

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.06.033

引用格式:马向东,撒多文,刘会越,等.菌酶协同对玉米秸秆青贮品质及微生物群落的影响[J].草地学报,2026,34(6):2306—2315

MA Xiang-dong, SA Duo-wen, LIU Hui-yue, et al. Effects of Bacteria-Enzyme Synergy on Silage Quality and Microbial Community of Corn Straw[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(6):2306—2315

菌酶协同对玉米秸秆青贮品质及微生物群落的影响

马向东¹, 撒多文², 刘会越³, 黄 帅¹, 付茂兴¹, 齐波毅¹, 赵冬梅⁴,
刘会涛¹, 刘鹰昊², 卢 强^{1*}

(1. 宁夏大学林业与草业学院, 宁夏 银川 750021; 2. 中国农业科学院草原研究所, 内蒙古 呼和浩特 010010;

3. 华南农业大学, 广东 广州 510642; 4. 内蒙古一太农业服务有限公司, 内蒙古 呼和浩特 010010)

摘要:为探究复合菌剂(含植物乳杆菌 *Lactobacillus plantarum*、枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*、黑曲霉 *Aspergillus niger*)及其与糖蜜或纤维素酶复配对玉米(*Zea mays* L.)秸秆的青贮品质及微生物多样性的影响,本试验采用单因素随机设计,设对照组(CK)、复合菌剂组(BC)、复合菌+糖蜜组(FT)、复合菌+纤维素酶组(FX)4个处理。每组3次重复,经室温发酵30 d后,开封取样测定其营养成分、发酵品质及微生物多样性。结果显示,与CK组相比,BC、FT和FX组的粗蛋白和粗灰分含量显著升高,中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量显著降低;FX组氨态氮和乙酸含量最高,分别为9.13%DM, 1.95%DM。熵权-TOPSIS评价结果显示FX组品质最优,相对贴度 $C_i=0.510$ 。微生物多样性分析表明,BC、FT和FX组显著降低群落丰富度和多样性。门水平上,各组优势菌门为芽孢杆菌门,FX组相对丰度最高;其次为假单胞菌门,相对丰度以CK组最高。属水平上,CK组优势菌属主要为布氏乳杆菌 *Lentilactobacillus*、芽孢乳杆菌属 *Sporolactobacillus*、梭菌属 *Lactiplantibacillus* 和植物乳杆菌属,而BC、FT、FX组以布氏乳杆菌为主。综上,复合菌剂能显著改善玉米秸秆青贮品质并改变其微生物群落结构,其中FX组(菌酶协同)青贮效果最佳。

关键词:玉米秸秆;青贮;菌酶协同;发酵品质;营养成分;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)06-2306-10

Effects of Bacteria-Enzyme Synergy on Silage Quality and Microbial Community of Corn Straw

MA Xiang-dong¹, SA Duo-wen², LIU Hui-yue³, HUANG Shuai¹, FU Mao-xing¹, QI Bo-yi¹,
ZHAO Dong-mei⁴, LIU Hui-tao¹, LIU Ying-hao², LU Qiang^{1*}

(1. School of Forestry and Grassland Science, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China; 2. Institute of Grassland Research of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hohhot, Inner Mongolia 010010, China; 3. South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong Province 510642, China; 4. Inner Mongolia Yitai Agricultural Services Co., Ltd, Hohhot, Inner Mongolia 010010, China)

Abstract: The experiment was designed to investigate the effects of the composite bacterial agent composed of *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis* and *Aspergillus niger* and its compounding with molasses or cellulase on the silage quality and microbial diversity of corn straw. A single-factor randomized design was adopted with four treatments: control group (CK), composite fungicide group (BC), composite fungus with molasses group (FT), and composite fungus with cellulase group (FX). Each group was replicated three times, and after 30-day fermentation at room temperature, the samples were opened and sampled to determine their nutrient composition, fermentation quality and microbial diversity. The results showed that compared with the CK group, the crude protein (CP) and crude ash (Ash) contents in BC, FT and FX groups increased significantly, while the

收稿日期:2025-07-03;修回日期:2025-08-01

基金项目:呼和浩特市科技计划项目农牧交错区玉米秸秆饲用化技术研发与示范(2023-农-6)资助

作者简介:马向东(2000-),男,回族,宁夏银川人,硕士研究生,主要从事饲料草料加工与利用研究, E-mail:12024131594@stu.nxu.edu.cn;

*通信作者 Author for correspondence, E-mail:Luqiang@nxu.edu.cn

neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) contents decreased significantly. The FX group had the highest contents of ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$, 9.13%DM) and acetic acid (AA, 1.95%DM). The Entropy Weight-TOPSIS evaluation indicated that the FX group had the best quality with a relative closeness degree (C_i) of 0.510. Microbial diversity analysis showed that BC, FT and FX groups significantly reduced community richness and diversity. At the phylum level, the dominant phylum in all groups was *Bacillota*, with the highest relative abundance in the FX group, followed by *Pseudomonadota* with the highest abundance in the CK group. At the genus level, the dominant genera in the CK group were mainly *Lentilactobacillus*, *Sporolactobacillus*, *Clostridium*, and *Lactiplantibacillus*, while the BC, FT and FX groups were dominated by *Lentilactobacillus*. In conclusion, the composite bacterial agent significantly improved the silage quality of corn stover and altered its microbial community structure, with the FX group (bacteria enzyme synergism) showing the best silage effect.

Key words: Corn straw; Silage; Bacterial enzyme synergism; Fermentation quality; Nutrient content; Microbial diversity

近年来,随着我国畜牧业的快速发展,青贮饲料供应短缺问题日益凸显。玉米(*Zea mays* L.)作为我国广泛种植的农作物,每年产生大量秸秆,常被焚烧、废弃或就地还田,这不仅造成环境污染,也导致资源严重浪费^[1-2]。青贮是储存新鲜饲草的重要技术,通过乳酸菌厌氧发酵将可溶性糖转化为乳酸,降低青贮饲料pH值并抑制有害微生物,从而保持和提升饲料营养价值,延长保存期^[3-4]。然而,玉米秸秆作为常见青贮原料,虽具有较高的营养价值,但也存在含水量偏低、可溶性碳水化合物含量少、乳酸菌附着量不足及缓冲能力强等特性,直接青贮往往难以达到预期效果^[5-7]。现有研究表明,外源添加发酵促进剂可有效加速发酵进程并改善青贮品质^[8-9]。例如,Li等^[10]研究表明,添加乳酸菌和糖蜜均能提高羊草(*Leymus chinensis*)青贮品质,具体表现为显著降低pH值和氨态氮含量,提高粗蛋白和水溶性碳水化合物含量,其中乳酸菌与糖蜜联合添加青贮效果最佳,可显著增加乳酸菌相对丰度,降低微生物多样性,抑制有害微生物生长。Zhao等^[11]发现,大豆渣与玉米秸秆混合青贮时添加乳酸菌和纤维素酶可优化发酵品质与微生物群落结构。在黄花苜蓿(*Medicago falcata* L.)中,乳酸菌和纤维素酶的复合添加可显著降低pH值、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维含量及氨态氮与总氮比值^[12]。董宇等^[13]研究显示,枯草芽孢杆菌与黑曲霉复配可改善甜高粱秸秆发酵品质,提升粗蛋白含量、乳酸与乙酸含量,降低中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量。史金红等^[14]的研究结果表明,植物乳杆菌、枯草芽孢杆菌和黑曲霉组成的复合发酵菌群可显著改善柠条(*Caragana korshinskii*)青贮的营养品质与木质纤维素降解效率。然而,现有研究多聚焦单一添加剂或复配组合的短期效果,而对复合菌

