技术并结合相关性网络分析探讨高水分苜蓿青贮中优势梭菌菌群多样性并筛选靶向抑菌乳酸菌。设置蔗糖组(添加量为 $20\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ FM)、乳酸菌组(*Lactiplantibacillus plantarum* 和 *Lentilactobacillus buchneri* 组成, 接种量为 $10^6\text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ FM)和对照组, 室温厌氧发酵 56 d。结果表明: 对照组和乳酸菌组均发生严重的丁酸发酵; 与对照组和乳酸菌组相比, 蔗糖组显著提高了苜蓿青贮的乳酸含量($P<0.05$), 显著降低了丁酸含量、氨态氮含量和梭菌数量($P<0.05$)。 *Clostridium* sp. BTY5、*Garciella* sp. GK3 和 Clostridiales bacterium mt11 与丁酸、氨态氮以及梭菌数量呈显著正相关($P<0.05$)。 *L. buchneri* 和 *Lactobacillus melliventris* 与这 3 种关键梭菌呈显著负相关($P<0.05$), 并且与 pH 值、丁酸、氨态氮及梭菌数量呈显著负相关($P<0.05$)。综上所述, *Clostridium* sp. BTY5、*Garciella* sp. GK3 和 Clostridiales bacterium mt11 是引起高水分苜蓿青贮丁酸发酵的关键梭菌, 添加蔗糖可有效改善青贮发酵品质, *L. buchneri* 和 *L. melliventris* 具有靶向抑制关键梭菌的潜力。

关键词: 苜蓿青贮; 梭菌; 乳酸菌; 发酵品质

中图分类号: S153

文献标识码: A

文章编号: 1007-0435(2026)01-0356-10

Effects of Sucrose and Lactic Acid Bacteria Inoculation on Dominant Clostridia and Lactic Acid Bacteria Communities in High-moisture Alfalfa Silage

LI Qin^{1,2}, LIN Bing¹, MAO Pei-chun², TIAN Xiao-xia², MA Shuai², MENG Lin², ZHENG Ming-li^{2*}, GUO Yu-xia^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan Province 450046, China;

2. Institute of Grassland, Flowers and Ecology, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the diversity of dominant Clostridia community and screen targeted *bacteriostatic lactic acid bacteria* in high-moisture alfalfa silage through high-throughput sequencing combined with correlation network analyses. Sucrose group (sucrose added at $20\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ fresh matter, FM), LAB group (LAB inoculant was composed of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lentilactobacillus buchneri* and applied at $10^6\text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ FM), and control group were established. All groups were subjected to 56 days of anaerobic ensiling at ambient temperature. The results showed that severe butyric acid fermentation occurred in both the control and LAB groups. Compared to the control and LAB groups, the sucrose group significantly increased the lactic acid content ($P<0.05$), while significantly decreased butyric acid, ammonia nitrogen, and Clostridia counts ($P<0.05$). *Clostridium* sp. BTY5, *Garciella* sp. GK3, and Clostridiales bacterium mt11

收稿日期: 2025-03-18; 修回日期: 2025-05-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(32201461); 北京市农林科学院青年科研基金项目(QNJJ202310)资助

作者简介: 李钦(2000-), 男, 汉族, 河南新乡人, 硕士研究生, 主要从事动物营养与饲料科学研究, E-mail: 19503820416@163.com; *通信作者 Author for correspondence, E-mail: bjzhengml@163.com; yuxiagu@163.com

were significantly positively correlated with butyric acid, ammonia nitrogen, and Clostridia counts ($P < 0.05$). *L. buchneri* and *Lactobacillus melliventris* were significantly negatively correlated with these three key Clostridia ($P < 0.05$) and were significantly negatively correlated with pH, butyric acid, ammonia nitrogen, and Clostridia counts ($P < 0.05$). In conclusion, *Clostridium* sp. BTY5, *Garciella* sp. GK3, and Clostridiales bacterium mt11 were identified as the key Clostridia responsible for butyric acid fermentation in high-moisture alfalfa silage. The addition of sucrose can effectively improve silage fermentation quality. *L. buchneri* and *L. melliventris* have the potential to inhibit targeted key Clostridia.

Key words: Alfalfa silage; Clostridia; Lactic acid bacteria; Fermentation quality

“大食物观”背景下,发展现代饲草产业和草食畜牧业是保障我国粮食安全的重要途径^[1]。紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)是高产奶牛日粮中重要且不可或缺的组成部分,随着我国规模化、标准化奶牛产业的快速发展,对高品质植物性蛋白饲料的需求量越来越大,优质苜蓿已成为不可替代的战略性保障饲草^[2]。青贮是苜蓿等饲草重要的贮藏方式之一,其基本原理是通过乳酸菌的厌氧发酵,使原料中所含的糖分变为以乳酸为主的有机酸,提高体系酸度抑制腐败微生物活动,并防止原料中养分继续被微生物分解或消耗,从而保存原料的养分^[3]。然而,苜蓿的高水分含量、低可溶性碳水化合物(Water soluble carbohydrates, WSC)含量及高缓冲能等特性,使其单独青贮时极易发生由梭菌主导的丁酸发酵,降低青贮的营养价值,并促使病原菌增殖和毒素积累,威胁人畜健康^[4]。目前,抑制丁酸发酵提高苜蓿青贮发酵品质的措施主要有:通过降低原料水分含量或添加化学制剂抑制有害微生物活性^[5],通过添加糖类等营养型添加剂提高原料中的WSC含量,通过接种乳酸菌剂增加乳酸菌的数量等^[6-7]。其中,乳酸菌剂具有处理效果好、反应条件温和及环境友好等优点^[8]。

乳酸菌是青贮发酵的主体,是决定青贮品质的重要因子^[9]。接种具有产纤维素酶、阿魏酸酯酶、细菌素等活性的乳酸菌 *Lactiplantibacillus. plantarum* MTD-1、*L. plantarum* A1 和 *L. plantarum* 24-7 可抑制苜蓿青贮丁酸发酵^[10-11]。也有研究发现,某些情况下使用乳酸菌剂并不能提高苜蓿青贮品质。当苜蓿原料水分含量为 67.85% 时,接种先牧 1152 乳酸菌剂促进了青贮丁酸发酵^[12]。针对乳酸菌剂使用效果不一致的科学问题,以苜蓿青贮中关键梭菌为靶标定向筛选抑菌乳酸菌可为高效乳酸菌剂研发提供新思路^[11]。李荣荣等^[13]报道,一株对产气荚膜梭菌和酪丁酸梭菌均具有抑菌活性的 *L. plantarum* LP31 可显著抑制苜蓿青贮丁酸发酵。

然而,目前关于苜蓿青贮中梭菌菌群多样性及以关键梭菌为靶标筛选高效抑菌乳酸菌的研究报

道较少。因此,本研究通过在高水分苜蓿青贮中添加蔗糖和乳酸菌剂探讨其对青贮品质、优势梭菌和乳酸菌菌群多样性的影响,旨在为高水分苜蓿青贮用乳酸菌剂筛选提供指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

