

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.06.031

引用格式:杨远廷,周汉林,彭唯实,等.添加乳酸菌和砂仁茎叶对王草青贮品质及细菌群落的影响[J].草地学报,2026,34(6):2287-2295

YANG Yuan-ting, ZHOU Han-lin, PENG Wei-shi, et al. Effects of Lactic Acid Bacteria and *Amomum villosum* Lour. Stems and Leaves on Fermentation Quality and Bacterial Community in King Grass Silage[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(6):2287-2295

添加乳酸菌和砂仁茎叶对王草青贮品质 及细菌群落的影响

杨远廷¹, 周汉林¹, 彭唯实¹, 刘 虎¹, 吴 群¹, 曾 梦¹, 焦 静², 贺军军²,
王 珂¹, 杜嵇华², 林 伟³, 韩建成^{1*}

(1. 中国热带农业科学院湛江实验站, 广东 湛江 524013; 2. 中国热带农业科学院南亚热带作物研究所, 广东 湛江 524013; 3. 广西壮族自治区药用植物园, 广西南宁 530023)

摘要:为探究乳酸菌和砂仁茎叶对王草(*Pennisetum purpureum*×*P. americanum*)青贮品质、营养成分及细菌群落的影响,本研究以王草为材料,设CK(无添加)、ASL(添加30%砂仁茎叶)、LAB(添加复合乳酸菌, 5×10^6 CFU·g⁻¹鲜重)、ASL-LAB(添加30%砂仁茎叶和复合乳酸菌)四组,每组3个重复,青贮56天后取样分析。结果表明:与CK相比,ASL, LAB和ASL-LAB组中pH值和氨态氮含量显著降低($P < 0.05$),而乳酸显著升高($P < 0.05$);CK组干物质和粗蛋白显著低于其他组($P < 0.05$)。与CK相比,ASL, LAB和ASL-LAB中乳植杆菌属(*Lactiplantibacillus*)相对丰度分别增加了12.17%, 37.58%和57.19%,而未分类肠杆菌科(*Unclassified Enterobacteriaceae*)相对丰度分别减少了3.91%, 28.82%和30.27%。同时,乳植杆菌属相对丰度与肠杆菌属(*Enterobacter*)、未分类肠杆菌科相对丰度及氨态氮含量呈显著负相关($P < 0.05$),而与乳酸和粗蛋白含量显著正相关($P < 0.05$)。综上,单独添加乳酸菌或砂仁茎叶均可改善王草青贮品质并减少营养损失,且组合添加效果最佳。

关键词:砂仁茎叶;乳酸菌发酵剂;王草;青贮;微生物多样性

中图分类号:S816.53

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2026)06-2287-09

Effects of Lactic Acid Bacteria and *Amomum villosum* Lour. Stems and Leaves on Fermentation Quality and Bacterial Community in King Grass Silage

YANG Yuan-ting¹, ZHOU Han-lin¹, PENG Wei-shi¹, LIU Hu¹, WU Qun¹, ZENG Meng¹, JIAO Jing²,
HE Jun-jun², WANG Ke¹, DU Ji-hua², LI Wei³, HAN Jian-cheng^{1*}

(1. Zhanjiang Experiment Station, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang, Guangdong Province 524013, China;
2. South Subtropical Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang, Guangdong Province 524013, China; 3. Medicinal Botanical Garden of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning, Guangxi Province 530023, China)

Abstract: This study investigated the effects of lactic acid bacteria (LAB) and *Amomum villosum* Lour. stems and leaves (ASL) on the fermentation quality, nutritional composition, and bacterial diversity of King grass (*Pennisetum purpureum*×*P. americanum*) silage. Four treatments were established: CK (no additives), ASL (30% ASL addition), LAB (compound LAB inoculant at 5×10^6 CFU·g⁻¹ fresh weight), and ASL-LAB (30% ASL+LAB), each with three replicates. Samples were collected and analyzed after 56 days of ensiling.

收稿日期:2025-10-15;修回日期:2025-10-29

基金项目:海南省自然科学基金(324QN300);中国热带农业科学院国家热带农业科学中心科技创新团队(CATASCXTD202530);海南省重点研发项目(ZDYF2024KJTPY034);广西南宁市重点研发计划项目(20243046);中央级公益性科研院所基本业务费专项(1630062025019)资助

作者简介:杨远廷(1995-),男,汉族,广东湛江人,助理研究员,主要从事动物营养与饲草高效利用研究, E-mail: ytyang10@catas.cn; *通信作者 Author for correspondence, E-mail: hanjiancheng810@163.com

Results showed that, compared to CK, the pH and ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) content were significantly decreased ($P<0.05$) in the ASL, LAB, and ASL-LAB groups, while lactic acid (LA) content significantly increased ($P<0.05$). Dry matter (DM) and crude protein (CP) content in the CK group were significantly lower than those in the other treatments ($P<0.05$). The relative abundance of *Lactiplantibacillus* increased by 12.17%, 37.58%, and 57.19% in the ASL, LAB, and ASL-LAB groups, respectively. Conversely, the relative abundance of Unclassified Enterobacteriaceae decreased by 3.91%, 28.82%, and 30.27% in these groups. Correlation analysis indicated that *Lactiplantibacillus* was negatively correlated with *Enterobacter*, Unclassified Enterobacteriaceae, and $\text{NH}_3\text{-N}$ ($P<0.05$), but positively correlated with LA and CP ($P<0.05$). In conclusion, while supplementation with LAB inoculant or ASL alone improved fermentation quality and mitigated nutrient loss in King grass silage, the combined application of ASL and LAB yielded the most pronounced improvements.

