

DOI:10.11686/cyxb2024317

http://cyxb.magtech.com.cn

孔天赐, 马学青, 贺晨帮, 等. 青贮玉米真菌性病害对青贮发酵微生物多样性的影响. 草业学报, 2025, 34(7): 95—106.

KONG Tian-ci, MA Xue-qing, HE Chen-bang, et al. Effects of fungal diseases of silage maize on microbial diversity of silage fermentation. Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(7): 95—106.

青贮玉米真菌性病害对青贮发酵微生物多样性的影响

孔天赐¹, 马学青¹, 贺晨帮², 樊泰延¹, 芦光新¹, 祁鹤兴^{1*}

(1. 青海大学农牧学院, 青海 西宁 810016; 2. 青海大学农林科学院, 青海 西宁 810016)

摘要:为探究青贮玉米真菌性病害对青贮发酵微生物多样性的影响,以CK(未发生任何病害的青贮玉米)、YLG(发生链格孢叶斑病青贮玉米)、YM(发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病青贮玉米)、YL(发生瘤黑粉病青贮玉米)、YX(发生锈病青贮玉米)为研究对象,每个处理3个重复。青贮发酵40 d后,采用Illumina扩增子测序技术分析各样品微生物多样性。分析发现各青贮玉米样品微生物结构由6门、50目、164属真菌和11门、43目、123属细菌组成。真菌群落中子囊菌门和担子菌门是各样品优势菌门,在各样本中的总丰度达90%以上;镰刀菌属和念珠菌属丰度在发生病害组高于未发生病害组,青霉菌属和曲霉菌属丰度在发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病和锈病组高于未发生病害组,发生病害的青贮玉米中威克汉姆酵母属丰度均低于健康组。细菌群落中厚壁菌门和变形菌门是各样品优势菌门,在各样本中的总丰度达99%以上;未发生病害组中肠球菌属、魏斯氏菌属丰度均高于发生病害组;链球菌属仅出现在未发生病害组中,相对丰度为0.003%。本研究明确了不同病害玉米青贮样本中微生物群落结构及各优势菌属,并发现真菌性病害会导致致病菌丰度增加,使得肠球菌属、魏斯氏菌属、链球菌属丰度降低,破坏青贮发酵环境,影响发酵过程正常进行,从而可能导致青贮饲料品质下降,为后续青贮玉米品质研究提供了理论依据。

关键词:青贮玉米;病原真菌;微生物多样性;Illumina测序

Effects of fungal diseases of silage maize on microbial diversity of silage fermentation

KONG Tian-ci¹, MA Xue-qing¹, HE Chen-bang², FAN Tai-yan¹, LU Guang-xin¹, QI He-xing^{1*}

1. College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810016, China; 2. Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Qinghai University, Xining 810016, China

Abstract: This research explored the effects of fungal diseases of silage maize on microbial diversity and community structure of maize silage during fermentation. Fermentation of maize silage without any disease (CK) was compared with that of silage maize infected by *Alternaria* leaf spot disease (YLG), *Bipolaris sorokiniana* leaf spot disease (YM), *Ustilago maydis* silage maize (YL) and common rust (YX), with three replicates per treatment. After 40 days of silage fermentation, Illumina amplicon sequencing technology was used to analyze the fungal and bacterial diversity of microbial communities in each sample. The analysis revealed that the microbial structure of silage maize samples was composed of 6 phyla, 50 orders and 164 genera of fungi and 11 phyla, 43 orders and 123 genera of bacteria. The fungal taxa Ascomycota and Basidiomycota were the dominant phyla in each sample, with a total abundance of more than 90% in each sample. The abundance of the fungal genera *Fusarium* and *Candida* in silage