紫花苜蓿品种为‘三得利’(Sanditi),种植于北京市农林科学院国家精准农业示范基地(北京市昌平区小汤山镇,40°13′00″N,116°13′00″E)。于第2茬初花期刈割,留茬高度10 cm。蔗糖为分析纯试剂,购自国药集团化学试剂有限公司。乳酸菌剂购自某生物科技公司,主要成分为 *L. plantarum* 和 *L. buchneri*,活菌数 $\geq 5.0 \times 10^9$ cfu·g⁻¹。

1.2 试验设计

刈割的苜蓿被迅速带回实验室,使用铡纸刀切短至1~2 cm,分为对照组、乳酸菌组和蔗糖组,每组3个重复。对照组添加20 mL·kg⁻¹ FM (Fresh matter, 鲜重)灭菌去离子水,乳酸菌组接种10⁶ cfu·g⁻¹ FM的乳酸菌剂,蔗糖组添加20 g·kg⁻¹ FM的蔗糖,乳酸菌剂和蔗糖溶于等量灭菌去离子水后喷洒于苜蓿原料表面并混匀,装入聚乙烯包装袋(JH9007型,20 cm×30 cm,北京兴隆悦达科技有限公司)中,每袋约500 g,迅速用真空包装机(奥德居AS-6S型,东莞市青叶包装机械有限公司)抽真空、封口,室温(25℃~32℃)条件下避光贮藏56 d。

1.3 测定指标及方法

青贮样品开封后充分混匀,取10 g样品装入灭菌的聚乙烯袋,于超净工作台内加入90 mL灭菌去离子水,用无菌均质器处理1 min,得到青贮浸提液。一部分浸提液用于微生物计数,一部分浸提液通过4层纱布及定性滤纸过滤后,用于pH值、氨态氮

($\text{NH}_3\text{-N}$)及有机酸含量的测定。乳酸菌(Lactic acid bacteria, LAB)采用MRS培养基(Difco, 美国)置于厌氧培养箱中(37°C),培养48 h后计数。好氧细菌采用NA培养基(Nissui, 日本),肠细菌采用BLB培养基(Nissui, 日本),酵母菌采用PDA培养基(Nissui, 日本),置于 30°C 恒温培养箱中,培养48 h后计数。浸提液于 80°C 水浴10 min后,采用亚硫酸铁琼脂培养基(奥博星, 中国)利用亨盖特厌氧滚管技术进行梭菌计数^[4]。

pH值采用pH计(奥豪斯, ST3100, 中国)测定。有机酸采用高效液相色谱仪(岛津, LC-20A, 日本)测定^[14], 色谱条件为色谱柱:Shodex Rspak KC-811 S-DVB gel Column 300 mm $\times$ 8 mm;检测器:SPD-M10AVP;流动相:3 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ 高氯酸;流速:1 mL $\cdot\text{min}^{-1}$;进样量:5 μL ;柱温: 50°C ;检测波长:210 nm。 $\text{NH}_3\text{-N}$ 采用苯酚-次氯酸钠比色法测定^[15]。

称取苜蓿原料或青贮样品置于 65°C 鼓风干燥箱(一恒, DHG-9245A, 上海)烘干48 h,测定干物质(Dry matter, DM)含量。烘干样品粉碎后过1 mm筛用于化学成分测定。粗蛋白质(Crude protein, CP)采用凯氏定氮法测定^[16],WSC采用蒽酮-硫酸比色法测定^[17],中性洗涤纤维(Neutral detergent fiber, NDF)和酸性洗涤纤维(Acid detergent fiber, ADF)利用全自动纤维分析仪(ANKOM 2000, 美国)采用Van Soest方法测定^[18]。

基于第三代Pacific Biosciences(PacBio)单分子实时测序技术(SMRT)对青贮细菌多样性进行分析^[19]。利用FastDNATM SPIN Kit for Soil试剂盒(MP Biomedicals, 美国)提取细菌基因组DNA,通过1%琼脂糖凝胶电泳分析DNA的纯度和完整性。使用引物27F(5'-AGRGTTYGATYMTGGCT-CAG-3')和1492R(5'-RGYTACCTTGTTAC-GACTT-3')对16S rRNA基因全长进行PCR扩增。将同一样本的PCR产物混合后使用2%琼脂糖凝胶回收PCR产物,利用AxyPrep DNA Gel Extraction Kit试剂盒(Axygen Biosciences, 美国)进行回收产物纯化,2%琼脂糖凝胶电泳检测,并用QuantusTM Fluorometer(Promega, 美国)对回收产物进行检测、定量。使用SMRTbell[®] Express Template Prep Kit 2.0试剂盒(Pacific Biosciences, 美国)进行建库,并通过Pacbio Sequel II System(Pacific Biosciences, 美国)进行测序。原始下机数据进行校

正得到CCS(Circular Consensus Sequencing)序列,使用Lima软件(v1.7.0),通过barcode序列对样本的CCS进行识别并去除嵌合体,得到高质量的CCS序列。使用Usearch软件(v10.0)根据97%的相似度对序列进行OTU聚类,并利用RDP classifier(v2.2)对每条序列与Silva数据库(v.138)进行比对,设置比对阈值为70%,得到物种分类注释结果。使用QIIME软件(v1.9.1)对细菌菌群Alpha多样性指数进行评估,并基于OTU水平进行主坐标分析(PCoA)。使用QIIME软件通过Spearman相关性进行优势梭菌与乳酸菌以及细菌群落与青贮品质之间关联分析,并利用R(v3.6.3)绘制相关性网络图及相关性热图。

1.4 数据统计与分析

试验数据采用SPSS 21.0软件(IBM, 美国)进行单因素方差分析,结果以“平均值 $\pm$ 标准差”表示,根据Tukey检验对均值进行多重比较,差异显著性水平设置为 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 苜蓿的原料特性

由表1可知,新鲜苜蓿原料的水分含量高达804.37 g $\cdot\text{kg}^{-1}$ FM, WSC含量低至25.60 g $\cdot\text{kg}^{-1}$ DM。肠细菌和好氧细菌是苜蓿原料上附着的主要微生物,其含量分别为 7.76×10^6 cfu $\cdot\text{g}^{-1}$ FM和 6.61×10^6 cfu $\cdot\text{g}^{-1}$ FM;LAB和梭菌含量较低,分别为 2.95×10^4 cfu $\cdot\text{g}^{-1}$ FM和39.8 cfu $\cdot\text{g}^{-1}$ FM。

表1 苜蓿的原料特性

Table 1 Characteristics of fresh alfalfa

项目 Item		苜蓿 Alfalfa
干物质		195.63 $\pm$ 1.97
Dry matter/(g $\cdot\text{kg}^{-1}$ FM)		
化学成分 Chemical compositions/ (g $\cdot\text{kg}^{-1}$ DM)	粗蛋白质 Crude protein	212.63 $\pm$ 1.25
	可溶性碳水化合物	25.60 $\pm$ 0.53
	Water soluble carbohydrates	
	中性洗涤纤维	435.90 $\pm$ 9.04
	Neutral detergent fiber	
微生物数量 Microbial counts/ (lg cfu $\cdot\text{g}^{-1}$ FM)	酸性洗涤纤维	330.17 $\pm$ 6.48
	Acid detergent fiber	
	乳酸菌 Lactic acid bacteria	4.47 $\pm$ 0.27
	梭菌 Clostridia	1.60 $\pm$ 0.30
	肠细菌 Enterobacteria	6.89 $\pm$ 0.22
好氧细菌 Aerobic bacteria		6.82 $\pm$ 0.15
酵母 Yeast		3.55 $\pm$ 0.10