Key words: *Amomum villosum* Lour. stems and leaves; Lactic acid bacteria; King grass; Silage; Microbial diversity

王草(*Pennisetum purpureum*×*P. americanum*)是禾本科狼尾属多年生优质热带牧草,具有适应性强、产量高及适口性好等特性,是我国南方热带地区重要的饲草资源^[1]。热带地区夏季高温多雨,王草生长迅速、生物量大,通过调制加工成优质青贮料,可有效缓解反刍动物区域性饲草料季节性短缺问题^[2]。然而,热区夏季多雨热同期,导致王草在适宜刈割期含水量较高,田间萎蔫困难^[1,3]。若直接进行高水分青贮,不仅会降低发酵品质并加剧营养物质的损耗^[4],更因复杂微生物活动诱发真菌增殖、霉菌毒素积累及抗生素抗性基因传播等生物安全风险,对畜牧生产及公共卫生构成潜在威胁^[5]。当前有机酸^[4]、乳酸菌制剂^[5]及植物源提取物^[6]等添加剂虽可改善高水分青贮品质,但仍面临成本约束与潜在化学残留等问题。近期研究表明,中药材副产物凭借其天然安全性、资源丰富性及营养功能性,在青贮改良领域展现出显著潜力^[7]。其中,枸杞(*Lycium barbarum*)副产物^[8]、黄梁木(*Neolamarckia cadamba*)叶^[9]、金银花(*Lonicera japonica* Thunb.)枝条^[10]、滇红花(*Carthamus tinctorius*)茎叶^[11]和黄芪(*Astragalus membranaceus*)药渣^[12]等已被证实与牧草混合青贮,可通过调控微生物群落结构、代谢途径及生化反应等来改善青贮品质。

砂仁(*Amomum villosum* Lour.)是姜科豆蔻属多年生草本植物,主产于广东、广西、云南及海南等热带地区,其干燥成熟果实富含挥发性精油、黄酮类及多糖类等活性成分,具有抗炎、抗氧化、抗菌和免疫调节等功效^[13];砂仁活性成分作为添加剂已被证实可通过改变青贮微生物群落结构(增加有益菌丰度、减少有害菌数量),有效改善了紫花苜蓿^[14]、构树^[15]、残次苹果和玉米秸混合青贮^[16]等发酵品质,同时提高小黑麦青贮的有氧稳定性并减少营养损失^[17]。然而,果实采收后,其茎叶副产物尚未得

到有效利用,多被废弃或焚烧,造成资源浪费与环境污染^[18]。研究表明,砂仁鲜茎叶适口性好、营养价值较高,是一种优质的青绿粗饲料资源^[19],且仍含有精油等多种活性成分^[18]。课题组前期研究表明,砂仁茎叶与王草以30:70比例混合青贮时,可显著提升粗蛋白和粗脂肪含量,降低中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量,并获得最优发酵参数^[20]。但砂仁茎叶如何改善王草青贮品质作用机制尚未明晰,与乳酸菌间的互作关系仍需进一步明确。因此,本研究在此基础上,深入探究添加复合乳酸菌和砂仁茎叶对王草青贮品质、营养成分和微生物多样性的影响,重点分析微生物群落结构的变化,并将其与关键营养指标、发酵指标进行关联分析,旨在深入阐明乳酸菌与砂仁茎叶互作提升王草青贮品质的作用机制,为开发安全高效的青贮改良策略提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

原料‘热研4号’王草于2024年9月采自中国热带农业科学院湛江实验站热带牧草种植基地,其刈割高度 ≥ 2.0 m;砂仁茎叶(取地上部分)来自中国热带农业科学院亚热带作物研究所砂仁种植基地,留茬 ≥ 25 cm。复合乳酸菌发酵剂由郑州好旺农生物科技有限公司提供,主要成分为植物乳杆菌、乳酸片球菌和布氏乳杆菌,活性乳酸菌含量 $\geq 1.00\times 10^{11}$ CFU·g⁻¹。

1.2 试验设计

将新鲜刈割的王草和砂仁茎叶,分别经铡草机切短至2~3 cm,试验设4个处理组,CK组(无添加)、ASL组(添加30%砂仁茎叶)、LAB组(添加复

合发酵剂, 5×10^6 CFU $\cdot$ g $^{-1}$ FM)、ASL-LAB组(添加30%砂仁茎叶和复合发酵剂), 每组3个重复, 具体组合和营养成分如表1所示。各组样品混合均匀

后, 分别装入35 cm $\times$ 40 cm的聚乙烯真空袋中, 经抽真空密封后室温避光厌氧发酵56天, 开袋取样分析青贮的发酵品质、营养成分及细菌群落多样性。

表1 试验分组与营养组成

Table 1 Experimental groups and nutritional composition

处理 Treatment	原料组合 Raw material combination	干物质 DM/(%FM)	粗蛋白 CP/(%DM)	可溶性碳水化合物 WSC/ (%DM)	中性洗涤纤维 NDF/ (%DM)	酸性洗涤纤维 ADF/ (%DM)
CK	王草 100% King grass 100%	16.58 $\pm$ 0.11	7.93 $\pm$ 0.39	7.11 $\pm$ 0.63	62.22 $\pm$ 1.11	34.80 $\pm$ 1.20
ASL	王草 70%+砂仁茎叶 30% King grass 70%+ASL30%	16.70 $\pm$ 0.32	7.99 $\pm$ 0.61	7.86 $\pm$ 0.70	64.68 $\pm$ 2.40	35.68 $\pm$ 1.32
LAB	王草 100%+乳酸菌发酵剂 King grass 100%+LAB inoculant	16.69 $\pm$ 0.34	7.94 $\pm$ 0.20	7.22 $\pm$ 0.32	63.19 $\pm$ 2.40	35.03 $\pm$ 1.06
ASL-LAB	王草 70%+砂仁茎叶 30%+乳酸菌发酵剂 King grass 70%+ASL30%+LAB	16.37 $\pm$ 0.62	8.02 $\pm$ 0.34	7.49 $\pm$ 0.48	65.95 $\pm$ 2.99	37.95 $\pm$ 2.79

注:CK是对照组,ASL是添加30%砂仁茎叶组,LAB是添加复合乳酸菌组,ASL-LAB是添加30%砂仁茎叶和复合乳酸菌组合组。下同

Note: CK stands for control group; ASL stands for 30% *Amomum villosum* Lour. stems and leaves addition; LAB stands for compound lactic acid bacteria addition; ASL-LAB stands for ASL+LAB combination. The same as below

1.3 检测指标与方法

1.3.1 发酵品质测定 青贮开袋后,称取20 g代表性样品,加入180 mL蒸馏水混合均匀,4℃下浸提24 h后通过4层纱布和定性滤纸过滤,得到青贮样品浸提液,于-20℃冰箱冻存,用于发酵品质测定。采用精密pH计测定pH值;采用苯酚-次氯酸盐比色法测定氨态氮含量;采用高效液相色谱仪方法参照DB15/T1458测定乳酸、乙酸、丙酸和丁酸含量。