剂与碳源或酶制剂协同作用的研究鲜见报道。

基于此,本研究以内蒙古呼和浩特和林格尔县樊家窑乡地区玉米秸秆为原料,通过设置复合菌剂单施及与糖蜜、纤维素酶复配处理,分析不同添加剂对玉米秸秆青贮营养品质、发酵特性及微生物多样性的影响,以期筛选优质饲料添加剂组合,优化玉米秸秆青贮品质提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试玉米秸秆取自内蒙古呼和浩特市和林格尔县樊家窑乡试验田,为当地主栽品种‘先玉335’,于2024年10月收获后切短揉丝处理2~3 cm备用。复合菌剂由植物乳杆菌 *Lactobacillus plantarum* (OR591302)、枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* (OR591286) 和黑曲霉 *Aspergillus niger* (ARCC16404) 组成,各菌种活菌数均 $\geq 1 \times 10^7$ CFU $\cdot$ g $^{-1}$,纤维素酶活 ≥ 10000 U $\cdot$ g $^{-1}$,购自宁夏益润生物科技有限公司。纤维素酶和糖蜜购自赛罕区博尔实验仪器耗材经营部。

1.2 试验设计

试验采用单因素完全随机设计,设4个处理组,分别为对照组(CK);复合菌剂组(BC,添加植物乳杆菌、枯草芽孢杆菌和黑曲霉,各菌剂等比例添加5 g $\cdot$ kg $^{-1}$);复合菌+糖蜜组(FT,在BC基础上添加2%糖蜜);复合菌+酶制剂组(FX,在BC基础上添加2%纤维素酶)。各添加剂均置于20 mL无菌水中混匀,CK组添加等量无菌水。每组3次重复,将玉米秸秆与添加剂充分混匀,调节水分含量至65%,随后装入聚乙烯袋,每袋质量500 g,压实并真空

密封,在室温条件下青贮 30 d 后取样测定相关指标。

1.3 测定指标及其方法

1.3.1 营养成分 青贮样品在 105℃烘箱中杀青 30 min,随后于 65℃烘干 48 h 至恒重,测定干重并计算干物质(Dry matter, DM)含量。烘干样经粉碎过 40 目筛后用于测定营养成分,其中粗蛋白(Crude protein, CP)含量采用凯氏定氮法测定^[15];粗脂肪(Ether extract, EE)含量采用索氏提取法测定^[16];中性洗涤纤维(Neutral detergent fiber, NDF)和酸性洗涤纤维(Acid detergent fiber, ADF)含量采用 ANKOM2000i 纤维自动分析仪测定^[17];粗灰分(Crude ash, Ash)采用燃烧法测定^[4]。

1.3.2 发酵品质 称取 20 g 玉米青贮样品,加入 180 mL 蒸馏水,经高速匀浆机匀质 30 s,4 层纱布过滤后,取浸提液测定 pH 值、乳酸(Lactic acid, LA)、乙酸(Acetic acid, AA)和氨态氮(Ammonia nitrogen, NH₃-N)含量。其中 pH 值使用雷磁 PHS-3C pH 计测定;NH₃-N 含量采用苯酚-次氯酸钠比色法测定^[18];AA 和 LA 采用高效液相色谱法测定^[14]。色谱条件:色谱柱 Shodex Rspak KC-811,流动相 3 mmol·L⁻¹高氯酸,流速 1 mL·min⁻¹,进样量 5 μL,柱温 50℃。

1.3.3 微生物多样性 取 20 g 青贮样品,使用 E. Z. N. A. Soil DNA Kit 提取微生物总 DNA。经 1% 琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop2000 分光光度计检测纯度与浓度后,对 16S rRNA 基因 V3~V4 区进行 PCR 扩增,引物为 338F(5'-ACTCCTACGGGAG-GCAGCAG-3')和 806R(5'-GGACTACHVGGGT-WTCTAAT-3')。PCR 体系 20 μL,程序为 95℃预变性 3 min、27 个循环(95℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 30 s)、72℃延伸 10 min。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶回收纯化后,委托上海美吉生物使用 Illumina NextSeq 2000 平台进行双端测序。

1.4 构建综合得分评价方法

1.4.1 熵值法评价方法 建立标准化矩阵,计算公式见(1)~(2)正向指标:

$$y_{ij} = \frac{\chi_{ij} - \min(\chi_{ij})}{\max(\chi_{ij}) - \min(\chi_{ij})} + 0.0001 \quad (1)$$

负向指标:

$$y_{ij} = \frac{\max(\chi_{ij}) - \chi_{ij}}{\max(\chi_{ij}) - \min(\chi_{ij})} + 0.0001 \quad (2)$$

式中 x_{ij} 为原始数据。

采用熵值法计算每个指标的权重,计算公式见(3)~(6)。

$$P_{ij} = \frac{y_{ij}}{\sum_{i=1}^n y_{ij}} \quad (3)$$

$$e_j = -k \sum_{i=1}^n P_{ij} \ln P_{ij} \quad (4)$$

$$g_j = 1 - e_j \quad (5)$$

$$W_j = \frac{g_j}{\sum_{i=1}^n g_i} \quad (6)$$

式中 e_j 第 j 个指标的熵值; g_i 为差异系数; W_j 各指标权重。其中 $k=1/\ln n$, $k>0$, $0 \leq e_j \leq 1$, $\ln$ 是自然对数。

1.4.2 熵权-TOPSIS 法 计算正理想值的距离 D^+ 、负理想值的距离 D^- 以及不同处理青贮的相对贴近度 C_i 。 C_i 越高,样本综合品质越优。计算公式如(7)~(9)

$$D_i^+ = \sqrt{\sum_{j=1}^m (Z_{ij} - Z_j^+)^2} \quad (7)$$

$$D_i^- = \sqrt{\sum_{j=1}^m (Z_{ij} - Z_j^-)^2} \quad (8)$$

$$C_i = \frac{D_i^-}{D_i^+ + D_i^-} \quad (9)$$

式中 Z_j^+ 为正向理想解; Z_j^- 负向理想解; Z_{ij} 为归一化后的数据。

1.5 数据处理与方法

数据经 Excel 整理后,使用 SPSS 27.0 进行单因素方差分析和 LSD 多重比较。结果以“平均值±标准误差”表示, $P<0.05$ 为差异显著。微生物原始数据经 fastp(version 0.19.6)质控^[19]、FLASH(version 1.2.11)拼接^[20],利用 Qiime2^[21] 流程中的 DADA2^[22] 插件进行扩增子序列变体(Amplicon sequence variant, ASV)降噪处理,基于 Silva 16S rRNA 数据库(v138)进行物种分类注释,采用 mothur^[23] 软件计算 Alpha 多样性指数和 Beta 多样性,基于 Bray-curtis 距离进行主坐标分析(PCoA)以展示样本间微生物群落结构差异,并采用 PERMANOVA 非参数检验分析组间群落结构差异的显著性。从门到属水平丰度显著差异的菌群通过 LEfSe^[24] 分析($LDA>2$, $P<0.05$)筛选。使用冗余分析(Redundancy analysis, RDA)和 Spearman 相关性分析探究微生物群落与营养成分、发酵指标的关联性。