2.2 添加蔗糖和乳酸菌剂对苜蓿青贮发酵品质的影响

如表 2 所示,蔗糖组苜蓿青贮的 pH 值降至 4.38,显著低于对照组和乳酸菌组($P<0.05$)。与对照组相比,乳酸菌组显著提高苜蓿青贮的乙酸(Acetic acid, AA)含量($P<0.05$),显著降低丁酸

(Butyric acid, BA)和 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量($P<0.05$),但其含量仍分别高达 $5.25\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $103.31\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ TN。与对照组和乳酸菌组相比,蔗糖组显著提高苜蓿青贮的乳酸(Lactic acid, LA)含量($P<0.05$),显著降低丙酸(Propionic acid, PA)和 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量($P<0.05$),且未检测到 BA。

表 2 添加蔗糖和乳酸菌剂对苜蓿青贮发酵品质的影响

Table 2 Effects of Ssucrose and LAB inoculant addition on the fermentation quality of alfalfa silage

项目 Item	对照组 Control	乳酸菌组 LAB group	蔗糖组 Sucrose group	P 值 P value
pH	6.09±0.06 ^a	6.00±0.03 ^a	4.38±0.09 ^b	<0.001
乳酸 Lactic acid/(g·kg ⁻¹ DM)	47.83±3.67 ^b	44.59±0.94 ^b	145.05±2.03 ^a	<0.001
乙酸 Acetic acid/(g·kg ⁻¹ DM)	77.05±5.49 ^b	87.23±3.10 ^a	69.42±3.82 ^b	0.006
丙酸 Propionic acid/(g·kg ⁻¹ DM)	4.25±0.50 ^a	4.07±1.35 ^a	0.43±0.42 ^b	0.003
丁酸 Butyric acid/(g·kg ⁻¹ DM)	6.37±0.36 ^a	5.25±0.20 ^b	0.00 ^c	<0.001
氨态氮 Ammonia nitrogen/(g·kg ⁻¹ TN)	128.40±5.02 ^a	103.31±2.16 ^b	76.19±2.61 ^c	<0.001

注:同行相同字母或无字母表示差异不显著($P>0.05$),不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同

Note: Data in the same row marked with the same letter or no letter indicate no significant difference ($P>0.05$), while different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$). The same as below

2.3 添加蔗糖和乳酸菌剂对苜蓿青贮营养成分的影响

如表 3 所示,与对照组相比,乳酸菌组显著提高

苜蓿青贮的 CP 含量($P<0.05$)。与对照组和乳酸菌组相比,蔗糖组显著提高 DM、CP 和 WSC 含量($P<0.05$),显著降低 NDF 和 ADF 含量($P<0.05$)。

表 3 添加蔗糖和乳酸菌剂对苜蓿青贮营养成分的影响

Table 3 Effects of sucrose and LAB inoculant addition on nutritional components of Alfalfa Silage

项目 Item	对照组 Control	乳酸菌组 LAB group	蔗糖组 Sucrose group	P 值 P value
干物质 DM/(g·kg ⁻¹ FM)	172.18±6.77 ^b	171.30±4.73 ^b	197.26±0.40 ^a	0.001
粗蛋白 Crude protein/(g·kg ⁻¹ DM)	151.17±1.82 ^c	167.13±8.17 ^b	228.33±7.79 ^a	<0.001
可溶性碳水化合物 Water soluble carbohydrates/(g·kg ⁻¹ DM)	5.27±0.64 ^b	5.37±0.81 ^b	8.83±0.83 ^a	0.002
中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber/(g·kg ⁻¹ DM)	446.33±7.11 ^a	436.77±21.72 ^a	340.77±22.90 ^b	0.001
酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber/(g·kg ⁻¹ DM)	393.23±14.49 ^a	366.63±16.05 ^a	283.40±18.54 ^b	<0.001

2.4 添加蔗糖和乳酸菌剂对苜蓿青贮微生物数量的影响

如表 4 所示,与对照组相比,乳酸菌组显著促进苜蓿青贮中 LAB 增殖($P<0.05$),显著抑制梭

菌、肠细菌、好氧细菌和酵母增殖($P<0.05$)。蔗糖组苜蓿青贮中未检测到梭菌和肠细菌,LAB、好氧细菌和酵母数量显著低于对照组和乳酸菌组($P<0.05$)。

表 4 添加蔗糖和乳酸菌剂对苜蓿青贮微生物数量的影响

Table 4 Effects of sucrose and LAB inoculant addition on microbial counts of alfalfa silage

项目 Item	对照组 Control	乳酸菌组 LAB group	蔗糖组 Sucrose group	P 值 P value
乳酸菌 LAB/(lg cfu·g ⁻¹ FM)	4.06±0.03 ^b	6.19±0.03 ^a	3.42±0.07 ^c	<0.001
梭菌 Clostridia/(lg cfu·g ⁻¹ FM)	4.28±0.02 ^a	4.16±0.03 ^b	ND ^c	<0.001
肠细菌 Enterobacteria/(lg cfu·g ⁻¹ FM)	3.22±0.05 ^a	ND ^b	ND ^b	<0.001
好氧细菌 Aerobic bacteria/(lg cfu·g ⁻¹ FM)	4.07±0.01 ^a	2.60±0.30 ^c	3.52±0.04 ^b	<0.001
酵母 Yeast/(lg cfu·g ⁻¹ FM)	5.09±0.10 ^b	5.38±0.08 ^a	3.91±0.02 ^c	<0.001

注:ND 表示未检出

Note: ND indicates not detected

2.5 添加蔗糖和乳酸菌剂对苜蓿青贮细菌菌群多样性的影响

Chao1 指数用来衡量菌群的丰富度,蔗糖组细菌菌

群丰富度显著低于对照组和乳酸菌组($P<0.05$);Shannon 指数用来衡量菌群的多样性,乳酸菌组和蔗糖组细菌菌群多样性均低于对照组,但组间差异不显著(图 1)。

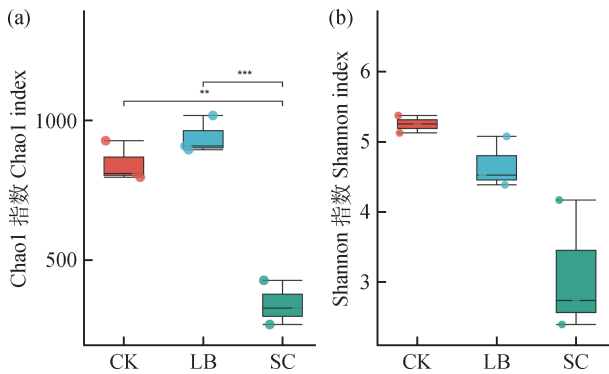


图1 苜蓿青贮细菌菌群的Chao1(a)指数和Shannon指数(b)分析

Fig. 1 Analysis of the Chao1 (a) and Shannon (b) indices of the bacterial community in alfalfa silage