1.3.2 营养成分测定 取原料和青贮样品约200 g,于65℃烘干至恒重,粉碎过40目筛后,装入自封袋中保存,用于检测营养成分。采用烘干法参照GB/T 6435测定干物质(Dry matter, DM)含量,采用范氏洗涤纤维法参照GB/T 20806测定中性洗涤纤维(Neutral detergent fiber, NDF)和参照NY/T 1459测定酸性洗涤纤维(Acid detergent fiber, ADF),采用凯氏定氮法参照GB/T 6432测定粗蛋白(Crude protein, CP)含量,采用蒽酮-硫酸比色法测定可溶性碳水化合物(Water soluble carbohydrate, WSC)含量。

1.3.3 微生物多样性测定 采用16S rRNA基因测序技术,对青贮样品微生物群落多样性进行测定。通过CTAB法进行DNA提取,利用1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA的纯度和浓度后,取适量样品于离心管中,稀释样品至1 ng $\cdot$ μ L $^{-1}$ 。通过16S rRNA的V3-V4区测序并分析细菌微生物组成及其多样性,上下游引物分别为338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和806R(5'-GGACTAC-

NNGGGTATC TAAT-3')。根据PCR产物浓度进行等浓度混样,充分混匀后使用1 $\times$ TAE缓冲液配制浓度为2%的琼脂糖凝胶进行电泳,以纯化PCR产物,随后切取目标条带进行回收。产物纯化试剂盒使用的是Qiagen公司Qiagen胶回收试剂盒。使用Illumina公司TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit建库试剂盒(Illumina, USA)进行文库的构建,构建好的文库经过Qubit定量和文库检测,质检合格后,委托生物公司使用Nova-Seq 6000 PE250进行上机测序。

1.4 数据统计与分析

采用Excel 2016软件对原始数据进行初步整理,运用IBM SPSS Statistics 23.0进行单因素方差分析,采用LSD法进行多重比较;同时通过Origin软件进行绘图。结果以“平均值 $\pm$ 标准差”表示,其中, $P<0.05$ 表示差异显著, $P>0.05$ 表示差异不显著。

2 结果与分析

2.1 添加LAB和砂仁茎叶对王草青贮发酵品质的影响

由表2可知,与CK组相比,ASL组、LAB组和ASL-LAB组中pH值和NH $_3$ -N含量均显著降低($P<0.05$),且pH值均降至4.2以下;而与CK组相比,其他试验组中乳酸(Lactic acid, LA)和乙酸(Acetic

acid, AA)含量明显增加,其中 ASL-LAB 组丙酸 (Propionic acid, PA)含量出现最高值($P<0.05$)。此外,与 ASL 相比,LAB 和 ASL-LAB 组中 PA 含量分别显著下降了 28.57% 和 26.29%($P<0.05$)。

表 2 添加 LAB 和砂仁茎叶对王草青贮发酵品质的影响

Table 2 Effects of LAB and *Amomum villosum* Lour. stem-leaf additives on fermentation quality of king grass silage

处理 Treatment	pH 值 pH value	氨态氮 NH ₃ -N/(%DM)	乳酸 LA/(%DM)	乙酸 AA/(%DM)	丙酸 PA/(%DM)	丁酸 BA/(%DM)
CK	4.50±0.15 ^a	0.21±0.01 ^a	5.88±0.027 ^b	2.40±0.21	1.88±0.15 ^{ab}	0.08±0.01
ASL	3.91±0.05 ^b	0.12±0.01 ^b	8.06±0.14 ^a	3.12±0.51	1.75±0.16 ^b	0.32±0.16
LAB	3.84±0.05 ^{bc}	0.09±0.01 ^c	8.46±0.71 ^a	3.29±0.41	2.25±0.14 ^a	0.16±0.12
ASL-LAB	3.70±0.10 ^c	0.09±0.01 ^c	9.36±2.25 ^a	2.52±0.55	2.21±0.30 ^a	0.09±0.05

注:同列不同字母表示差异显著($P<0.05$)。下同

Note: Different letters indicate significant difference at the 0.05 level. The same as below

2.2 添加 LAB 和砂仁茎叶对王草青贮营养成分的影响

由表 1 可知,青贮发酵前各组 DM 含量在 16.37%~16.70% FM 之间,CP 含量在 7.93%~8.02 % DM 之间,WSC 含量在 7.11%~7.86 % DM 之间,DNF 含量在 62.22%~65.95 % DM 之

间,ADF 含量在 34.80%~37.95 % DM 之间。经过 56 天青贮后,各组 DM 和 CP 均有所降低(表 3),其中与其他试验组相比,CK 组中 DM 和 CP 分别显著下降了 15.62% 和 20.18% ($P<0.05$); 各组 NDF,ADF,WSC 也有所降低,但均未达到显著性差异水平。

表 3 添加 LAB 和砂仁茎叶对王草青贮营养成分的影响

Table 3 Effect of LAB and *Amomum villosum* Lour. stem-leaf additives on nutritional quality of king grass silage

处理 Treatment	干物质 DM/(%FM)	粗蛋白 CP/(%DM)	可溶性碳水化合物 WSC/(%DM)	中性洗涤纤维 NDF/(%DM)	酸性洗涤纤维 ADF/ (%DM)
CK	13.99±0.15 ^b	6.33±0.37 ^b	5.88±0.03	61.34±1.97	33.82±1.19
ASL	15.90±0.15 ^a	7.56±0.41 ^a	5.92±0.63	60.32±0.58	34.10±0.39
LAB	15.72±0.14 ^a	7.07±0.41 ^a	6.18±0.14	58.99±1.81	33.82±0.51
ASL-LAB	15.92±0.03 ^a	7.67±0.19 ^a	5.67±0.08	60.50±0.28	34.72±0.57

2.3 添加 LAB 和砂仁茎叶对王草青贮细菌 Alpha 多样性的影响

由表 4 可知,各组所检测样本的覆盖度均达到 1.00,说明测序结果可以反映出各组的细菌群落结构。与 CK 组相比,所有处理组中 Chao 1 指数有所

下降。其中,LAB 组和 ASL-LAB 组的 Chao 1 指数显著降低($P<0.05$)。同时 LAB 组和 ASL-LAB 组的辛普森指数和香农指数呈现与 Chao 1 指数相似的变化趋势,其中,ASL-LAB 组的辛普森指数和香农指数均显著低于 CK 组($P<0.05$)。

表 4 添加 LAB 和砂仁茎叶对王草青贮细菌 Alpha 多样性的影响

Table 4 Effect of LAB and *Amomum villosum* Lour. stem-leaf additives on bacterial alpha-diversity of king grass silage