收稿日期:2024-08-09;改回日期:2024-10-08

基金项目:国家自然科学基金(32460653)资助。

作者简介:孔天赐(1999—),女,甘肃永靖人,在读硕士。E-mail: 15120470146@163.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: qhx390495559@126.com

maize with disease was higher than that in the CK treatment, and the abundance of *Penicillium* and *Aspergillus* in the YM and YX was higher than that in the CK treatment, while the abundance of *Wickerhamomyces* in silage maize with disease was lower than in the CK treatment. Firmicutes and Proteobacteria were the dominant bacterial phyla in each sample, with a total abundance of more than 99% in each case. The abundance of *Enterococcus* and *Weissella* was higher in the CK treatment than in the treatments with disease; and *Streptococcus* was only present in the CK treatment, with a relative abundance of 0.003%. In summary, this study has clarified the microbial community structure during maize silage fermentation in disease-free crop substrate and in crops affected by four different fungal diseases and identified the dominant bacterial genera present during fermentation in each case. Our study showed that the presence of fungal diseases resulted in an increase in the abundance of disease-causing pathogens, which decreased the abundance of *Enterococcus*, *Weissella* and *Streptococcus*. These changes would potentially have a negative impact on the silage fermentation environment, and affect the normal progress of the fermentation process, possibly leading to a decline in silage quality. Our results also provide information for the subsequent study of quality in maize silage.

Key words: silage corn; pathogenic fungi; microbial diversity; Illumina sequencing

随着全球畜牧业的发展,玉米(*Zea mays*)已成为重要的饲料、粮食和经济兼用性作物;同时也是中国的第一大粮食作物。青贮玉米是利用高水分玉米全株或部分植株,在玉米进入成熟期前进行收割、切割、压实和封存的一种优质饲草^[1],主要用于解决牛羊等反刍动物养殖过程中优质粗饲料短缺的问题^[2]。青贮玉米富含粗蛋白质、粗脂肪和糖类,营养丰富,但是也含有难以消化的粗纤维^[3]。

根据中国当前社会现状和农业产业结构,动物畜产品的需求量在农产品社会需求中的占比大大提高,这一趋势加快了草食家畜的发展,尤其是奶牛业等畜牧业迅速发展。而在畜牧业生产所用的饲料中,青贮玉米可以提供的能量为25%左右,是当前草食畜牧业不可或缺的饲料资源^[4]。青海省作为我国5大牧区之一,草地资源丰富,工业污染较少,畜牧产业较发达,形成区域特色农业发展格局^[5]。但又因为其地处青藏高原,平均海拔较高,气候寒冷,热量条件较差,导致青海省生态体系脆弱,冬季草场供应不足,牲畜面临夏肥冬瘦问题^[6]。因此,青海省大力发展青贮玉米产业,以减轻草场畜牧压力和推动畜牧产业可持续发展。前期研究发现,青海省东部青贮玉米农业区病害发生较严重,影响青贮玉米产业发展^[7]。目前发现引起青海东部青贮玉米农业区玉米病害的病原菌有链格孢属(*Alternaria*)^[8]、镰刀菌属(*Fusarium*)^[9]和亚隔孢壳属(*Didymella*)^[10]真菌,多种蠕形菌^[11]、玉米瘤黑粉菌(*Ustilago maydis*)和高粱柄锈菌(*Puccinia sorghi*)等。

青贮是一个非常复杂的生化物质转化和微生物活动过程,青贮过程中饲草的营养成分和微生物菌群的变化都会对青贮饲料的发酵品质产生影响^[12]。青贮玉米发酵完成后进入饲喂阶段,随着开窖、取料和饲喂的进行,青贮饲料与氧气产生接触,易使饲料发生二次发酵,发生有氧腐败^[13],有氧腐败是青贮饲料营养物质损失的重要原因^[14]。不同种类的微生物对青贮饲料品质的影响也不相同^[15],其中乳酸菌在青贮发酵过程中产生大量的乳酸,可以防止营养物质流失,保证青贮营养品质。但乳酸菌含量过高会降低青贮饲料中抗真菌物质的含量,使青贮饲料在有氧暴露后容易发生霉变^[16-17]。霉菌及其有毒代谢产物对饲料的污染较为严重,易引起家畜致癌、致突变和中毒等一系列的生理和生物毒害,被认为是饲料和食品中的最大危害^[18]。酵母菌在青贮过程中可以产生芳香物质,增加青贮饲料的风味,但在发酵过程中还会产生正丙醇、异丁醇、异戊醇、乙酸、丙酸和异丁酸,产生的代谢物易分解乳酸并使青贮饲料pH升高,腐败菌滋生,是导致青贮饲料初期腐烂变质的重要微生物因素^[19]。