注:CK,对照组;LB,乳酸菌组;SC,蔗糖组

Note:CK, control group; LB, LAB group; SC, sucrose group

通过PCoA分析计算得到不同处理组苜蓿青贮细菌菌群之间的关系概况(图2)。PCoA分析结果主要反映了微生物群落之间组成结构的相似性,即除展示物种种类的相似程度外,还反映出微生物比例的相似性。结果表明,3个处理组细菌菌群聚集为3个区,其中蔗糖组与对照组和乳酸菌组距离较远。

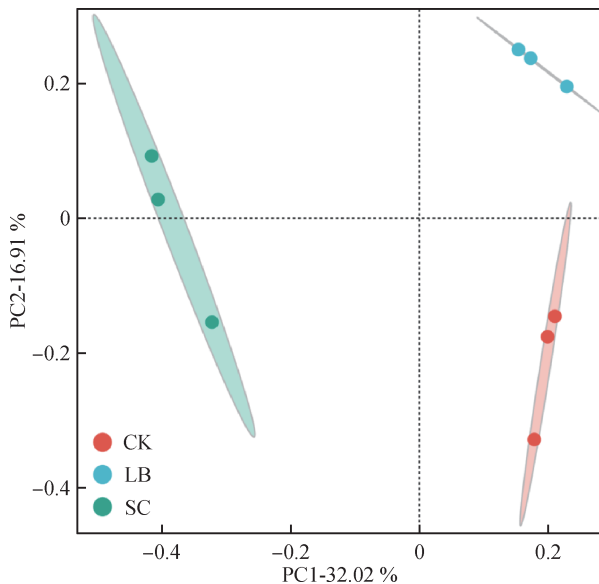


图2 苜蓿青贮细菌菌群的PCoA分析

Fig. 2 Principal coordinate analysis (PCoA) of the bacterial community in alfalfa silage

苜蓿青贮细菌菌群在属和种水平上的结构如图3所示。属水平上,对照组优势菌依次为双歧杆菌属(*Bifidobacterium*) (14.21%)、魏斯氏菌属(*Weissella*) (11.73%)和杆状厌氧菌属(*Rhabdanaerobium*) (11.00%),乳杆菌属(*Lactobacillus*)、乳植物

杆菌属(*Lactiplantibacillus*)和迟缓乳杆菌属(*Lentilactobacillus*)的相对丰度分别为6.25%、2.38%和0.02%。与对照组相比,乳酸菌组提高*Bifidobacterium*、*Lactobacillus*、*Lactiplantibacillus*、*Lentilactobacillus*和梭状芽胞杆菌属(*Clostridium sensu stricto* 12)的相对丰度、降低*Weissella*的相对丰度,其中*Bifidobacterium* (19.76%)为优势菌。与对照组相比,蔗糖组提高*Lentilactobacillus*和*Lactobacillus*等有益菌的相对丰度,降低*Clostridium sensu stricto* 12、*Bifidobacterium*、*Rhabdanaerobium*、沉积杆菌属(*Sedimentibacter*)、厌氧芽胞杆菌属(*Anaerosporeobacter*)和嗜温微菌属(*Tepidimicrobium*)等不良菌的相对丰度,*Lentilactobacillus*和*Lactobacillus*的相对丰度分别为67.98%和27.51%,占据绝对优势。

种水平上,对照组苜蓿青贮中的优势菌为梭菌,包括*Garciella* sp. GK3 (10.95%)、*Clostridium* sp. BTY5 (10.27%)、*Clostridiales bacterium* mt11 (6.07%)、*Clostridium luticellarii* (3.52%)和*Clostridium cochlearium* (0.77%)等。与对照组相比,乳酸菌组提高了*Clostridium* sp. BTY5 (10.83%)和*Clostridium luticellarii* (8.13%)等梭菌以及戊糖乳植物杆菌(*Lactiplantibacillus pentosus*) (10.33%)、*Lactobacillus helsingborgensis* (7.74%)和*L. buchneri* (6.65%)等乳酸菌的相对丰度,降低了*Garciella* sp. GK3 (4.92%)和*Clostridiales bacterium* mt11 (3.26%)等梭菌的相对丰度。与对照组相比,蔗糖组提高了*L. buchneri* (67.96%)、*L. kullabergensis* (10.39%)、*L. helsingborgensis* (9.14%)和*L. kimbladaii* (4.56%)等乳酸菌的相对丰度,*Clostridium luticellarii*和*Garciella* sp. GK3等梭菌的相对丰度均低于0.01%。

为了更好地揭示优势梭菌与乳酸菌及其与发酵品质之间的网络关系,进行了相关性网络分析。优势梭菌与乳酸菌相关性网络图显示(图4a),*L. buchneri*和*L. melliventris*均与*Clostridium* sp. BTY5、*Garciella* sp. GK3和*Clostridiales bacterium* mt11呈显著负相关($P < 0.05$)。相关性热图分析结果显示(图4b),*Clostridium* sp. BTY5、*Garciella* sp. GK3和*Clostridiales bacterium* mt11与BA含量、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量及梭菌数量成显著正相关($P < 0.05$),而*L. buchneri*和*L. melliventris*与pH、BA含量、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量及梭菌数量呈显著负相关($P < 0.05$)。

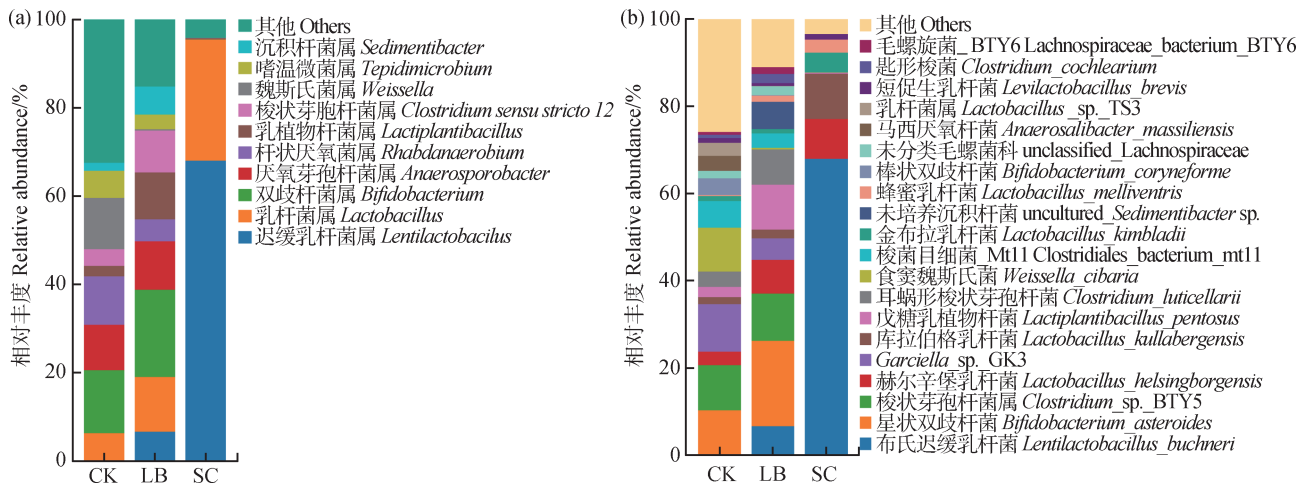


图3 苜蓿青贮中属(a)和种(b)水平上细菌菌群结构

Fig. 3 Bacterial community structure of alfalfa silage at the genus (a) and species (b) levels