2 结果与分析

2.1 菌酶协同对玉米秸秆青贮营养成分的影响

由表 1 可知,BC,FT 和 FX 组的 CP 和 Ash 含量显著高于 CK 组 ($P<0.05$);BC,FT 和 FX

组的 NDF 含量较 CK 组分别降低了 10.84%DM,13.44%DM,5.44%DM;与 CK 组相比,BC,FT 和 FX 组的 ADF 含量显著下降 ($P<0.05$),但 FT 和 FX 两组间 ADF 含量无显著变化。

表 1 菌酶协同对玉米秸秆青贮营养成分的影响

Table 1 Effects of bacterial-enzyme synergism on the nutrient composition of corn straw silage

处理 Treatment	干物质 (Dry matter, DM)/ %FW	粗蛋白 (Crude protein, CP)/ %DM	粗灰分 (Crude ash, Ash)/ %DM	粗脂肪 (Ether extract, EE)/ %DM	中性洗涤纤维 (Neutral detergent fiber, NDF)/ %DM	酸性洗涤纤维 (Acid detergent fiber, ADF)/ %DM
CK	28.75±0.87 ^a	9.24±0.07 ^b	5.98±0.17 ^b	3.47±0.02 ^a	50.90±1.16 ^a	35.92±0.31 ^a
BC	26.45±0.39 ^a	9.99±0.26 ^a	6.62±0.15 ^a	3.63±0.17 ^a	45.38±1.2 ^{bc}	29.17±0.27 ^c
FT	28.13±0.83 ^a	10.04±0.07 ^a	6.54±0.03 ^a	3.66±0.03 ^a	44.06±0.63 ^c	30.91±1.08 ^{bc}
FX	27.22±0.50 ^a	10.42±0.15 ^a	6.75±0.16 ^a	3.73±0.12 ^a	48.13±1.58 ^{ab}	32.65±0.95 ^b

注:同列数据不同字母表示差异显著 ($P<0.05$);FW 表示鲜重,DM 表示干重。下同

Note: Different letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$); FW stands for fresh weight, DM stands for dry weight. The same as below

2.2 菌酶协同对玉米秸秆青贮发酵品质的影响

由表 2 可知,BC,FT 和 FX 组 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量均显著高于 CK 组 ($P<0.05$),FX 组 AA 含量显著高于

CK 组 ($P<0.05$),FX 组 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和 AA 含量最高,分别为 9.13%DM,1.95%DM。 pH 值和 LA 含量组间无显著差异。

表 2 菌酶协同对玉米秸秆青贮发酵品质的影响

Table 2 Effects of bacterial-enzyme synergism on the fermentation quality of corn straw silage

处理 Treatment	pH 值 pH value	氨态氮 (Ammonia nitrogen, $\text{NH}_3\text{-N}$)/%DM	乳酸含量 (Lactic acid, LA)/%DM	乙酸含量 (Acetic acid, AA)/%DM
CK	3.73±0.02 ^a	4.62±0.47 ^c	4.52±0.50 ^a	0.84±0.25 ^b
BC	3.81±0.15 ^a	6.70±0.41 ^b	3.61±0.16 ^a	1.60±0.31 ^{ab}
FT	3.81±0.02 ^a	7.18±0.59 ^b	3.72±0.31 ^a	1.41±0.17 ^{ab}
FX	3.80±0.06 ^a	9.13±0.83 ^a	4.23±0.13 ^a	1.95±0.41 ^a

2.3 熵权-TOPSIS 综合评价

本研究选择 DM, Ash, CP, EE, LA, AA, $\text{NH}_3\text{-N}$, pH , NDF, ADF 共 10 个代表性指标,采用熵权-TOPSIS 法进行综合品质评价。由表 3 可知,利用熵权法计算各指标权重,结果显示各指标权重分布于 7.2404%~18.9166%,其中 pH 值权

重最高(18.9166%),其次为乳酸和乙酸。由此计算得到的青贮饲料品质综合评价排序见表 4,FX 组的 C_i 最高($C_i=0.510$),表明其综合品质最优。BC 组次之($C_i=0.484$)。而 FT 组因纤维降解效果较小且 pH 值较高,综合得分最低($C_i=0.374$)。

表 3 熵权法权重计算结果

Table 3 Entropy weight method weight calculation results

指标 Index	熵值 Entropy value	差异系数 Variance factor	权重 Weighting/%
粗灰分 Ash	0.8018	0.1982	7.2404
粗蛋白 CP	0.7942	0.2058	7.5169
粗脂肪 EE	0.7948	0.2052	7.4938
乳酸 LA	0.6586	0.3414	12.4691
乙酸 AA	0.6808	0.3192	11.6596
氨态氮 $\text{NH}_3\text{-N}$	0.7709	0.2291	8.3687
干物质 DM	0.7314	0.2686	9.8115
pH	0.4820	0.5180	18.9166
中性洗涤纤维 NDF	0.7667	0.2333	8.5190
酸性洗涤纤维 ADF	0.7808	0.2192	8.0043

表 4 菌酶协同对玉米秸秆青贮饲料品质综合评价

Table 4 Comprehensive evaluation of corn straw silage quality affected by bacterial-enzyme synergy

处理 Treatment	正理想解距离 Positive ideal solution distance (D^+)	负理想解距离 Negative ideal solution distance (D^-)	相对接近度 Relative proximity (C_i)	排序 Sort
CK	0.246	0.227	0.480	3
BC	0.224	0.210	0.484	2
FT	0.254	0.152	0.374	4
FX	0.194	0.202	0.510	1

2.4 菌酶协同对玉米秸秆青贮微生物多样性的影响

2.4.1 菌酶协同对玉米秸秆青贮微生物 Alpha 多样性的影响 各组青贮微生物 Alpha 多样性指数见图 1。各处理组覆盖度指数均为 0.999, 说明测序结果合理, 充分覆盖微生物群落。CK 组的 Chao 1 指

数和 Shannon 指数显著高于处理组 ($P < 0.05$), 表明 CK 组微生物物种更丰富且分布均匀, Shannon 指数数值由高到低的顺序依次为 CK > FT > BC > FX, CK 与 FT, BC 组间差异极显著 ($P < 0.01$)。CK 组的 Simpson 多样性指数最低, 为 0.11, 与 BC, FX 组间差异极显著 ($P < 0.01$)。