处理 Treatment	Chao1 指数 Chao1 index	辛普森指数 Simpson index	香农指数 Shannon index	Pielou_e 指数 Pielou_e index	Faith_pd 指数 Faith_pd index	覆盖度 Coverage
CK	814.79±81.87 ^a	0.96±0.01 ^{ab}	6.43±0.12 ^a	0.67±0.01	33.39±5.15	1.00±0.00
ASL	805.46±101.74 ^a	0.97±0.01 ^a	6.94±0.46 ^a	0.72±0.02	30.60±3.74	1.00±0.00
LAB	579.90±83.22 ^b	0.93±0.01 ^b	5.84±0.32 ^{ab}	0.64±0.02	33.18±1.71	1.00±0.00
ASL-LAB	569.40±83.55 ^b	0.87±0.03 ^c	5.50±0.31 ^b	0.60±0.03	33.12±2.95	1.00±0.00

2.4 添加 LAB 和砂仁茎叶对王草青贮细菌菌落组成分析

由图 1 可知,各组细菌在门水平上以厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)和放线菌门(Actinobacteriota)为主,其中 CK 组以变形菌

门(74.91%)为主,ASL 组以变形菌门(48.01%)和厚壁菌门(51.21%)为主,而 LAB 组(84.53%)和 ASL-LAB 组(85.06%)以厚壁菌门为主。

由图 2 可知,在细菌属水平上,CK 组菌群以未

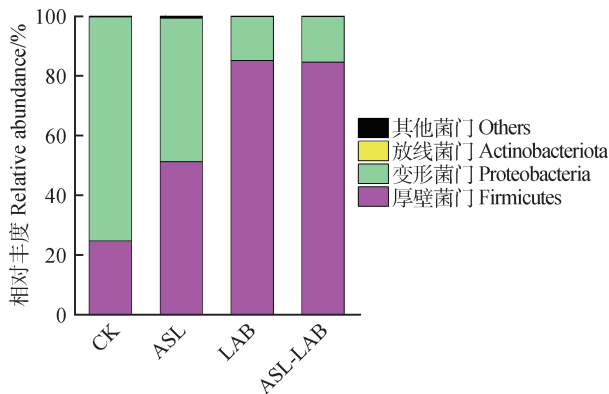


图1 添加LAB和砂仁茎叶对王草青贮细菌门水平相对丰度的影响

Fig. 1 Effect of LAB and *Amomum villosum* Lour. stem-leaf additives on relative abundance of bacterial phyla of king grass silage

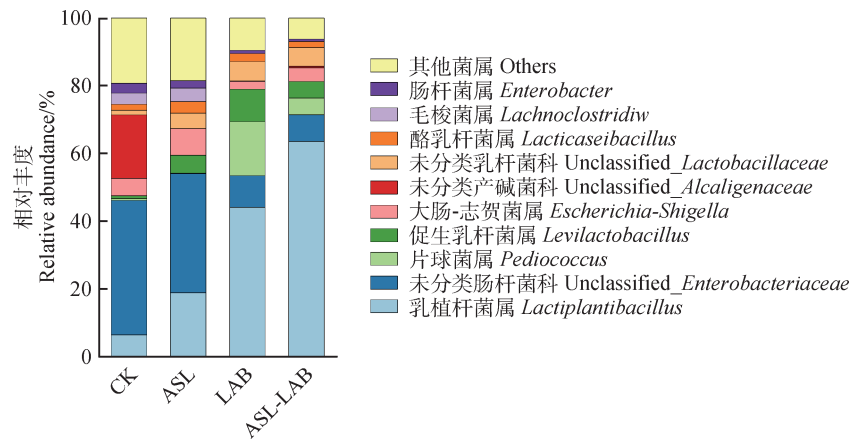


图2 添加LAB和砂仁茎叶对王草青贮细菌属水平相对丰度的影响

Fig. 2 Effect of LAB and *Amomum villosum* Lour. stem-leaf additives on relative abundance of bacterial genera of king grass silage

2.5 细菌属水平群落、发酵品质和营养成分之间的相关性分析

基于 Spearman 相关系数分析优势细菌属水平群落与发酵品质、营养成分的关联性,结果如图3所示:青贮体系中乳植杆菌属的相对丰度与肠杆菌属、未分类肠杆菌科的相对丰度呈显著负相关($P < 0.05$),片球菌属的相对丰度与大肠-志贺菌属的相对丰度成显著负相关($P < 0.05$);而未分类肠杆菌科的相对丰度与促生乳杆菌属、未分类乳杆菌科的相对丰度呈显著负相关($P < 0.05$),但与肠杆菌属的相对丰度呈显著正相关($P < 0.05$)。同时,乳植杆菌属的相对丰度与pH值呈显著负相关($P < 0.05$),与LA和CP含量呈显著正相关($P < 0.05$);相反,未分类肠杆菌科的相对丰度与pH值和 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量呈显著正相关($P < 0.05$),而与LA和CP含量呈显著负相关($P < 0.05$)。此外,pH值与 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量呈显著正相

分类肠杆菌科(Unclassified Enterobacteriaceae, 38.08%)、未分类产碱菌科(Unclassified Alcaligenaceae, 17.96%)和乳植杆菌属(Lactiplantibacillus, 6.11%)为主;ASL组主要菌属为未分类肠杆菌科(34.17%)、乳植杆菌属(18.28%)和大肠-志贺菌属(*Escherichia-Shigella*, 7.64%);LAB组优势菌群为乳植杆菌属(43.69%)、片球菌属(*Pediococcus*, 15.82%)和促生乳杆菌属(*Levilactobacillus*, 9.47%);而ASL-LAB组中乳植杆菌属(63.30%)呈绝对优势,并伴有未分类肠杆菌科(7.81%)和片球菌属(4.92%)。与CK组相比,ASL组、LAB组和ASL-LAB组中乳植杆菌属相对丰度分别增加了12.17%,37.58%和57.19%,而未分类肠杆菌科相对丰度分别减少了3.91%,28.82%和30.27%。

关($P < 0.05$),而与LA,DM,CP和WSC含量均呈显著负相关($P < 0.05$);LA含量与DM,CP和WSC含量呈显著正相关($P < 0.05$),且DM,CP和WSC含量互为显著正相关关系($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 添加LAB和砂仁茎叶对王草青贮品质的影响

牧草青贮过程中,营养成分的动态变化与发酵品质紧密相关,共同作为最终评价饲草料青贮品质的重要指标^[21]。其中,DM与CP含量是评价青贮饲料营养价值的关键指标^[22]。高水分原料青贮时,易因渗出液造成可溶性养分流失,并为梭菌等有害微生物的增殖创造条件,引发BA发酵,分解WSC和CP,增加DM损失^[23]。本研究发现,高水分王草直接青贮后,其DM和CP含量显著下降,而添加LAB