当下针对病原菌影响青贮玉米微生物多样性和群落结构的相关研究较少,对于病原菌能否影响青贮菌群平衡尚不明确。因此,本研究通过Illumina测序技术深入分析青贮玉米真菌性病害对青贮发酵微生物多样性及群落结构的影响,对后续开展青贮饲料解毒研究及分析青贮玉米营养品质具有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 材料来源及青贮处理

试验材料为2023年9月中旬在青海大学试验田采集的仅发生链格孢叶斑病(*Alternaria* leaf spot disease of silage maize, YLG)、麦根腐平脐蠕孢叶斑病(*Bipolaris sorokiniana* leaf spot disease of silage maize, YM)、瘤黑粉病(*Ustilago maydis* silage maize, YL)、锈病(rust silage maize, YX)和未发生任何病害(CK)的乳熟期全株青贮玉米。试验材料中锈病和瘤黑粉病利用病状和病症区分,麦根腐平脐蠕孢叶斑病和链格孢叶斑病分离病原菌并进行形态学鉴定。各采集3株玉米,用铡草机(锋钢40 cm,山东临沂)切割为1 cm×1 cm小段后装入500 g青贮发酵袋,每种样品各青贮3个重复。常温避光青贮发酵40 d后,从各处理青贮袋不同位置取10 g样本直接提取DNA或置于-80℃冰箱备用。

1.2 青贮样品DNA提取及PCR扩增

总DNA的提取采用CTAB^[20]法,并用1%琼脂糖凝胶电泳检测所提取DNA的质量。使用带条形码的特异引物对总DNA的16S rRNA V3~V4区(779F:5'-AACMGGATTAGATACCCCKG-3',1193R:5'-ACGTCA TCCCCACCTTCC-3')和ITS1(ITS1F:5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3',ITS2R:5'-GCTGCG TTCTTCATCGATGC-3')进行PCR扩增。采用50 μL扩增体系,扩增反应条件为98℃预变性5 min,98℃变性30 s,50℃退火30 s,72℃延伸30 s,25个循环,最后72℃延伸5 min。PCR产物置于2%琼脂糖凝胶电泳进行检测,剩余样品4℃保存备用^[21]。扩增产物采用Illumina平台进行双端测序。测序由上海美吉生物科技有限公司完成。原始数据上传至NCBI SRA数据库,登录号为:PRJNA1105876和PRJNA1106232。

1.3 数据处理

使用fastp^[22](version 0.20.0)软件对原始测序序列进行质控,使用FLASH^[23](version 1.2.7)软件进行拼接,使用UPARSE^[24]软件(version 7.1),根据97%^[25-26]的相似度对序列进行操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)聚类并剔除嵌合体。利用RDP classifier^[27](version 2.2)对每条序列进行物种分类注释,比对Silva 16S rRNA数据库(version 138)和UNITE ITS数据库(version 8.0)设置比对阈值为70%。利用Mothur(version 1.30.2)软件将所有样本抽平到相同的测序深度,在OTU水平上计算丰富度和多样性指数^[28]。比例<0.01%的分类群归为“其他”。使用R语言(version 3.3.1)进行生物信息学分析。