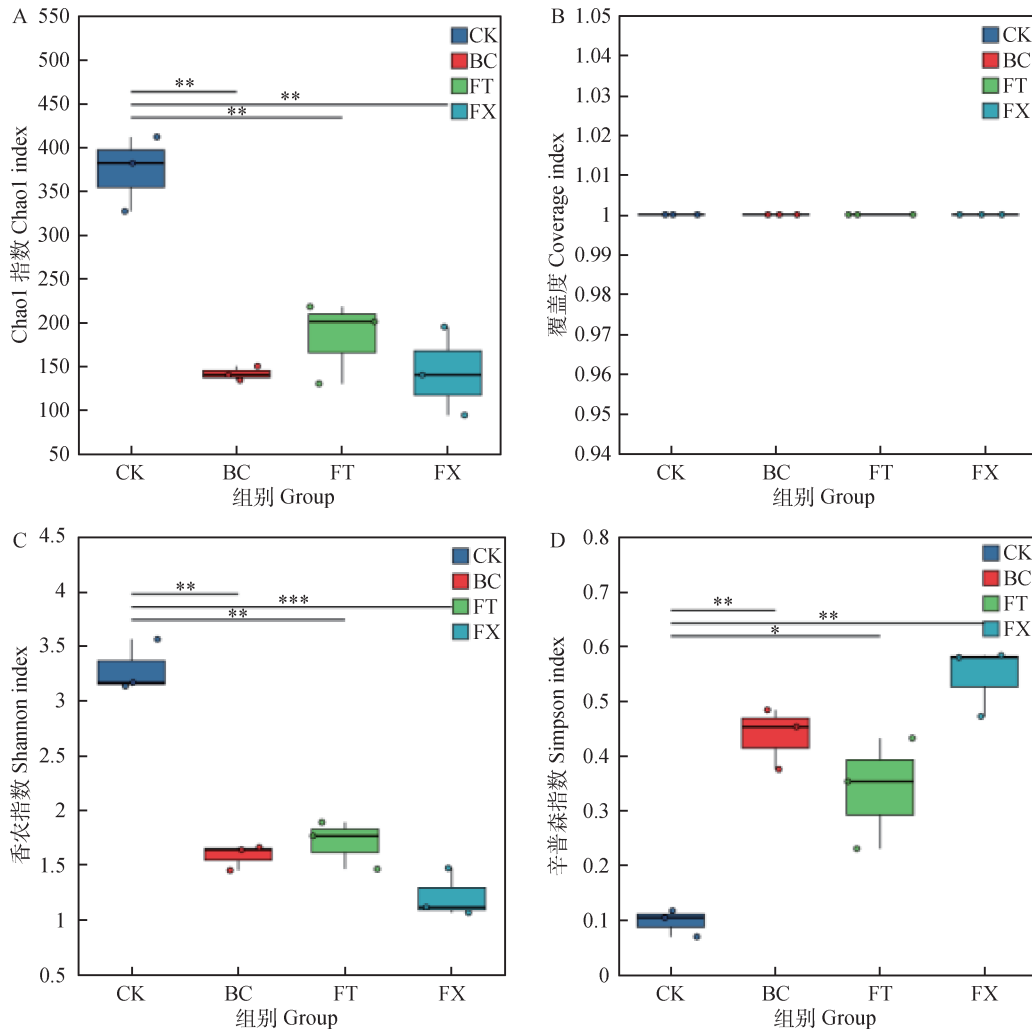


图 1 菌酶协同对玉米秸秆青贮饲料 Alpha 多样性的影响

Fig. 1 Effects of bacterial-enzyme synergism on the Alpha diversity of corn straw silage

注: *, **, *** 分别代表 $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ 。下同

Note: *, **, and *** represent $P < 0.05$, $P < 0.01$, and $P < 0.001$, respectively. The same as below

2.4.2 菌酶协同对玉米秸秆青贮微生物 Beta 多样性的影响 不同处理组青贮样品 PCoA 结果如图 2 所

示, PC1 和 PC2 对结果差异的贡献度的分别为 51.84% 和 18.50%, CK 与不同添加剂组的个体之间存在显著

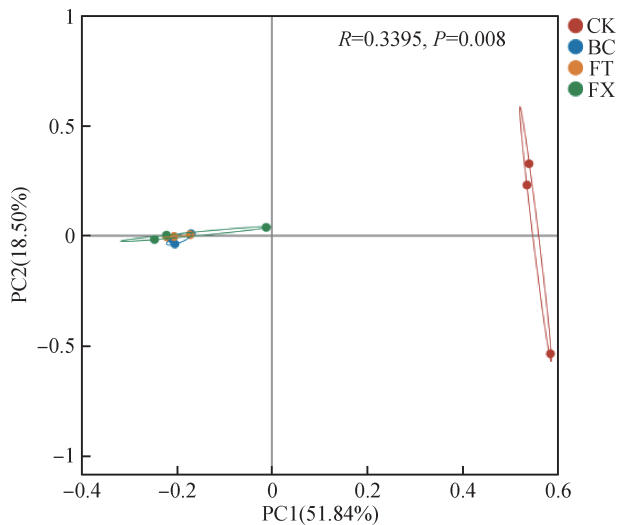


图2 玉米秸秆青贮饲料微生物群落PCoA分析图

Fig. 2 PCoA analysis of the microbial community of corn straw silage

分离。此外,BC,FT,FX组坐标距离最近,没有明显分离,说明BC,FT,FX组微生物群落的组成及丰度相似。Adonis检验发现 $R=0.3395$, $P=0.008$,表明不同添加剂间青贮微生物群落组成具有极显著差异。

2.4.3 菌酶协同对玉米秸秆青贮微生物菌群的影响 如图3所示,Venn图展示了不同添加剂处理下玉米秸秆青贮饲料中独特或共有的物种,其中50种是所有处理共有的,而CK,BC,FT,FX处理特有的种类分别是72,18,35和31种。

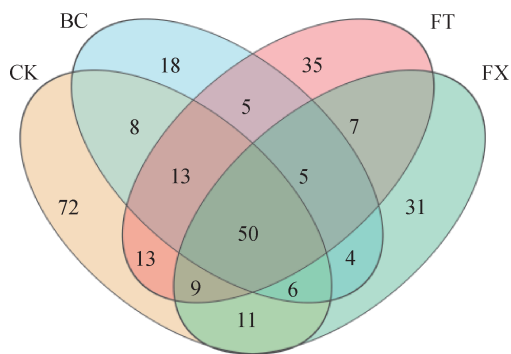


图3 菌酶协同处理玉米秸秆青贮饲料微生物物种组成的韦恩图分析

Fig. 3 Venn diagram analysis of microbial species composition of corn straw silage treated by bacterial-enzyme synergy

2.5 菌酶协同对玉米秸秆青贮微生物菌群相对丰度的影响

微生物群落门水平的组成如图4A和4C所示,

芽孢杆菌门(Bacillota)和假单胞菌门(Pseudomonadota)是玉米秸秆青贮过程中的优势菌门。其中BC,FT,FX组的芽孢杆菌门相对丰度分别为97.04%,98.36%,98.97%,相较于CK分别提高7.36%,8.68%,9.29%;而BC,FT,FX组的假单胞菌门的相对丰度分别为2.78%,1.55%,0.92%,相比CK组分别降低了7.33%,8.56%,9.19%。