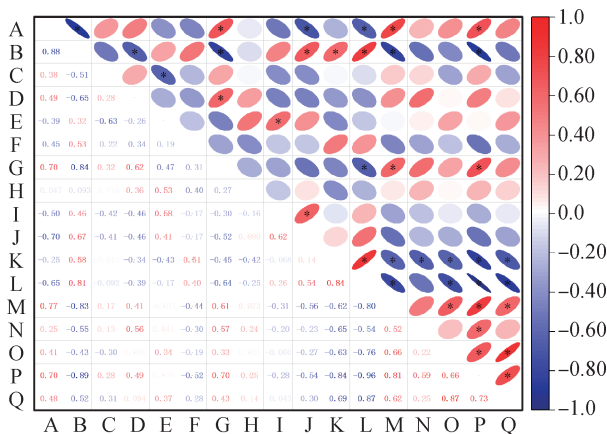


图3 细菌属水平群落与青贮品质间的相关性分析

Fig. 3 Correlation analysis between bacterial genera and silage quality

注: A-Q 依次分别为乳植杆菌属、未分类肠杆菌科、片球菌属、促生乳杆菌属、大肠-志贺菌属、未分类产碱菌科、未分类乳杆菌科、酪乳杆菌属、毛梭菌属、肠杆菌属、氨态氮、pH 值、乳酸、丙酸、干物质、粗蛋白、可溶性碳水化合物; 红色表示正相关, 蓝色表示负相关, 颜色深度反映相关性强弱; 数值为相关系数, *表示 $P < 0.05$

Note: A-Q, *Lactiplantibacillus*, Unclassified *Enterobacteriaceae*, *Pediococcus*, *Levilactobacillus*, *Escherichia-Shigella*, Unclassified *Alcaligenaceae*, Unclassified *Lactobacillaceae*, *Lactocaseibacillus*, *Lachnoclostridium*, *Enterobacter*, $\text{NH}_3\text{-N}$, pH, LA, PA, DM, CP, WSC; Red indicates positive correlations, blue indicates negative correlations, with color intensity representing the strength of correlation; Numbers represent correlation coefficients, and * represent $P < 0.05$

或砂仁茎叶均能有效减少这些营养成分的损失。一方面, 接种 LAB 通过高效利用原料中 WSC, 快速产生大量 LA, 迅速降低青贮体系的 pH 值, 从而有效抑制腐败菌和霉菌的增殖。这一过程降低了蛋白质被微生物降解为氨态氮的风险, 并抑制了纤维素的异常分解^[24], 进而降低了营养物质的流失。Zhao 等^[25]研究表明, 接种植物乳杆菌能在青贮早期显著提升 LA 含量并降低 $\text{NH}_3\text{-N}$ 水平, 有助于保存 CP。而接种布氏乳杆菌则通过产生 AA 和 PA, 进一步抑制青贮饲料开封后的好氧变质, 提高其有氧稳定性和营养保存率^[26]。植物乳杆菌和布氏乳杆菌的复合接种可显著提升青贮体系中乳杆菌属的相对丰度, 抑制蛋白质水解菌的代谢活性, 强化碳水化合物代谢途径, 促进 WSC 向乳酸转化, 同时抑制氨基酸脱氨途径, 减少 $\text{NH}_3\text{-N}$ 生成^[27-28]。此外, 砂仁茎叶含有的精油等多种活性成分选择性抑菌并减少 DM 消耗^[18], 同时优化微生物群落结构提高有益 LAB 的相对丰度^[15], 从而提高发酵品质, 这与陈德奎等^[14]和郭雪晴等^[16]研究结果一致。

青贮饲料中 pH 值与有机酸含量是衡量其发酵

品质的重要指标^[29], 本研究表明, 与 CK 组相比, 单独添加 LAB 或砂仁茎叶均可提高王草青贮饲料中 LA 和 AA 含量, 同时降低 pH 值、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和 BA 含量, 而 LAB 与砂仁茎叶的组合处理改善效果更为显著。优质青贮饲料的 pH 值通常 ≤ 4.2 , 本研究中, 除 CK 组外, 其余处理组的 pH 值均低于此阈值。CK 组 pH 值偏高, 原因可能在于王草原料含水量高, 直接青贮导致梭菌等不良菌大量繁殖, 严重抑制了天然 LAB 的发酵进程。接种 LAB 可直接增加青贮体系中 LAB 的初始丰度, 加速 LA 生成, 抑制有害微生物生长, 其代谢产生的氢离子直接导致 pH 值迅速下降^[30]。Zi 等^[2]研究也表明, 添加 LAB 发酵剂可显著提高王草青贮的 LA 含量, 降低 pH 值以及 PA, AA 和 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量。此外, 砂仁茎叶本身含有多种活性物质, 可能通过选择性抑制腐败菌生长, 同时促进 LAB 的定殖和丰度, 加速 WSC 代谢产生 LA, 从而协同降低体系 pH 值。这种通过活性物质优化微生物群落、改善发酵进程的作用模式, 与黄梁木叶^[9]、金银花枝条^[10]、滇红花茎叶^[11]、裸花紫珠^[29]等在青贮中的作用效果相似。尤为重要的是, 本研究观察到 LAB 与砂仁茎叶在改善青贮品质上可能具有协同增效作用。砂仁茎叶中的活性成分通过选择性抑制有害微生物和可能改善底物可利用性, 为添加的 LAB 创造了更有利的生态位; 而 LAB 通过快速启动发酵、高效产酸以及菌群间的协同作用, 主导并优化了发酵进程。这种协同作用最终促进了青贮饲料整体品质的提升。

3.2 添加 LAB 和砂仁茎叶对王草青贮微生物多样性的影响

对各组青贮细菌群落 Alpha 多样性结果统计分析发现, 与 CK 组相比, 各组中 Chao 1 指数、辛普森指数和香农指数均有所降低, 其中 ASL-LAB 组的降低达到显著性水平。砂仁茎叶含挥发性精油、酚类及黄酮类化合物等具有广谱抗菌活性成分, 在青贮发酵过程中, 可能选择性抑制部分细菌的生长, 减少微生物群落的物种丰富度, 从而降低 Alpha 多样性。LAB 接种后快速增殖, 消耗大量 WSC, 形成对营养和生态位的竞争优势, 抑制其他细菌的生长^[31]; 同时 LAB 代谢产生大量乳酸和乙酸, 快速降低青贮 pH 值, 非耐酸菌的生长受抑制甚至消亡, 导致群落均匀度和丰富度下降^[2,32]。此外, 砂仁茎叶活性成分可增强 LAB 的定殖能力, 加速乳酸发酵,