2 结果与分析

2.1 不同发病青贮玉米OTU分类

根据97%相似度对抽平后的序列进行OTU聚类分析(图1),未发生病害组、发生链格孢叶斑病组、发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组、发生瘤黑粉病组和发生锈病组,5组处理总共得到353个真菌OTU和270个细菌OTU。5组样品含有的真菌OTU分别为74、63、83、71和93;共有的真菌OTU有33个,占真菌OTU总数的9.3%。未发生病害组、发生链格孢叶斑病组、发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组、发生瘤黑粉病组和发生锈病组中特有的真菌OTU分别为45、22、38、25和57,其中发生锈病组中特有的OTU数目最多,发生链格孢叶斑病组中特有的OTU数目最少。不同发病处理5组样品含有的细菌OTU分别为48、102、42、86和45;共有的细菌OTU有28个,占细菌OTU总数的10.37%,5类样品未发生病害组、发生链格孢叶斑病组、发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组、发生瘤黑粉病组和发生锈病组中特有的细菌OTU分别为18、64、10、39和7,其中发生链格孢叶斑病组中特有的OTU数目最多,发生锈病组中特有的OTU数目最少。

2.2 不同发病处理青贮玉米样品真菌和细菌α多样性

对5组处理进行α多样性分析(表1和表2),显示真菌和细菌覆盖率均在99%以上,表明测序数据的合理性与真实性。真菌多样性中发生锈病组样品Chao1指数和ACE指数最大,为93.1111和93.4416,表明其物种最丰富,并且比未发生病害组样品高16.2111和16.7951;发生锈病组样品Shannon指数最大,为2.8101,表明其物种均匀度最高,比未发生病害组样品高1.6170。细菌多样性中发生链格孢叶斑病组样品Chao1指数和ACE指数最

大,为 113. 3268 和 118. 3162,表明其物种最为丰富,比未发生病害组样品高 58. 5238 和 61. 3536;发生链格孢叶斑病组样品 Shannon 指数最大,为 0. 9392,表明其物种均匀度最高,比未发生病害组样品高 0. 2839。

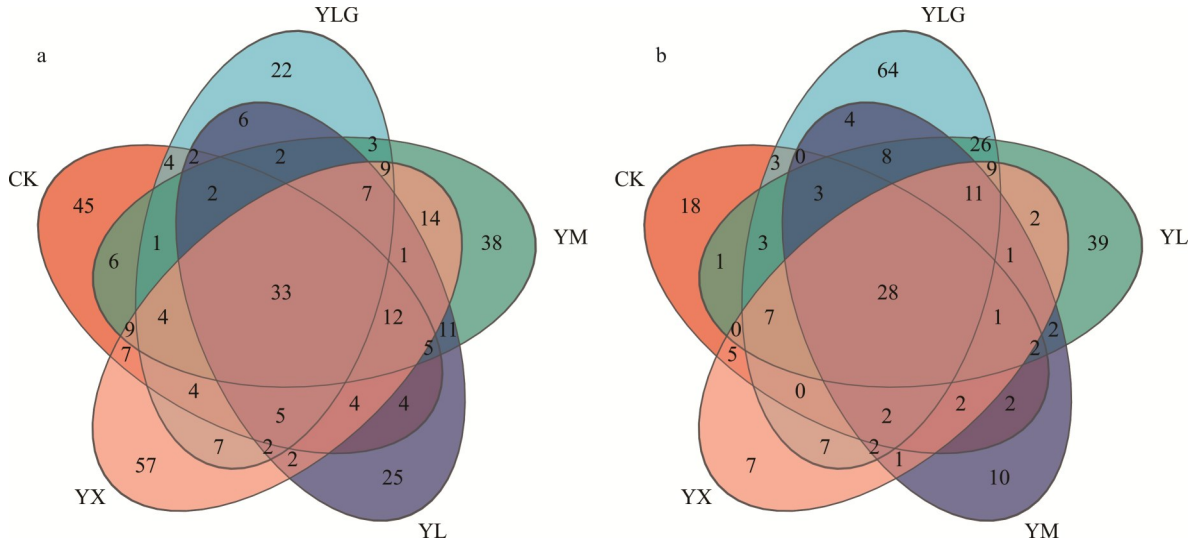


图 1 不同发病青贮玉米处理样品真菌和细菌韦恩图

Fig. 1 The Venn diagram of fungi and bacteria in different diseased silage maize

a: 真菌 Fungi; b: 细菌 Bacteria. CK、YLG、YM、YL 和 YX 分别代表未发生任何病害的青贮玉米、发生链格孢叶斑病青贮玉米、发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病青贮玉米、发生瘤黑粉病青贮玉米和发生锈病青贮玉米。下同。CK, YLG, YM, YL and YX respectively represent maize silage without any disease, *Alternaria* leaf spot disease of silage maize, *B. sorokiniana* leaf spot disease of silage maize, *U. maydis* silage maize, and rust silage maize. The same below.