3 讨论

3.1 苜蓿原料特性对青贮发酵的影响

充足的LAB数量($>10^5$ cfu·g⁻¹ FM)及WSC含量(>50 g·kg⁻¹ DM)是促进乳酸发酵,快速形成能有效抑制梭菌等有害微生物活动的厌氧-酸性环境,从而提高青贮品质的关键原料特性^[20]。本研究中,对照组苜蓿青贮发生严重的丁酸发酵,这是由于新鲜苜蓿原料附着的LAB数量少且WSC含量不足的原因。

3.2 添加蔗糖和乳酸菌剂对苜蓿青贮品质的影响

作为常用青贮发酵促进剂,LAB在促进青贮初期尽快进入乳酸发酵阶段、降低青贮营养损失等方面发挥着重要作用。本研究中,接种商业乳酸菌剂并没有抑制高水分苜蓿青贮丁酸发酵,表现为乳酸菌组BA和NH₃-N含量仍然分别超过5 g·kg⁻¹ DM和100 g·kg⁻¹ TN。这可能是所使用的LAB对原料的适应性较差,研究发现来源于青贮原料本身的LAB更有利于促进乳酸发酵^[21]。

添加蔗糖可弥补苜蓿原料中WSC含量低的不足,这一方面是由于蔗糖直接提供WSC,一方面是由于添加蔗糖改变了青贮微生物菌群结构可能促进了产纤维素酶的功能型乳酸菌增殖,降解苜蓿纤维素产生WSC。充足的WSC促进了青贮发酵初期乳酸菌的快速增殖,抑制梭菌等不良微生物活性,进一步巩固乳酸积累,提高青贮品质。与对照组和乳酸菌组相比,蔗糖组青贮pH迅速下降,显著抑制梭菌等腐败微生物的生长,改善了青贮发酵品质与营养成分,表现为显著降低了BA和NH₃-N含量并显著提高了DM、CP和WSC含量,这与前人研究结果一致^[22-24]。

Zheng等^[25-26]研究证实,WSC不足是引起高水分苜蓿青贮丁酸发酵的最关键原因,WSC充足时即使受到梭菌污染仍然可以保证优良青贮发酵。

3.3 添加蔗糖和乳酸菌剂对苜蓿青贮中优势梭菌和乳酸菌菌群的影响

促进乳酸发酵是青贮成功的关键,而梭菌、好氧细菌、肠细菌和酵母等有害微生物在青贮过程中与LAB竞争利用发酵底物,分解糖、有机酸或蛋白质,产生生物胺、霉菌毒素等有害物质,造成青贮营养物质损失甚至威胁家畜和人类健康。本研究中,尽管添加商业乳酸菌剂显著提高了青贮中LAB数量但并没有成功抑制丁酸发酵,梭菌含量仍高达 10^4 cfu·g⁻¹ FM以上,存在严重的卫生风险。值得注意的是,蔗糖组乳酸菌数量虽然显著低于对照组,但梭菌数量低于检测限,完全抑制了青贮丁酸发酵。这就说明影响青贮发酵品质的不只是乳酸菌的数量,而更重要的是适应相应条件的优良菌种。因此,有必要对青贮中的乳酸菌和梭菌菌群在属和种水平上进行更细致的分析。

乳酸发酵过程中产生的有机酸及乳酸链球菌素等抑菌物质对有害微生物的抑制作用,优质青贮中微生物菌群丰度和多样性通常低于不良青贮。与前人研究结果一致^[10,27-28],本研究中蔗糖组细菌菌群Chao1指数和Shannon指数均低于对照组和乳酸菌组。青贮发酵是由微生物驱动的复杂生物化学变化过程,不同发酵类型的青贮微生物菌群结构存在明显差异。本研究中,PCoA分析结果也证实3个处理组苜蓿青贮细菌菌群结构差异明显,尤其是蔗糖组显著改变了菌群结构。