降低pH值,进一步抑制其他细菌的活性^[17]。Xu等^[33]研究也表明,砂仁精油处理通过增加LAB的相对丰度进一步提高了发酵品质。

王草青贮过程中,微生物群落结构在门属水平的变化直接影响发酵效果^[2]。青贮初期以变形菌门为主,后期逐渐演替为厚壁菌门主导,此过程受刈割时间^[34]、含水量^[35]和添加剂^[1-3]影响。其中,CK组因原料含水量及初始pH值较高,青贮体系难以完成从变形菌门向厚壁菌门的转变^[36],故始终以变形菌门为优势菌群;而接种LAB和砂仁茎叶组以厚壁菌门为主,这与植物乳杆菌和乳酸片球菌利用WSC快速发酵,降低青贮pH值,为耐酸的厚壁菌门创造优势生长条件有关^[37]。同时,布氏乳杆菌代谢产生AA和1,2-丙二醇,进一步抑制酵母和霉菌生长,间接维持厚壁菌门主导的厌氧环境^[38]。

青贮原料表面天然附生的LAB丰度通常低于0.5%,难以主导发酵过程^[39];此时肠杆菌科细菌通过异型发酵消耗WSC,不仅减少LAB可利用底物^[40],其代谢产生的AA、乙醇、CO₂及NH₃-N还会提高青贮pH值,延缓酸化进程并造成DM损失^[41]。而接种外源菌株后,其迅速利用WSC产酸,使环境pH值快速下降,抑制肠球菌等竞争菌群,促使LAB属成为优势菌属^[42]。本研究中,CK组与ASL组以未分类肠杆菌科为优势菌属,而LAB组及ASL-LAB组则以乳植杆菌属为主导;且与CK组相比,ASL组、LAB组和ASL-LAB组中乳植杆菌属相对丰度分别增加了12.17%,37.58%和57.19%,而未分类肠杆菌科相对丰度分别减少了3.91%,28.82%和30.27%。这一结果进一步证实了外源乳酸菌与砂仁茎叶在改善王草青贮品质中具有协同增效作用。

3.3 细菌属水平群落与青贮品质间的相关性分析

青贮发酵本质上是LAB驱动的微生物群落动态演替过程,其群落结构与代谢活性直接影响并反映最终青贮品质^[31]。在青贮发酵的核心菌属中,乳杆菌属的丰度与LA积累呈显著正相关,该属细菌能快速降低环境pH值,有效抑制肠杆菌、梭菌等腐败微生物的增殖,从而最大限度地减少DM和CP等营养物质的损失^[42];片球菌属和明串珠菌属通常在发酵初期辅助酸化过程,但其过度繁殖可能导致AA过量积累,反而降低发酵效率^[24]。本研究中以植物乳杆菌属、片球菌属、促生乳杆菌属等为主要优势菌群,这可能与实验采用了植物乳杆菌、乳酸片球菌和

布氏乳杆菌的复合接种有关。值得注意的是,乳植杆菌属相对丰度与LA和CP含量呈显著正相关,而与pH值呈显著负相关。因此,对照组青贮后CP损失较大,可能归因于该菌属相对丰度较低。Yan等^[43]在羊草青贮中添加植物乳杆菌和布氏乳杆菌的研究也证实,试验组NH₃-N含量显著降低,同时CP损失率明显减少。本研究进一步表明,pH值与LA,DM,CP和WSC含量均呈显著负相关,此外,研究表明布氏乳杆菌和短乳杆菌相对丰度与LA含量呈正相关,而与pH值呈负相关^[28]。这些结果共同表明,多数LAB在酸性环境中具有快速生长优势,其代谢活性受环境pH水平调控,并直接关联于LA的生物合成。这一发现与Zi等^[2]和Zhao等^[28]研究结果基本吻合。

高水分或高温环境易导致青贮有害微生物占据生态位优势,其分解蛋白质产生NH₃-N和BA等代谢产物,导致pH升高并进一步抑制LAB生长,最终损害青贮品质^[44]。肠杆菌主导AA发酵,降低LA积累效率,造成pH值偏高、NH₃-N浓度升高、CP保留率低,并可能携带致病菌^[45]。本研究中,对照组检测到多种潜在有害微生物,且未分类肠杆菌科、未分类产碱菌科、大肠-志贺菌属、毛梭菌属、肠杆菌属等相对丰度较高,这可能与高水分直接青贮导致发酵不充分,为梭菌和肠杆菌等有害微生物的增殖创造了条件有关^[46];相比之下,其他试验组中有害微生物的丰度显著降低。相关性分析显示,青贮体系中肠杆菌属相对丰度与乳植杆菌属相对丰度呈显著负相关,大肠-志贺菌属相对丰度与片球菌属相对丰度呈显著负相关,未分类肠杆菌科相对丰度与乳植杆菌属、促生乳杆菌属、未分类乳杆菌科相对丰度均呈显著负相关。由此可见,青贮体系中微生物存在复杂的相互作用,潜在有害微生物与LAB呈显著的竞争性抑制关系,延缓了pH值的下降进程。这一结果与Yang等^[47]和Xu等^[48]研究结论一致。

4 结论

本研究发现在王草青贮中添加复合乳酸菌或砂仁茎叶均能改善青贮发酵品质,有效降低干物质与粗蛋白损失;二者联用处理显著降低细菌多样性,驱动菌群结构由变形菌门主导转向厚壁菌门演替,同时提升乳植杆菌属丰度并抑制肠杆菌属增殖。因此,砂仁茎叶与复合乳酸菌联合添加对改善王草青贮品质的效果最佳。