表 1 不同样品真菌多样性指数

Table 1 Fungal diversity index of different samples

处理 Treatment	覆盖率 Coverage	序列指数 Sequence index	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index
CK	0. 9999ab	69587c	76. 6465a	76. 9000a	1. 1931b	0. 5950a
YLG	0. 9998c	78248a	75. 7685a	73. 7417a	0. 7702b	0. 6046a
YL	0. 9999b	74877ab	75. 3835a	73. 8287a	1. 0058b	0. 5712a
YM	0. 9999ab	73034bc	84. 9548a	84. 6667a	2. 5355a	0. 1519b
YX	1. 0000a	72049bc	93. 4416a	93. 1111a	2. 8101a	0. 1267b

注: 同列数据后不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0. 05$)。下同。

Note: Different lowercase letters in the same column represent significant differences among treatments ($P < 0. 05$). The same below.

表 2 不同样品细菌多样性指数

Table 2 Bacterial diversity index of different samples

处理 Treatment	覆盖率 Coverage	序列指数 Sequence index	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index
CK	0. 9998a	63961a	56. 9626b	54. 8030b	0. 6553ab	0. 7405a
YLG	0. 9996b	64736a	118. 3162a	113. 3268a	0. 9392a	0. 5585b
YL	0. 9996b	67705a	101. 0006a	94. 7643a	0. 4791ab	0. 8107a
YM	0. 9998a	63455a	56. 4746b	52. 3095b	0. 4166b	0. 8225a
YX	0. 9998a	66425a	57. 5407b	52. 5902b	0. 4767b	0. 7690a

2.3 不同发病处理的青贮玉米真菌群落结构差异性

在门分类水平上(图 2a), 5 组处理的青贮玉米真菌优势门有 6 个, 分别为子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、未分类的真菌(unclassified_k_fungi)、被孢霉门(Mortierellomycota)、毛霉菌门(Mucoromycota)和壶菌门(Chytridiomycota)。子囊菌门占比最高, 分别占未发生病害组、发生链格孢叶斑病组、发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组、发生瘤黑粉病组和发生锈病组的 82.68%、79.78%、64.38%、75.94% 和 61.40%; 担子菌门占比次之, 分别占各组的 17.06%、20.22%、35.59%、23.97% 和 38.38%。毛霉菌门只出现在未发生病害组中, 相对丰度为 0.17%; 壶菌门只出现在发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组样品中, 相对丰度为 0.17%。