微生物群落属水平的组成如图4B和4D所示,各处理组的优势菌属不同。CK组优势菌属主要以布氏乳杆菌(*Lentilactobacillus*)、芽孢乳杆菌属(*Sporolactobacillus*)、梭菌属(*Clostridium*)和植物乳杆菌属(*Lactiplantibacillus*)为主,而BC,FT,FX组以布氏乳杆菌为主。其中,与CK组相比,BC,FT,FX组布氏乳杆菌的相对丰度分别高了80.89%,83.00%,86.58%;而芽孢乳杆菌属的相对丰度分别低了23.18%,24.14%,24.70%。梭菌属在CK,BC,FT和FX组中的占比依次为18.00%,0.64%,0.71%,0.02%;植物乳杆菌属在CK,BC,FT和FX组中的占比依次为15.90%,0.92%,0.54%,0.03%。

2.6 玉米秸秆青贮属水平上微生物群落与发酵品质、营养成分含量的关联分析

玉米秸秆青贮饲料微生物与发酵品质、营养成分含量的冗余分析如图5A所示。RDA1和RDA2轴分别解释了93.24%,4.31%的方差,两者共解释了97.55%的方差。布氏乳杆菌(*Lentilactobacillus*)相对丰度与EE,AA,CP,Ash,NH₃-N含量以及pH值等呈正相关,与ADF,NDF,DM和LA含量等呈负相关;芽孢乳杆菌属、梭菌属、植物乳杆菌属、未分类的肠杆菌科和伴生乳杆菌属相对丰度与ADF,NDF,DM和LA含量等呈正相关,与EE,AA,CP,Ash,NH₃-N含量以及pH值等呈负相关。

基于属水平选择相对丰度排名前10的代表性菌属与发酵品质、营养成分含量进行Spearman相关性分析结果如图5B所示。伴生乳杆菌属、植物乳杆菌属和片球菌属与CP含量呈极显著负相关,与NH₃-N含量呈极显著负相关,与Ash,EE含量呈显著负相关。埃希氏菌-志贺氏菌与NH₃-N含量呈显著负相关。此外,魏斯氏菌属与NH₃-N和AA含量呈负相关。

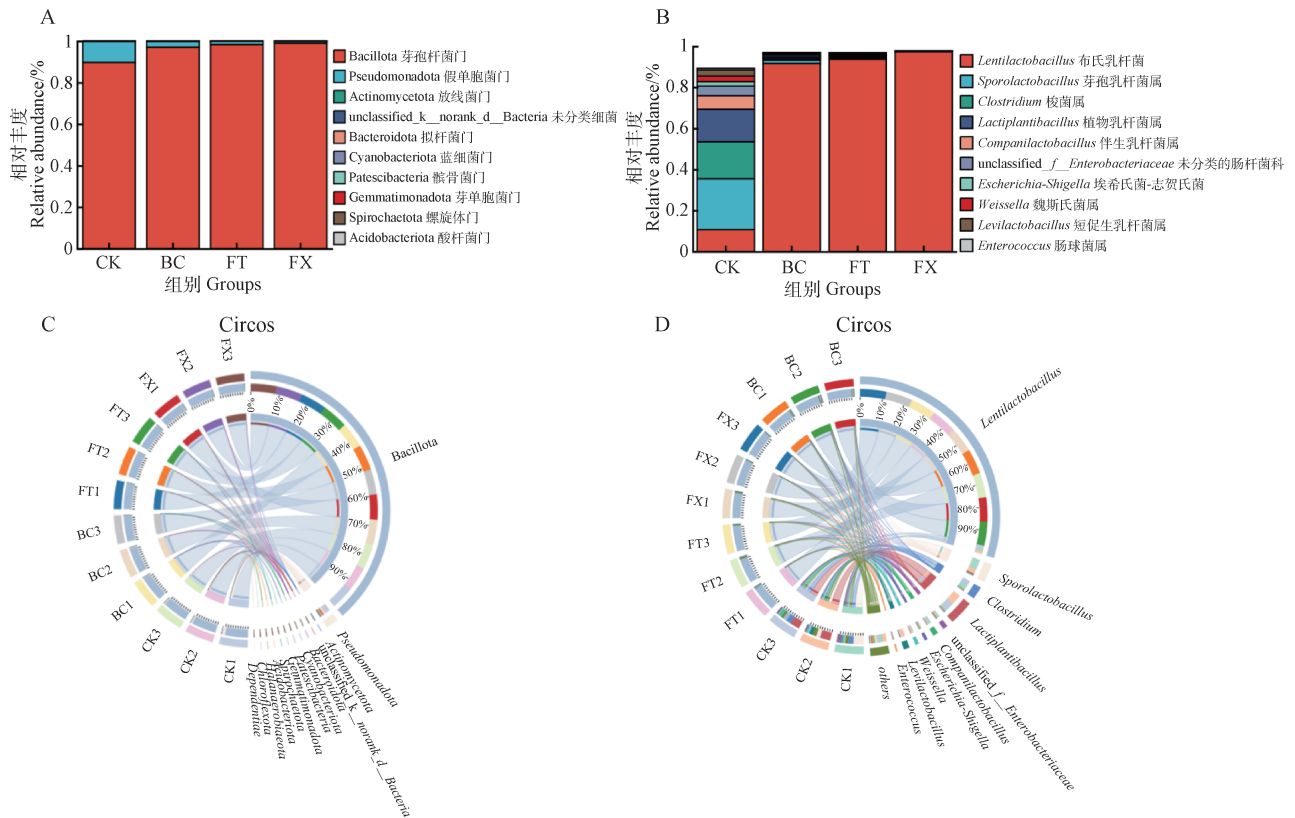


图 4 (A)和(C)为菌酶协同对玉米秸秆青贮微生物门水平群落组成分析,(B)和(D)为菌酶协同对玉米秸秆青贮微生物属水平群落组成分析

Fig. 4 (A) and (C) show the microbial community composition at the phylum level in corn straw silage treated by the synergistic action of bacteria and enzyme, while (B) and (D) present the microbial community composition at the genus level in corn straw silage treated by the synergistic action of bacteria and enzyme