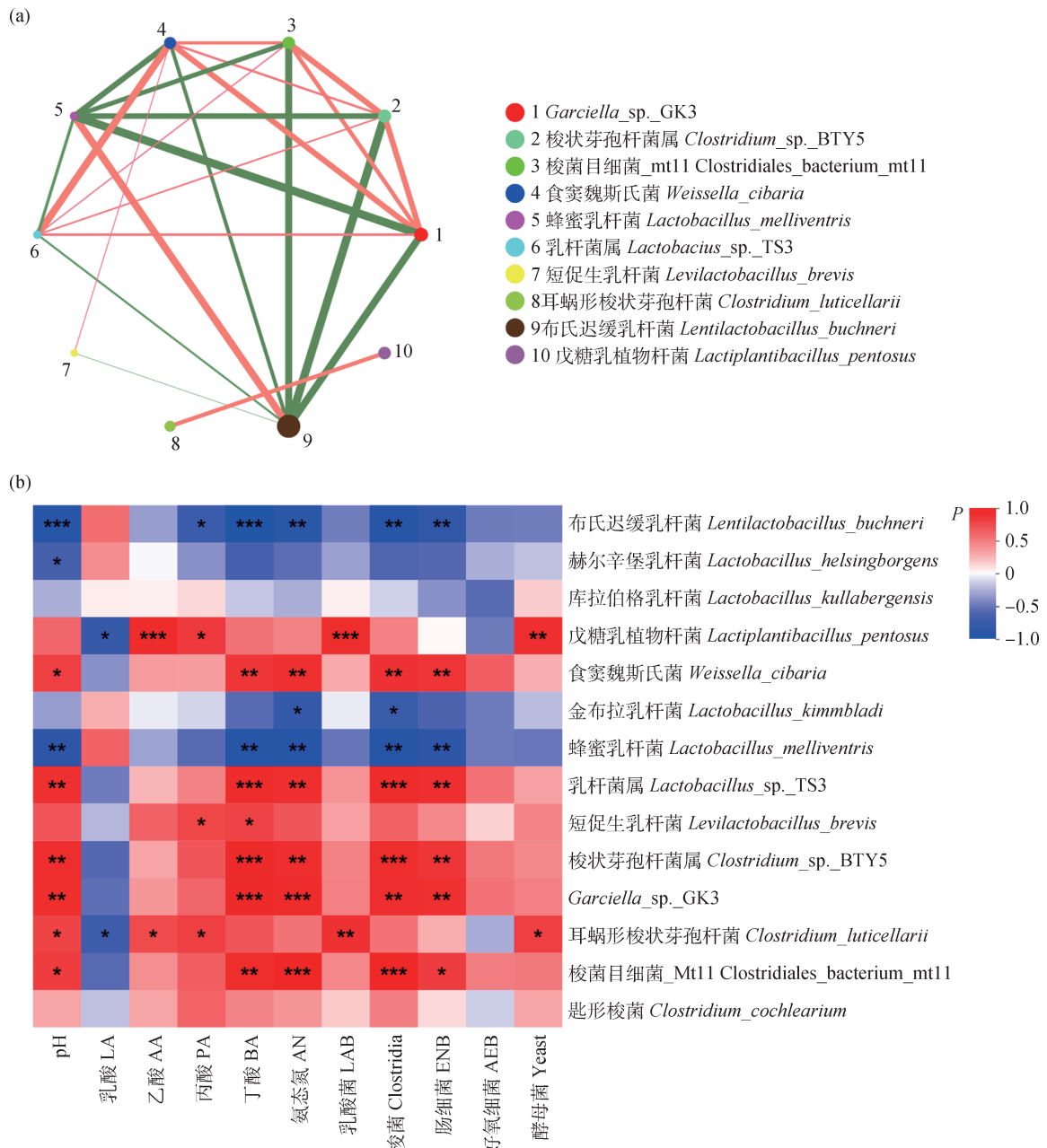


图 4 优势梭菌与乳酸菌相关性网络图(a)及其与发酵品质的相关性热图(b)

Fig. 4 Interaction networks of the dominant Clostridia and LAB species (a) and Spearman correlation heatmap of the dominant Clostridia and LAB species and fermentation parameters (b)

注:不同颜色连线表示相关性,红色表示正相关,绿色表示负相关;节点的大小与所有样本中物种的丰度成正比;*,**和***分别表示 $0.01 < P < 0.05$, $0.001 < P < 0.01$ 和 $P < 0.001$

Note: Different colored lines indicate correlations, with red lines indicating positive correlations and green lines indicating negative correlations. The size of the nodes is proportional to the abundance of the species in all samples. *, ** and *** indicate $0.01 < P < 0.05$, $0.001 < P < 0.01$, and $P < 0.001$, respectively

与前人研究结果一致,对照组苜蓿青贮细菌菌群以 *Bifidobacterium*、*Anaerosporeobacter*、*Rhabdan-aerobium* 等不良微生物以及 *Weissella* 等异型发酵乳酸菌为主,这主要是由于当青贮原料自身的含水量达到或者超过 70% 时,便会为大量有害微生物提供一个良好的生存环境^[29]。与对照组相比,乳酸菌

组提高了 *Lentilactobacillus* 和 *Lactiplantibacillus* 的相对丰度,但其细菌菌群中的优势菌仍为 *Bifido-bacterium*、*Anaerosporeobacter*、*Clostridium sensu stricto* 12 等不良微生物,说明本研究使用的乳酸菌剂中的 *L. plantarum* 和 *L. buchneri* 不能抑制青贮不良微生物,这与王昊然等^[30]研究结果相似。*Len-*

tilactobacillus 和 *Lactobacillus* 为促进蔗糖组乳酸发酵、提高青贮品质的关键乳酸菌。截至2020年3月, *Lactobacillus* 已涵盖261个种, 在表型、生态和基因型水平上极为多样化, 远超其他菌属多样性水平^[31]。因此, 本研究对苜蓿青贮中的优势梭菌和乳酸菌在种水平上的分布及相互作用进行了进一步分析。

Clostridium sp. BTY5、*Garciella* sp. GK3、*Clostridium luticellarii*、*Clostridiales bacterium mt11*、*Clostridium cochlearium* 被鉴定为高水分苜蓿青贮中的优势梭菌。其中, *Clostridium* sp. BTY5、*Garciella* sp. GK3 和 *Clostridiales bacterium mt11* 与 BA 产量、NH₃-N 产量及梭菌数量成显著正相关, 被认为是引起丁酸发酵的关键梭菌。Fan 等^[32] 和 Zhang 等^[33] 报道, *Garciella* 是不良苜蓿青贮中的优势菌属之一。目前青贮中检测到的 *Garciella* 还没有在种水平上进行鉴定, 根据 NCBI 数据库的检索结果, 该属的唯一鉴定种为 *Garciella nitrarireducens*, 该菌种对 LA 的利用能力和硝酸盐还原能力可能有助于解释 *Garciella* 在刺激梭菌活性中的作用^[34]。*Clostridiales bacterium mt11* 分离自患有严重营养不良疾病的儿童粪便^[35]。Zheng 等^[36] 报道, *Clostridium* sp. BTY5 是引起高水分苜蓿青贮丁酸发酵的优势梭菌之一。本研究中, 引起丁酸发酵的3种梭菌均未鉴定到种水平, 严重制约了丁酸发酵过程的微生物机制解析。这一方面是检测技术的限制, 另一方面是青贮原料、调制工艺和贮藏条件等因素差异导致不同青贮中可能存在新的未被鉴定的菌种。

L. buchneri、*L. helsingborgensis*、*L. kullabergensis*、*Lactiplantibacillus pentosus*、*Weissella cibaria*、*L. kimbladii*、*L. melliventris*、*Lactobacillus* sp. TS3 和 *Levilactobacillus brevis* 被鉴定为高水分苜蓿青贮中的优势乳酸菌。其中, 仅 *L. buchneri* 和 *L. melliventris* 对引起丁酸发酵的关键梭菌具有显著抑制作用。*L. buchneri* 是青贮中常用的一种异型发酵乳酸菌添加剂, 其产生的 AA 具有更强的抗真菌活性, 可防止青贮后期因好氧暴露导致的发霉或变质。近年来, 也有报道接种 *L. buchneri* 用于提高苜蓿、燕麦、羊草和饲用油菜青贮的发酵品质, 表现为接种 *L. buchneri* 显著降低了青贮的 pH 值、BA 与 NH₃-N 含量, 提高了 LA 的含量^[37-40]。本研究中, *L. buchneri* 与高水分苜蓿青贮 pH、BA 含量、NH₃-N 含量及梭菌数量显著负相关, 证实 *L. buchneri* 可

用于抑制丁酸发酵提高青贮品质。赵佳婕等^[41] 基于 Meta 分析探讨了 *L. buchneri* 对青贮品质的影响机制, 结果表明: *L. buchneri* 在发酵过程中, 能够更有效地转化和利用原料中的 WSC, 进而促进 LA 和 AA 等有机酸的生成, 降低青贮的 pH 值; *L. buchneri* 可能通过产生细菌素或类细菌素等抗菌物质, 抑制梭菌等参与青贮过程中 BA 和氨产生的有害微生物生长。*L. melliventris* 是一种从蜜蜂蜜胃中分离的同型发酵乳酸菌, 能够利用多种糖类(如葡萄糖、果糖、甘露糖等), 并能显著抑制 *Paenibacillus larvae* 等肠道病原菌, 其抑菌作用可能通过有机酸、细菌素及活性蛋白实现^[42]。本研究首次在青贮中报道了 *L. melliventris* 的存在, 该菌抑制苜蓿青贮丁酸发酵的机理可能与其广泛的底物利用能力和显著的抑菌活性密切相关。