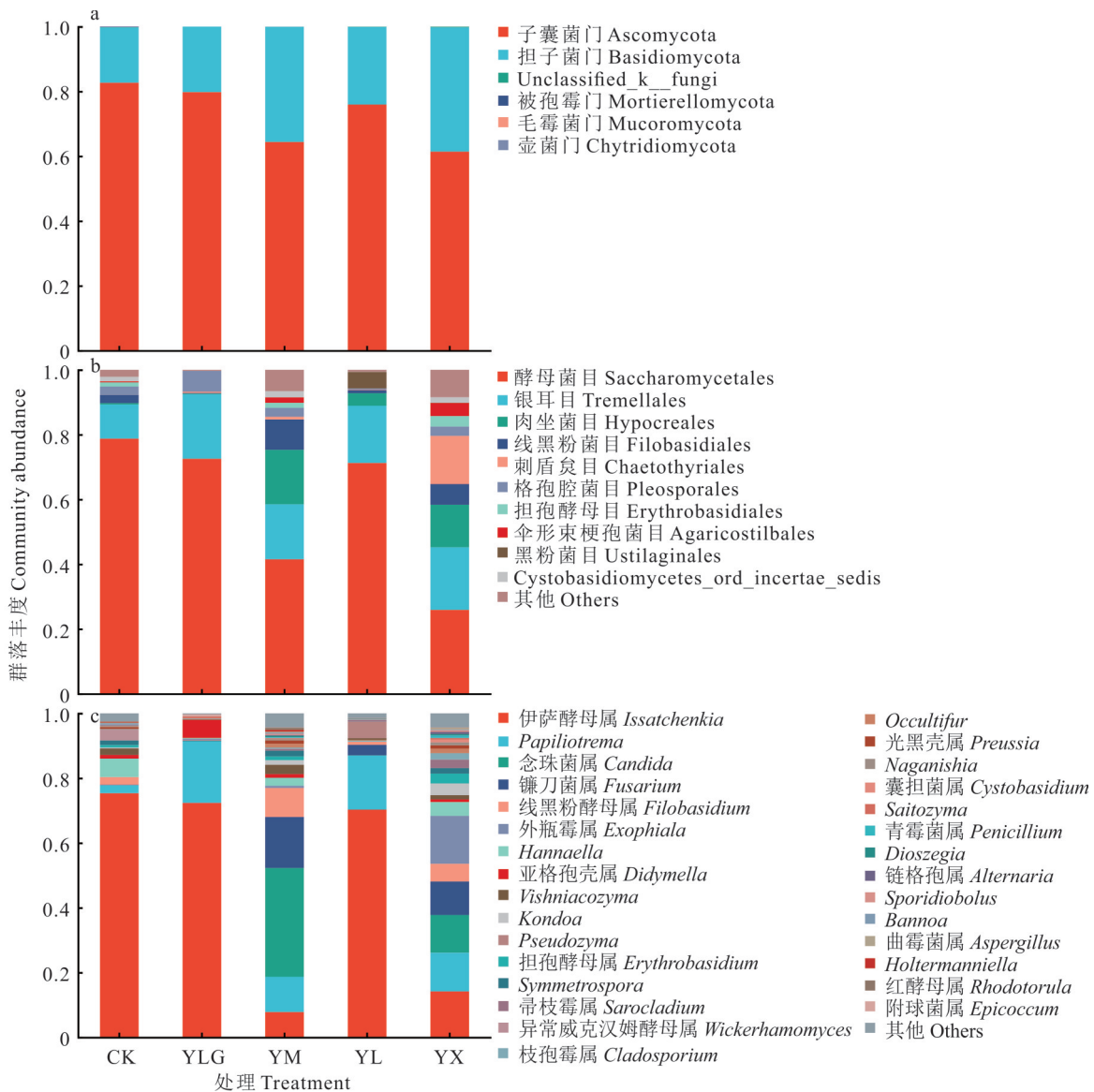


图 2 门、目、属水平上的真菌群落丰度分布

Fig. 2 The abundance distribution of fungal community at the level of phylum, order and genus

在目分类水平上(图 2b), 不同发病处理的青贮玉米真菌优势目有 10 个, 分别为酵母菌目(Saccharomycetales)、银耳目(Tremellales)、肉坐菌目(Hypocreales)、线黑粉菌目(Filobasidiales)、刺盾炱目(Chaetothyriales)、格孢腔菌目(Pleosporales)、担孢酵母目(Erythrobasidiales)、伞形束梗孢菌目(Agaricostilbales)、黑粉菌目(Ustilaginales)和囊担菌纲未定分类(Cystobasidiomycetes_ord_incertae_sedis)。酵母菌目在各组样品中相对丰度最高, 在样品未发生病害组、发生链格孢叶斑病组、发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组、发生瘤黑粉病组和发生锈病组中的占比分别