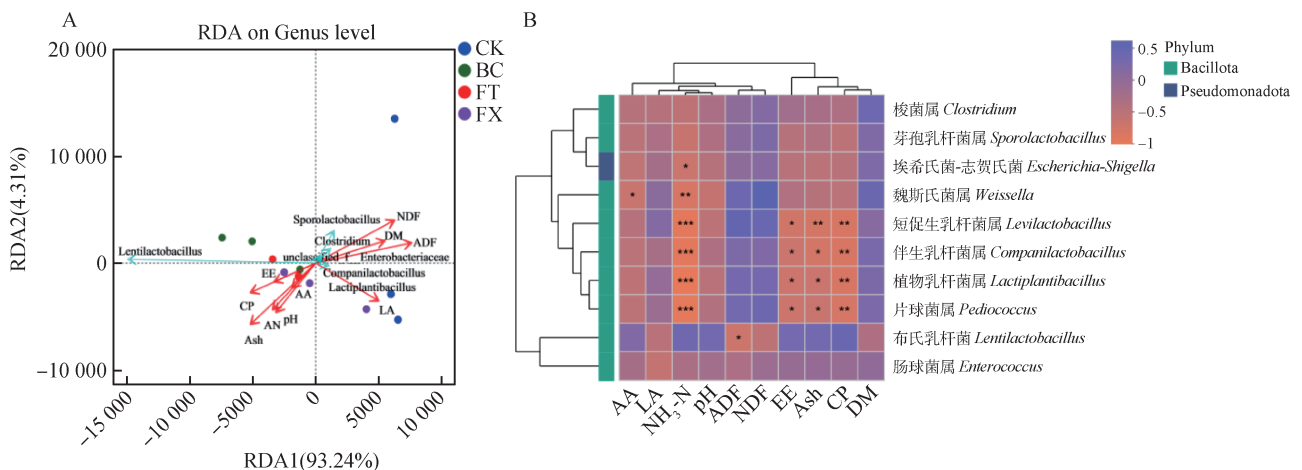


图 5 (A)青贮饲料微生物与发酵品质、营养成分含量的冗余分析;(B)微生物群落的相关性分析

Fig. 5 (A) Redundancy analysis of silage microorganisms with fermentation quality and nutrient content; (B) correlation analysis of microbial communities

3 讨论

3.1 菌酶协同对玉米秸秆青贮的营养成分的影响

CP 含量是衡量饲料营养价值的关键参数,CP 含量越高,营养价值相对越高。本研究中 BC, FT

和 FX 组的 CP 含量较 CK 组显著提升,其中 FX 组 CP 含量最高,为 10.42%。Ma 等^[25]在苜蓿与稻草混合青贮研究中证实,乳酸菌与纤维素酶的协同作用显著提升青贮饲料的 CP 含量。这与本研究结果一致,这可能是因为植物乳杆菌快速产酸将 pH 值

降至3.80,有效抑制蛋白质水解酶的活性,同时糖蜜作为外源碳源,可为乳酸菌提供发酵底物。

NDF和ADF含量是评估青贮饲料纤维组分的常用指标,其含量直接影响被采食率和消化率。含量越低,表明青贮饲料的饲草价值越高^[26]。史金红^[14]在对柠条进行由植物乳杆菌、枯草芽孢杆菌、黑曲霉组成的复合菌发酵处理后,柠条的中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维显著下降。王乐乐等^[27]在菌酶协同发酵香菇菌糠的研究进程中,选用植物乳杆菌、黑曲霉、嗜酸乳杆菌、布氏乳杆菌、产朊假丝酵母等菌种联合纤维素酶、木聚糖酶等酶制剂,研究表明其纤维组分同样呈现出明显的下降趋势。这主要归因于复合菌剂中的各菌种发挥了协同效应。黑曲霉在青贮发酵过程中产生蛋白酶、纤维素酶、半纤维素酶和果胶酶等多种水解酶类,这些酶可以打破半纤维素和木质素之间的物理屏障,从而提高纤维消化率和营养效率^[28-29]。植物乳杆菌在发酵过程中,能够快速产生乳酸,降低发酵体系的pH值。在酸性环境下,一方面可以抑制有害微生物的生长,减少其对营养物质的消耗;另一方面,适宜的酸性条件能够增强纤维素酶等水解酶的活性,进一步促进纤维的降解^[30]。本研究中复合菌剂使BC、FT和FX组NDF和ADF含量降低。

综上所述,由植物乳杆菌、枯草芽孢杆菌、黑曲霉组成的复合菌剂与纤维素酶协同作用,能够有效保留玉米秸秆青贮饲料的营养物质,通过降解饲料中的纤维成分,显著改善了青贮饲料的适口性与消化利用率,最终实现青贮饲料综合品质的提升。

3.2 菌酶协同对玉米秸秆青贮的发酵品质的影响

pH值是评估青贮饲料发酵品质的关键指标。适宜的pH范围3.80~4.20可有效抑制有害微生物繁殖并维持饲料营养价值^[31-33]。本研究中BC、FT和FX组pH均低于4.20,处于理想发酵区间,表明发酵良好、易保存^[32-33]。LA作为青贮发酵的核心产物,其含量高低与乳酸菌的代谢活性密切相关,LA的累积可降低青贮的pH值,有效抑制有害微生物生长与代谢,从而有利于青贮饲料的品质提升和保存^[4,32]。本研究中,各处理组LA含量无显著差异,说明添加复合菌剂未能显著促进乳酸发酵进程。AA可以有效抑制有害微生物的生长,增强青贮饲料的有氧稳定性。BC、FT和FX组AA含量相较于CK均显著增加且FX组最高,这一结论与Zhang等^[34]、Fang等^[35]结果一致。

3.3 菌酶协同对玉米秸秆青贮的微生物群落组成分析

发酵进程本质上是由多种微生物构成的动态共生体系,其群落结构组成与多样性影响青贮品质与饲料营养成分^[36]。 α 多样性可以反映样本中微生物群落物种多样性及物种丰富度。Chao1指数用来衡量样本中的物种丰富度,Chao1指数越大,丰富度越高。Shannon和Simpson指数用来反映微生物群落多样性,Shannon指数越大,群落多样性越高;Simpson指数越大,群落多样性越低^[8,37]。本研究中,BC、FT和FX组的Chao1指数均极显著低于CK组,BC、FT组的Shannon指数极显著低于CK组,而FX组极显著低于CK组,且其中FX组各指数均最低,说明添加复合菌剂促进乳酸菌的增殖,抑制有害微生物的增殖。这与Xian等^[38]的研究结果一致。

通过分析各组在门水平的微生物丰度,发现芽孢杆菌门为主要的微生物菌门,其次是假单胞菌门。这一结果与吴丽娟等^[39]研究在优势门水平上相似。在属水平上,CK组优势菌属包括布氏乳杆菌、芽孢乳杆菌属、梭菌属和植物乳杆菌属。其中梭菌属相对丰度为18.00%,梭菌属能将蛋白质分解为氨态氮和具酸臭味的丁酸,引发饲料变质,降低青贮品质^[40]。CK组植物乳杆菌属相对丰度最高15.9%,处理组均低于1%,其强化青贮体系中的乳酸发酵,让pH值迅速降低,且与伴生乳杆菌属形成协同以增强天然发酵稳定性。肠杆菌科及埃希氏菌-志贺氏菌作为兼性厌氧类群,在青贮发酵初期可快速利用原料中的糖类物质启动代谢,过程中释放二氧化碳;而当环境进入缺氧状态时,它们则通过还原丙酮酸或乳酸,生成乙酸与乙醇等代谢产物,以此适应厌氧环境并维持自身代谢活动^[41]。BC、FT和FX组则以布氏乳杆菌作为第一优势菌属。布氏乳杆菌属于异型乳酸菌,能够将乳酸转化为乙酸,降低pH值,抑制酵母菌和霉菌生长^[42]。其中FX组布氏乳杆菌相对丰度较BC组提升5.69%,这可能由于纤维素酶降解木质纤维素产生的葡萄糖,为布氏乳杆菌提供了更为充足的碳源,促进其大量繁殖^[43]。在CK、BC、FT及FX各组中,魏斯氏菌属均有一定相对丰度检出,且CK组的相对丰度显著高于其他处理组。这一差异主要源于各处理组所添加的外源制剂对魏斯氏菌属的增殖产生了抑制效应,从而导致其在处理组中的丰度低于对照组。