4 结论

对照组和乳酸菌组高水分苜蓿青贮均发生了严重的丁酸发酵, 造成青贮失败; 蔗糖组则显著抑制了丁酸发酵, 提高了青贮品质。*Clostridium* sp. BTY5、*Garciella* sp. GK3 和 *Clostridiales bacterium mt11* 与 BA、NH₃-N 及梭菌数量呈显著正相关, 是引起青贮丁酸发酵的关键梭菌。*L. buchneri* 和 *L. melliventris* 对3种关键梭菌具有显著抑制作用, 并且与 pH、BA、NH₃-N 及梭菌数量呈显著负相关, 有潜力成为抑制苜蓿青贮丁酸发酵的高效乳酸菌剂。

参考文献

- [1] 杨富裕. 树立“饲草就是粮食”理念, 大力发展饲草产业[J]. 草地学报, 2023, 31(2): 311-313
YANG F Y. New concept “forage is a part of grains” to utmost spurring the development of forage industry [J]. Agrestia Sinica, 2023, 31(2): 311-313
- [2] 卢欣石. 苜蓿饲草产业发展的质与量问题[J]. 中国乳业, 2021(8): 9-12
LU X S. The quality and quantity issues of alfalfa products development[J]. China Dairy, 2021(8): 9-12
- [3] 杨苗苗, 陶莲. 如何制作高品质青贮饲料[J]. 中国乳业, 2012(6): 26-32
YANG Z M, TAO L. How to Produce high-quality silage[J]. China Dairy, 2012(6): 26-32
- [4] ZHENG M L, NIU D Z, ZUO S S, et al. The effect of cultivar, wilting and storage period on fermentation and the clostridial community of alfalfa silage[J]. Italian Journal of Animal Science, 2018, 17(2): 336-346

- [5] SAARISALO E, JALAVA T, SKYTTE E, et al. Effect of lactic acid bacteria inoculants, formic acid, potassium sorbate and sodium benzoate on fermentation quality and aerobic stability of wilted grass silage[J]. *Agricultural and Food Science*, 2006, 15(3):185-199
- [6] 黑梦琴,曹正宇,王志远,等. 添加复合乳酸菌和糖蜜对不同水分含量苜蓿青贮品质的影响[J]. *草地学报*, 2024, 32(5): 1601-1609
- HEI M Q, CAO Z Y, WANG Z Y, et al. Effects of adding compound lactobacillus and molasses on the quality of alfalfa silage with different moisture contents [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2024, 32(5):1601-1609
- [7] 蔡义民,熊井清雄,廖芷,等. 乳酸菌剂对青贮饲料发酵品质的改善效果[J]. *中国农业科学*, 1995(2):73-82
- CAI Y M, Kumai S, LIAO Z, et al. Effect of lactic acid bacteria inoculants on fermentative quality of silage[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 1995(2):73-82
- [8] CARVALHO B F, SALES G F C, SCHWAN R F, et al. Criteria for lactic acid bacteria screening to enhance silage quality [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2021, 130(2):341-355
- [9] 董文卓,赵帅,张璐青,等. 一种新型复合乳酸菌剂对苜蓿青贮品质及细菌群落的影响[J]. *中国草地学报*, 2023, 45(10): 78-86
- DONG W Z, ZHAO S, ZHANG L Q, et al. Effects of the addition of a novel compound lactic acid bacteria on alfalfa silage quality and bacterial community composition[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2023, 45(10):78-86
- [10] BAI J, XU D X, XIE D M, et al. Effects of antibacterial peptide-producing *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus buchneri* on fermentation, aerobic stability, and microbial community of alfalfa silage[J]. *Bioresource technology*, 2020, 315:123881
- [11] Li F H, Ding Z T, Chen X Z, et al. The effects of *Lactobacillus plantarum* with feruloyl esterase-producing ability or high antioxidant activity on the fermentation, chemical composition, and antioxidant status of alfalfa silage[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2021, 273:114835
- [12] 高润,侯建建,吴哲,等. 水分和乳酸菌添加剂对裹包苜蓿青贮品质的影响[J]. *草学*, 2018(S1):74-76
- GAO R, HOU J J, WU Z, et al. Effects of different water and lactic acid bacteria on the quality of wrapped alfalfa silage[J]. *Journal of Grassland and Forage Science*, 2018(S1):74-76
- [13] 李荣荣,郑猛虎,崔欣雨,等. 优良乳酸菌的筛选及对苜蓿青贮发酵品质的影响[J]. *中国草地学报*, 2021, 43(11):69-75,104
- LI R R, ZHENG M H, CUI X Y, et al. Screening of lactic acid bacteria and its effect on fermentation characteristics of alfalfa silage [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2021, 43(11):69-75,104
- [14] 许庆方,玉柱,韩建国,等. 高效液相色谱法测定紫花苜蓿青贮中的有机酸[J]. *草原与草坪*, 2007(2):63-65,67
- XU Q F, YU Z, HAN J G, et al. Determining organic acid in alfalfa silage by hplc[J]. *Grassland and Turf*, 2007(2):63-65,67
- [15] BRODERICK G A, KANG J H. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media[J]. *Journal of Dairy Science*, 1980, 63(1):64-75
- [16] 石红伟. 凯氏定氮法检测食物中蛋白质含量与误差分析[J]. *食品安全导刊*, 2016(11X):1
- SHI H W. Determination of protein content in foods using the kjeldahl method and associated error analysis[J]. *China Food Safety Magazine*, 2016(11X):1
- [17] 张述伟,宗营杰,方春燕,等. 蒽酮比色法快速测定大麦叶片中可溶性糖含量的优化[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(7):196-200
- ZHANG S W, ZONG Y J, FANG C Y, et al. Optimization of anthrone colorimetric method for rapid determination of soluble sugar in barley leaves[J]. *Food Research and Development*, 2020, 41(7):196-200
- [18] VAN SOEST P J, ROBERTSON J B, LEWIS B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition[J]. *Journal of Dairy Science*, 1991, 74(10):3583-3597
- [19] 李荣荣,胡明,吴逸群,等. 基于宏基因组的苜蓿青贮中梭菌菌群结构和功能分析[J]. *中国草地学报*, 2023, 45(4):115-120
- LI R R, HU M, WU Y Q, et al. Metagenomic structure and function analysis of clostridial community in alfalfa silage[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2023, 45(4):115-120
- [20] ZHENG M L, MAO P C, TIAN X X, et al. Effects of exogenous lactic acid bacteria and maize meal on fermentation quality and microbial community of *Orychophragmus violaceus* silage[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14:1276493
- [21] Guo X S, Xu D M, Li F H, et al. Current approaches on the roles of lactic acid bacteria in crop silage[J]. *Microbial biotechnology*, 2023, 16(1):67-87
- [22] AGARUSSI M C N, PEREIRA O G, SILVA V P D, et al. Fermentative profile and lactic acid bacterial dynamics in non-wilted and wilted alfalfa silage in tropical conditions[J]. *Molecular biology reports*, 2019, 46(1):451-460
- [23] 张丽媛. 添加乳酸菌和糖蜜对苜蓿青贮的营养成分、发酵品质和细菌菌群的影响[D]. 通辽:内蒙古民族大学, 2022:14-22
- ZHANG L Y. Effects of lactic acid bacteria and molasses on nutrient composition, fermentation quality and bacterial flora of alfalfa silage [D]. *Tong liao: Inner Mongolia University for Nationalities*, 2022:14-22
- [24] 李荣荣,胡明,魏睿,等. 添加蔗糖对高水分苜蓿青贮中真菌菌群多样性的影响[J]. *中国草地学报*, 2024, 46(1):143-148
- LI R R, HU M, WEI R, et al. Effects of sucrose addition on fungal community diversity in high-moisture alfalfa silage[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2024, 46(1):143-148
- [25] ZHENG M L, NIU D Z, JIANG D, et al. Metagenome analyses reveal the role of *Clostridium perfringens* in alfalfa silage