参考文献

- [1] 陈桂武, 农智颜, 陈娜, 等. 不同比例假蒺对王草青贮发酵品质及体外发酵特性的影响[J]. 草地学报, 2025, 33(5): 1677-1685
CHEN G W, NONG Z Y, CHEN N, et al. Effects of different proportions of *Piper sarmentosum* on the fermentation quality and in vitro fermentation characteristics of king grass silage[J]. Acta Agrestia Sinica, 2025, 33(5): 1677-1685
- [2] ZI X J, LI M, CHEN Y Y, et al. Effects of citric acid and *Lactobacillus plantarum* on silage quality and bacterial diversity of king grass silage[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 631096
- [3] 姜太玲, 段春芳, 白丽娜, 等. 不同发酵剂对高水分‘热研4号’王草青贮品质的影响[J]. 中国饲料, 2024(17): 143-148
JIANG T L, DUAN C F, BAI L N, et al. Effects of different additives on ensilage quality ‘Reyan No. 4’ king grass with high moisture content[J]. China Feed, 2024(17): 143-148
- [4] ZHANG X, USMAN S, BATUR I, et al. Occurrence and fate of antibiotic-resistance genes and their potential hosts in high-moisture alfalfa silage treated with or without formic acid bactericide[J]. Journal of Environmental Management, 2023, 347: 119235
- [5] ZHANG X, XU D M, USMAN S, et al. Heterofermentative *Lentilactobacillus buchneri* and low dry matter reduce high-risk antibiotic resistance genes in corn silage by regulating pathogens and mobile genetic element[J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 479: 135700
- [6] YAN X Q, BAO J, ZHAO M, et al. High-moisture alfalfa silage fermentation: a comparative study on the impact of additives including formic acid, *Lactobacillus plantarum*, cinnamon essential oil, and wood vinegar[J]. Microbiology Spectrum, 2025, 13(9): e00003-25
- [7] 严继猛, 盘道兴, 胡耀, 等. 中草药副产物的营养价值、利用方式及其在反刍动物生产中的应用研究进展[J]. 粮食与饲料工业, 2025(1): 101-107
YAN J M, PAN D X, HU Y, et al. Advances in nutritional value and utilization method of Chinese herbal medicine by-products and its application in ruminant production[J]. Cereal & Feed Industry, 2025(1): 101-107
- [8] 张欢, 牟怡晓, 张桂杰. 添加枸杞副产物对紫花苜蓿青贮发酵品质及微生物多样性的影响[J]. 草业学报, 2022, 31(4): 136-144
ZHANG H, MU Y X, ZHANG G J. Effects of *Lycium barbarum* by-products on fermentation quality and microbial diversity of alfalfa silage[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2022, 31(4): 136-144
- [9] WANG C, HE L W, XING Y Q, et al. Effects of mixing *Neolamarckia cadamba* leaves on fermentation quality, microbial community of high moisture alfalfa and stylo silage[J]. Microbial Biotechnology, 2019, 12(5): 869-878
- [10] 刘霞, 王晓菁, 李冬, 等. 金银花枝条和乳酸菌对苜蓿青贮发酵品质的影响[J]. 中国饲料, 2024(22): 69-72
LIU X, WANG X J, LI D, et al. Effects of honeysuckle branches and lactic acid bacteria on the fermentation quality of alfalfa silage[J]. China Feed, 2024(22): 69-72
- [11] 余泓毅, 李乔仙, 王从文, 等. 添加乳酸菌对全株玉米与滇红花茎叶混合青贮品质的影响[J]. 草业科学, 2025, 42(6): 1518-1527
YU H Y, LI Q X, WANG C W, et al. Effects of adding lactic acid bacteria on the quality of mixed silage of whole-plant corn and Yunnan safflower stems and leaves[J]. Pratacultural Science, 2025, 42(6): 1518-1527
- [12] 金丽娜, 蒋苏苏, 敬淑燕, 等. 黄芪药渣与全株玉米混合青贮对饲料感官、发酵品质及营养成分的影响[J]. 草地学报, 2024, 32(2): 630-636
JIN L N, JIANG S S, JING S Y, et al. Effects of adding Astragalus bunge residue on the sensory evaluation, fermentation quality, and nutritive value of whole-crop corn silage[J]. Acta Agrestia Sinica, 2024, 32(2): 630-636
- [13] FENG L L, WANG Z C, LEI Z W, et al. *Amomum villosum* Lour.: An insight into ethnopharmacological, phytochemical, and pharmacological overview[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2024, 335: 118615
- [14] 陈德奎, 郭香, 郑明扬, 等. 砂仁精油对紫花苜蓿青贮品质的影响[J]. 草地学报, 2021, 29(4): 855-860
CHEN D K, GUO X, ZHENG M Y, et al. The effects of *Amomum villosum* Lour. essential oil on the fermentation quality of alfalfa[J]. Acta Agrestia Sinica, 2021, 29(4): 855-860
- [15] LI M Y, FAN X Y, CHENG Q M, et al. Effect of *Amomum villosum* essential oil as an additive on the chemical composition, fermentation quality, and bacterial community of paper mulberry silage[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 951958
- [16] 郭雪晴, 李荣荣, 黄梁妍, 等. 砂仁精油对残次苹果和玉米粘混合青贮品质和细菌菌群的影响[J]. 饲料工业, 2025, 46(12): 114-119
GUO X Q, LI R R, HUANG L Y, et al. Effects of *Amomum villosum* Lour. essential oil on fermentation quality and bacterial community of mixed silage of defective apples and corn stove[J]. Feed Industry, 2025, 46(12): 114-119
- [17] LI M Y, LEI Y, CHEN Y L, et al. Improving fermentation quality, aerobic stability, and microbial community stabilization of triticale by *Amomum villosum* essential oil[J]. Microbiology Spectrum, 2025, 13(6): e01302-24
- [18] GAO C F, ZHU M, XU W, et al. Chemical constituents from the stems and leaves of *Amomum villosum* Lour. and their anti-inflammatory and antioxidant activities[J]. Bioorganic Chemistry, 2023, 131: 106281
- [19] 李乔仙, 高月娥, 亏开兴, 等. 砂仁茎叶饲用营养价值评定[J]. 畜牧与兽医, 2016, 48(10): 61-63
LI Q X, GAO Y E, YU K X, et al. Evaluation of feeding nutritional value of *Amomum villosum* stems and leaves[J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2016, 48(10): 61-63
- [20] 蔺红玲, 周汉林, 董荣书, 等. 砂仁茎叶和‘热研4号’王草混合青贮对其营养成分及发酵品质的影响[J]. 热带作物学报, 2021, 42(12): 3633-3638
LIN H L, ZHOU H L, DONG R S, et al. Effects of mixed silage of ‘Reyan No. 4’ with *Amomum villosum* stem and leaf on its nutritional components and fermentation quality[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(12): 3633-3638
- [21] LI H P, RAN Q F, JIA Z F, et al. Effect of different dry matter content on fermentation characteristics and nutritional quality of Napier grass silage with novel lactic acid bacteria strains[J]. Letters in Applied Microbiology, 2023, 76(2): ova018
- [22] 董晓慧, 师尚礼, 尹国丽, 等. 发酵时间对燕麦青贮品质及细菌群落的影响[J]. 草地学报, 2025, 33(12): 4162-4171
DONG X H, SHI S L, YIN G L, et al. Effects of fermentation time on the quality and bacterial community of oat silage[J].