4 结论

本研究发现,与对照组相比,复合菌剂组(含植物乳杆菌、枯草芽孢杆菌、黑曲霉),复合菌+糖蜜组和复合菌+纤维素酶组可使玉米秸秆青贮中粗蛋白和粗灰分含量升高,中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量降低。复合菌+纤维素酶组的氨态氮和乙酸含量最高,分别为9.13%DM和1.95%DM,且pH值维持在理想范围。基于对10个青贮指标的熵权-TOPSIS评价发现,复合菌+纤维素酶组的青贮品质最优,复合菌剂组青贮的品质次之。通过微生物多样性结果进一步发现,复合菌剂组,复合菌+糖蜜组和复合菌+纤维素酶组显著降低了群落丰富度和多样性,门水平上芽孢杆菌门成为优势菌门,属水平上布氏乳杆菌成为复合菌剂组,复合菌+糖蜜组和复合菌+纤维素酶组的优势菌属,对照组优势菌属包括布氏乳杆菌、芽孢乳杆菌属、梭菌属和植物乳杆菌属。综合分析得出,植物乳杆菌、枯草芽孢杆菌、黑曲霉组成的复合菌剂与纤维素酶联合青贮效果最佳,可在玉米秸秆青贮中应用。

参考文献

- [1] YAN Y H, LI X M, GUAN H, et al. Microbial community and fermentation characteristic of *Italian ryegrass* silage prepared with corn straw and lactic acid bacteria[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 279: 166-173
- [2] WANG X L, SONG J M, LIU Z H, et al. Fermentation quality and microbial community of corn straw or rice straw silage mixed with soybean curd residue[J]. *Animals*, 2022, 12(7): 919
- [3] 姚美玲, 王洪宝, 林秀蔚, 等. 添加不同水平糖蜜和复合菌酶制剂对鲜食玉米秸秆青贮营养价值及发酵品质的影响[J]. *中国饲料*, 2024(21): 137-141
- [4] YAO M L, WANG H B, LIN X W, et al. Effects of different levels of molasses and complex bacterial enzyme preparations on nutritional value and fermentation quality of fresh corn stalk silage[J]. *China Feed*, 2024(21): 137-141
- [5] 田莉, 陈虞超, 郭生虎, 等. 不同添加剂对芦竹青贮饲料营养成分及发酵品质的影响[J]. *饲料研究*, 2025(9): 129-132
- [6] TIAN L, CHEN Y H, GUO S H, et al. Effects of different additives on nutritional composition and fermentation quality of *Arundo donax* silage[J]. *Feed Research*, 2025, (9): 129-132
- [7] ZENG T, LI X L, GUAN H, et al. Dynamic microbial diversity and fermentation quality of the mixed silage of corn and soybean grown in strip intercropping system[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 313: 123655
- [8] 任志花, 贾玉山, 卢强, 等. 添加剂对紫花苜蓿营养成分与发酵品质的影响[J]. *草学*, 2020(2): 26-30
- [9] REN Z H, JIA Y S, LU Q, et al. Effects of additives on the nutritional components and fermentation quality of alfalfa[J]. *Journal of Grassland and Forage Science*, 2020, (2): 26-30
- [10] 卓兴良, 王磊, 玉柱. 基于主成分分析和隶属函数法评价乳酸菌添加剂和收获时期对天然牧草青贮质量的影响[J]. *动物营养学报*, 2023, 35(7): 4719-4729
- [11] ZHUO X L, WANG L, YU Z. Effects of lactic acid bacteria additives and harvest periods on quality of natural forage silage based on principal component analysis and membership function analysis[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2023, 35(7): 4719-4729
- [12] 陈金钰, 田汉晨, 刘金洋, 等. 苹果酸和柠檬酸对黄梁木叶青贮品质及微生物多样性的影响[J]. *动物营养学报*, 2025, 37(2): 1312-1324
- [13] CHEN J Y, TIAN H C, LIU J Y, et al. Effects of malic acid and citric acid on silage quality and microbial diversity of *neolamarckia cadamba* leaves[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2025, 37(2): 1312-1324
- [14] 柴艳, 张荟荟, 朱昊, 等. 青贮饲料添加剂的研究进展[J]. *饲料研究*, 2025, 48(1): 223-227
- [15] CHAI Y, ZHANG H H, ZHU H, et al. Research progress of silage additives[J]. *Feed Research*, 2025, 48(1): 223-227
- [16] 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
- [17] ZHAO C, WANG L H, MA G G, et al. Cellulase interacts with lactic acid bacteria to affect fermentation quality, microbial community, and ruminal degradability in mixed silage of soybean residue and corn straw[J]. *Animals*, 2021, 11(2): 334
- [18] 侯鑫狄, 侯美玲, 贾玉山, 等. 添加乳酸菌和纤维素酶对黄花苜蓿青贮品质的影响[J]. *中国草地学报*, 2017, 39(6): 95-98, 105
- [19] HOU X D, HOU M L, JIA Y S, et al. Effects of adding lactic acid bacteria and cellulose on silage quality of *Medicago falcata* [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2017, 39(6): 95-98, 105
- [20] 董宇, 蔡宏宇, 马艳, 等. 枯草芽孢杆菌与黑曲霉对甜高粱秸秆发酵效果的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2024, 60(2): 323-328
- [21] DONG Y, CAI H Y, MA Y, et al. Effect of *Bacillus subtilis* and *Aspergillus niger* on the fermentation of sweet sorghum stover[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2024, 60(2): 323-328
- [22] 史金红. 复合发酵菌群对柠条青贮饲料品质及木质纤维素降解的影响[D]. 银川: 宁夏大学, 2024: 33
- [23] SHI J H. Construction of complex fermentation flora and its effect on lignocellulose degradation of *Caragana* [D]. Ningxia: Ningxia University, 2024: 33
- [24] ZHOU T, LEI X, LUO Y, et al. High temperatures and antibacterial plant additives change the fermentation quality, free amino acids and lactic acid bacteria fermentation type in *Caragana korshinskii* silage[J]. *BMC Microbiology*, 2025, 25(1): 437
- [25] TANG W, LIAO L X, XIAO Y, et al. Epicuticular wax of sweet sorghum influenced the microbial community and fermentation quality of silage[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 960857
- [26] 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
- [27] 高文婧, 罗雪宁, 张佳俊, 等. 不同添加菌剂对油菜与水稻秸秆混合青贮发酵品质的影响[J]. *中国草地学报*, 2025, 47(1): 141-148
- [28] GAO W J, LUO X N, ZHANG J J, et al. Effects of different bacterial additives on the fermentation quality of mixed silage of oilseed rape and rice straw[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2025, 47(1): 141-148
- [29] CHEN S, ZHOU Y, CHEN Y, et al. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(17):