- anaerobic deterioration[J]. FEMS Microbiology Letters, 2020, 367(8): fmaa052
- [26] JIANG H, WANG H R, BAO B H, et al. Effect of compound additives on nutritional composition, fermentation quality, and bacterial community of high-moisture alfalfa silage[J]. Fermentation, 2023, 9(5): 453
- [27] ZHANG Y, LIU Y, MENG Q, et al. A mixture of potassium sorbate and sodium benzoate improved fermentation quality of whole-plant corn silage by shifting bacterial communities[J]. Journal of applied microbiology, 2020, 128(5): 1312-1323
- [28] LI P, ZHAO W J, YAN L J, et al. Inclusion of abandoned rhubarb stalk enhanced anaerobic fermentation of alfalfa on the Qinghai Tibetan Plateau[J]. Bioresource Technology, 2022, 347: 126347
- [29] 王焱, 郭田心, 陈丹丹, 等. 绿原酸对柱花草青贮品质、蛋白降解和细菌群落及相互关系的影响[J]. 草地学报, 2025, 33(1): 317-326
- WANG Y, GUO T X, CHEN D D, et al. The effects of chlorogenic acid on the quality, protein degradation, bacterial community, and their interrelationships of stylosanthes silage[J]. Acta Agrestia Sinica, 2025, 33(1): 317-326
- [30] 王昊然, 高凤芹, 薛艳林, 等. 不同乳酸菌添加剂对燕麦青贮品质和微生物多样性的影响[J]. 中国草地学报, 2024, 46(11): 82-90
- WANG H R, GAO F Q, XUE Y L, et al. Effects of different lactic acid bacteria additives on the quality and microbial diversity of oat silage[J]. Chinese Journal of Grassland, 2024, 46(11): 82-90
- [31] 于学健, 胡海蓉, 曹艳花, 等. 乳杆菌属分类学地位变迁后菌种名称英解汉译检索表(一)[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(15): 318-324
- YU X J, HU H R, CAO Y H, et al. Key to English-Chinese translation of strain names after taxonomic status change of *Lactobacillus* (一)[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(15): 318-324
- [32] FAN X M, ZHAO S S, YANG F Y, et al. Effects of lactic acid bacterial inoculants on fermentation quality, bacterial community, and mycotoxins of alfalfa silage under vacuum or non-vacuum treatment[J]. Microorganisms, 2021, 9(12): 2614
- [33] ZHANG X Y, ZHAO S S, WANG Y P, et al. The Effect of *Lactiplantibacillus plantarum* ZZU203, Cellulase-Producing *Bacillus methylotrophicus*, and Their Combinations on Alfalfa Silage Quality and Bacterial Community[J]. Fermentation, 2023, 9(3): 287
- [34] MIRANDA-TELLO E, FARDEAU M L, Sepulveda J, et al. *Garciella nitratireducens* gen. nov., sp. nov., an anaerobic, thermophilic, nitrate- and thiosulfate-reducing bacterium isolated from an oilfield separator in the Gulf of Mexico[J]. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2003, 53(5): 1509-1514
- [35] TIDJANI ALOU M, MILLION M, TRAORE S I, et al. Gut bacteria missing in severe acute malnutrition, can we identify potential probiotics by culturomics?[J]. Frontiers in microbiology, 2017, 8: 899
- [36] ZHENG M L, LI Q, MAO P C, et al. Identification and Correlation Analysis of Key Clostridia and LAB Species in Alfalfa Silages Prepared with Different Cultivars and Additives[J]. Agriculture, 2024, 14(11): 1963
- [37] 张家铤. 产 γ -氨基丁酸布氏乳杆菌的筛选及其在饲草青贮中的应用[D]. 兰州: 兰州大学, 2023: 28-32
- ZHANG J Z. Screening of GABA-Producing *lactobacillus buchneri* and its application in ensiled forages[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2023: 28-32
- [38] 陆永祥, 赵嫚, 陈良寅, 等. 布氏乳杆菌和甲酸对青藏高原不同物候期燕麦青贮饲料发酵品质和细菌群落的影响[J]. 草地学报, 2020, 28(6): 1736-1743
- LU Y X, ZHAO M, CHEN L Y, et al. Effects of *lactobacillus brucei* and formic acid addition on fermentation quality and bacterial community of oat silage of different harvest stages in the tibetan plateau[J]. Acta Agrestia Sinica, 2020, 28(6): 1736-1743
- [39] LIU Y C, LI Y Y, LU Q, et al. Effects of lactic acid bacteria additives on the quality, volatile chemicals and microbial community of *leymus chinensis* silage during aerobic exposure[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 938153
- [40] 郑晓凯, 付彦博, 杨寒珺, 等. 饲用油菜中优势乳酸菌的分离鉴定及其对青贮发酵品质和有氧稳定性的影响[J]. 动物营养学报, 2024, 36(8): 5411-5421
- ZHENG X K, FU Y B, YANG H J, et al. Isolation and identification of dominant lactic acid bacteria from brassica napus and their effects on fermentation quality and aerobic stability of silage[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2024, 36(8): 5411-5421
- [41] 赵佳婕, 贾玉山, 王志军, 等. 基于Meta分析的布氏乳杆菌对青贮品质影响进展研究[J]. 草地学报, 2025, 33(3): 665-677
- ZHAO J J, JIA Y S, WANG Z J, et al. Progress study on the effects of *lactobacillus buchneri* on silage quality based on meta-analysis[J]. Acta Agrestia Sinica, 2025, 33(3): 665-677
- [42] OLOFSSON T C, ALSTERFJORD M, NILSON B, et al. *Lactobacillus apinorum* sp. nov., *Lactobacillus mellifer* sp. nov., *Lactobacillus mellis* sp. nov., *Lactobacillus melliventris* sp. nov., *Lactobacillus kimbladii* sp. nov., *Lactobacillus helsingborgensis* sp. nov. and *Lactobacillus kullabergensis* sp. nov., isolated from the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*[J]. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2014, 64(Pt_9): 3109-3119

(责任编辑 彭露茜)