- Acta Agrestia Sinica, 2025, 33(12):4162-4171
- [23] LI Y Y, DU S, SUN L, et al. Effects of lactic acid bacteria and molasses additives on dynamic fermentation quality and microbial community of native grass silage[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13:830121
- [24] XU H W, WU N E, NA N, et al. Dynamics of fermentation quality, bacterial communities, and fermentation weight loss during fermentation of sweet sorghum silage[J]. *BMC Microbiology*, 2024, 24(1):429
- [25] ZHAO Y Y, LIU D P, CHEN Y L, et al. Enhancing alfalfa and sorghum silage quality using agricultural wastes: fermentation dynamics, microbial communities, and functional insights[J]. *BMC Plant Biology*, 2025, 25(1):728
- [26] MA J, FAN X, MA Z, et al. Silage additives improve fermentation quality, aerobic stability and rumen degradation in mixed silage composed of amaranth and corn straw[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14:1189747
- [27] XU J Z, MA J F, SA R L, et al. Effects of lactic acid bacteria inoculants on the nutrient composition, fermentation quality, and microbial diversity of whole-plant soybean-corn mixed silage[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15:1347293
- [28] ZHAO M, WANG Z J, DU S, et al. *Lactobacillus plantarum* and propionic acid improve the fermentation quality of high-moisture amaranth silage by altering the microbial community composition[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13:1066641
- [29] 孙蓉, 李茂, 陈桂武, 等. 添加裸花紫珠对王草青贮发酵品质和体外产气特性的影响[J]. *草地学报*, 2024, 32(4):1267-1275
- SUN R, LI M, CHEN G W, et al. Effects of *Callicarpa nudiflora* addition on silage fermentation quality and *in vitro* gas production in king grass[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2024, 32(4):1267-1275
- [30] AKHTAR M F, CHAI W Q, UMAR M, et al. Biochemical properties of lactic acid bacteria for efficient silage production: an update[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2025, 16:1581430
- [31] TAHIR M, LI J Y, XIN Y F, et al. Response of fermentation quality and microbial community of oat silage to homofermentative lactic acid bacteria inoculation[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13:1091394
- [32] FENG Q X, ZHANG J, LING W Q, et al. Ensiling hybrid *Pennisetum* with lactic acid bacteria or organic acids improved the fermentation quality and bacterial community[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14:1216722
- [33] XU D H, LI M Y, WANG Y H, et al. Study on the effect of additives on microbial diversity, predicted functional profiles, and fermentation quality of *Broussonetia papyrifera* and *Pennisetum sinense* mixed ensilage in the karst region[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2023, 76(4):ovad039
- [34] 龙仕和, 李雪枫, 潘俊歆, 等. 不同生长天数‘热研4号’王草青贮品质和微生物群落多样性研究[J]. *草地学报*, 2022, 30(7):1900-1908
- LONG S H, LI X F, PAN J X, et al. Study on the silage quality and microbial community diversity of ‘Reyan No. 4’ king grass harvested at different growth days[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2022, 30(7):1900-1908
- [35] CHEN R, LI M, YANG J S, et al. Exploring the effect of wilting on fermentation profiles and microbial community structure during ensiling and air exposure of king grass silage[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13:971426
- [36] LONG S H, LI X F, YUAN X J, et al. The effect of early and delayed harvest on dynamics of fermentation profile, chemical composition, and bacterial community of king grass silage[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13:864649
- [37] ZHANG J W, LIU Y C, WANG Z J, et al. Effects of different types of LAB on dynamic fermentation quality and microbial community of native grass silage during anaerobic fermentation and aerobic exposure[J]. *Microorganisms*, 2023, 11(2):513
- [38] BENJAMIM DA SILVA É, COSTA D M, SANTOS E M, et al. The effects of *Lactobacillus hilgardii* 4785 and *Lactobacillus buchneri* 40788 on the microbiome, fermentation, and aerobic stability of corn silage ensiled for various times[J]. *Journal of Dairy Science*, 2021, 104(10):10678-10698
- [39] NA N, QILI M, WU N E, et al. Bacterial community and fermentation quality of ensiling alfalfa with commercial lactic acid bacterial additives[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13:836899
- [40] ALI N, WANG S R, ZHAO J, et al. Using a high-throughput sequencing technology to evaluate the various forage source epiphytic microbiota and their effect on fermentation quality and microbial diversity of Napier grass[J]. *Archives of Microbiology*, 2021, 203(8):4879-4890
- [41] YANG B Z, NA N, WU N E, et al. Impact of additives and packing density on fermentation weight loss, microbial diversity, and fermentation quality of rape straw silage[J]. *Microorganisms*, 2024, 12(10):1985
- [42] SUN L, XUE Y L, XIAO Y Z, et al. Community synergy of lactic acid bacteria and cleaner fermentation of oat silage prepared with a multispecies microbial inoculant[J]. *Microbiology Spectrum*, 2023, 11(3):e00705-23
- [43] YAN Y T, ZHAO M, SUN P B, et al. Effects of different additives on fermentation characteristics, nutrient composition and microbial communities of *Leymus chinensis* silage[J]. *BMC Microbiology*, 2025, 25(1):296
- [44] XU H W, SUN L, NA N, et al. Dynamics of bacterial community and fermentation quality in *Leymus chinensis* silage treated with lactic acid bacteria and/or water[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12:717120
- [45] QUEIROZ O C M, OGUNADE I M, WEINBERG Z, et al. Silage review: Foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(5):4132-4142
- [46] LIU Y C, WANG Z J, SUN L, et al. Effects of moisture content gradient on alfalfa silage quality, odor, and bacterial community revealed by electronic nose and GC-MS[J]. *Microorganisms*, 2025, 13(2):381
- [47] YANG F Y, WANG Y P, ZHAO S S, et al. *Lactobacillus plantarum* inoculants delay spoilage of high moisture alfalfa silages by regulating bacterial community composition[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11:1989
- [48] XU K, ZHANG J Y, MIRIZATI A, et al. Improving silage characteristics in high-moisture grape residues using cotton stalk as a moisture regulator[J]. *BMC Microbiology*, 2025, 25(1):619