- i884-i890
- [20] MAGOC T, SALZBERG S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies [J]. *Bioinformatics* (Oxford. Print), 2011, 27(21): 2957-2963
- [21] SEGATA N, IZARD J, WALDRON L, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation [J]. *Genome Biology*, 2011, 12: 1-18
- [22] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996-998
- [23] STACKEBRANDT E, GOEBEL B M. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1994, 44(4): 846-849
- [24] WANG Q, GARRITY G M, TIEDJE J M, et al. Naive bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5261-5267
- [25] MA J, FAN X M, WU T T, et al. Lactic acid bacteria and cellulase improve the fermentation characteristics, aerobic stability and rumen degradation of mixed silage prepared with amaranth and rice straw [J]. *Fermentation*, 2023, 9(9): 853
- [26] 张秀芬, 韦巧云, 蒋娟娟, 等. 混合型乳酸菌制剂对两种菠萝叶青贮品质的影响 [J]. *饲料研究*, 2025(10): 120-123
- ZHANG X F, WEI Q Y, JIANG J J, et al. Effect of mixed lactic acid bacteria preparation on silage quality of two varieties of pineapple leaves [J]. *Feed Research*, 2025, (10): 120-123
- [27] 王乐乐, 秦荣艳, 阿不夏合满·穆巴拉克, 等. 菌酶协同发酵香菇菌糠复合制剂的筛选研究 [J]. *饲料研究*, 2022, 45(17): 58-63
- WANG L L, QIN R Y, ABUSHIMAN M, et al. Study on screening of compound preparation of *Lentinus edoides* chaff fermented by bacterial enzyme [J]. *Feed Research*, 2022, 45(17): 58-63
- [28] 韩俊伟, 张璐璐, 刘建新. 玉米秸秆饲料化预处理研究进展 [J]. *饲料工业*, 2025, 46(11): 155-160
- HAN J W, ZHANG L L, LIU J X. Research progress on feed pretreatment of corn straw [J]. *Feed Industry*, 2025, 46(11): 155-160
- [29] FAN Z, CHEN T, CAI G, et al. Effect of *Aspergillus niger* fermentation on the metabolites in corn stalks [J]. *Fermentation*, 2023, 9(1): 50
- [30] 李双明, 张力, 闫云峰, 等. 纤维素分解菌与同质型乳酸菌联合接种对青贮玉米发酵品质、有氧稳定性、酶活性和瘤胃降解率的影响 [J]. *动物营养学报*, 2024, 36(11): 7185-7195
- LI S M, ZHANG L, YAN Y F, et al. Effects of co-inoculation of cellulose decomposition bacteria and homogenous lactic acid bacteria on fermentation quality, aerobic stability, enzyme activity and ruminal degradability of silage maize [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2024, 36(11): 7185-7195
- [31] JUNG J S, WONG J W C, SOUNDHARRAJAN I, et al. Changes in microbial dynamics and fermentation characteristics of alfalfa silage: A potent approach to mitigate greenhouse gas emission through high-quality forage silage [J]. *Chemosphere*, 2024, 362: 142920
- [32] 郑敏娜, 康佳惠, 邹臻阳, 等. 黄花草茎叶与青贮玉米混合比例对青贮质量和微生物多样性的影响 [J]. *草地学报*, 2024, 32(12): 3962-3972
- ZHENG M N, KANG J H, ZOU C Y, et al. Effects of ratio of daylily stem and leaf mixed with corn silage on the quality of silage and microbial diversity [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2024, 32(12): 3962-3972
- [33] 朱欣, 王佳楚函, 李龙兴, 等. 不同添加剂对紫花苜蓿与燕麦混贮品质及微生物群落的影响 [J]. *中国畜牧杂志*, 2025, 61(7): 344-348
- ZHU X, WANG J C H, LI L X, et al. Effects of different additives on quality and microbial community of alfalfa and oat mixed silage [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2025, 61(7): 344-348
- [34] ZHANG G N, FANG X P, FENG G Z, et al. Silage fermentation, bacterial community, and aerobic stability of total mixed ration containing wet corn gluten feed and corn straw prepared with different additives [J]. *Animals*, 2020, 10(10): 1775
- [35] FANG D, DONG Z H, WANG D L, et al. Evaluating the fermentation quality and bacterial community of high-moisture whole-plant quinoa silage ensiled with different additives [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 132(5): 3578-3589
- [36] LI J J, LI Z, SHANG S L, et al. Effect of additives and moisture on the fermentation quality and bacterial community of high-moisture ear corn [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1251946
- [37] 王启芝, 周清玲, 周志扬, 等. 不同添加剂组合对两伐桑枝青贮饲料发酵品质及微生物多样性的影响 [J]. *饲料工业*, 2025, 46(4): 132-140
- WANG Q Z, ZHOU Q L, ZHOU Z Y, et al. Effects of different additive combinations on fermentation quality and microbial diversity of two-cutting mulberry branch silage [J]. *Feed Industry*, 2025, 46(4): 132-140
- [38] XIAN Z Y, WU J Q, DENG M, et al. Effects of cellulase and *Lactiplantibacillus plantarum* on the fermentation parameters, nutrients, and bacterial community in *Cassia alata* silage [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 926065
- [39] 吴丽娟, 欧翔, 连海, 等. 4种添加剂对饲料桑与脐橙渣混贮品质及微生物多样性的影响 [J]. *草业科学*, 2024, 41(7): 1736-1746
- WU L J, OU X, LIAN H, et al. Effects of compound additives on the quality and microbial diversity of mulberry and navel orange residue mixed silage [J]. *Pratacultural Science*, 2024, 41(7): 1736-1746
- [40] SU R N, NI K K, WANG T W, et al. Effects of ferulic acid esterase-producing *Lactobacillus fermentum* and cellulase additives on the fermentation quality and microbial community of alfalfa silage [J]. *PeerJ*, 2019, 7: e7712
- [41] KARAYANNIS D, VASILAKIS G, CHARISTEIDIS I, et al. Screening of new industrially important bacterial strains for 1, 3-propanediol, 2, 3-butanediol and ethanol production through biodiesel-derived glycerol fermentations [J]. *Microorganisms*, 2023, 11(6): 1424
- [42] 马伊丹, 纪鹏, 安清聪, 等. 不同乳酸菌青贮剂对桥单6号全株玉米青贮品质的影响 [J]. *养殖与饲料*, 2024, 23(1): 41-46
- MA Y D, JI P, AN Q C, et al. Effects of lactic acid bacteria additives on the quality of whole plant corn silage of Qiaodan 6 [J]. *Animals Breeding and Feed*, 2024, 23(1): 41-46
- [43] 王红梅, 母宇辉, 宋跃君, 等. 膨化预处理对菌酶协同发酵玉米秸秆微贮饲料发酵品质和营养价值的影响 [J]. *动物营养学报*, 2025, 37(4): 2739-2749
- WANG H M, MU Y H, SONG Y J, et al. Effects of extrusion pretreatment on fermentation quality and nutritional value of corn stalk microbial ensilage by bacteria-enzyme cooperative fermentation [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2025, 37(4): 2739-2749