为78.75%、72.54%、41.51%、71.24%和25.89%；银耳目在各组样品中的相对丰度仅次于酵母菌目，5组样品中的占比分别为10.54%、19.92%、16.99%、17.67%和19.34%。黑粉菌目在发生瘤黑粉病组中的相对丰度最高，为5.09%；肉坐菌目和担孢酵母目在发生锈病组中的相对丰度较高，为16.81%和1.68%；刺盾负目在发生锈病组中的占比最高，为14.88%；格孢腔菌目和伞形束梗孢菌目在发生链格孢叶斑病组中的相对丰度较高，为6.42%和5.09%。

在属分类水平上(图2c)，不同发病处理的青贮玉米真菌优势属有30个，样品中占比大于1%的属有18个，分别为：伊萨酵母属(*Issatchenkia*)、*Papiliotrema*、线黑粉酵母属(*Filobasidium*)、*Hannaella*、亚格孢壳属(*Didymella*)、*Vishniacozyma*、*Symmetrospora*、异常威克汉姆酵母属(*Wickerhamomyces*)、念珠菌属(*Candida*)、镰刀菌属(*Fusarium*)、*Kondoa*、担孢酵母属(*Erythrobasidium*)、*Preussia*、*Occultifur*、*Pseudozyma*、外瓶霉属(*Exophiala*)、枝孢霉属(*Cladosporium*)和帚枝霉属(*Sarocladium*)。5组样品共有的优势属有15属，在样品未发生病害组、发生链格孢叶斑病组、发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组、发生瘤黑粉病组和发生锈病组中共有菌属占比前5的有：伊萨酵母属占比分别为75.34%、72.36%、7.80%、78.28%和14.17%；*Papiliotrema*属占比分别为2.50%、19.02%、10.88%、16.72%、11.97%；镰刀菌属占比分别为0.11%、0.15%、3.23%、15.75%、10.35%；线黑粉酵母属占比分别为2.38%、0.16%、8.96%、0.97%和5.46%；*Hannaella*属占比分别为5.70%、0.21%、2.46%、0.28%和4.28%。优势菌属中仅出现在发生链格孢叶斑病组、麦根腐平脐蠕孢叶斑病组、瘤黑粉病组和锈病组的有5属，分别为：念珠菌属、外瓶霉属、帚枝霉属、*Occultifur*和附球菌属(*Epicoccum*)。念珠菌属在各组占比为0.11%、33.59%、0.05%和11.62%；外瓶霉属在各组占比为0.39%、0.67%、0.14%和14.79%；帚枝霉属在各组占比为0.02%、0.51%、0.48%、2.59%；*Occultifur*属在各组占比为0.06%、1.21%、0.03%和1.39%；附球菌属在各组占比为0.68%、0.10%、0.02%和0.06%。有益真菌异常威克汉姆酵母属在未发生病害组、发生链格孢叶斑病组、发生瘤黑粉病组、发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组和发生锈病组中的占比分别为3.39%、0.07%、0.02%、0.06%、0.04%。青霉菌属在发生锈病、麦根腐平脐蠕孢叶斑病和未发生病害青贮样本中的丰度分别为0.80%、0.30%和0.04%；曲霉菌属在发生锈病、麦根腐平脐蠕孢叶斑病和未发生病害青贮样本中的丰度分别为0.50%、0.30%和0.22%。

2.4 不同发病处理的青贮玉米细菌群落结构差异性

在门分类水平上(图3a)，不同发病处理的青贮玉米细菌优势门有10个，分别为厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteriota)、拟杆菌门(Bacteroidota)、未分类门的细菌(unclassified_k_norank_d_bacteria)、疣微菌门(Verrucomicrobiota)、隐杆菌门(Abditibacteriota)、奇异球菌门(Deinococcota)、Patescibacteria和黏球菌门(Myxococcota)。在样品未发生病害组、发生链格孢叶斑病组、发生瘤黑粉病组、发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组和发生锈病组中，相对丰度大于1%的门是厚壁菌门和变形菌门，厚壁菌门在各组的相对丰度为95.22%、95.06%、96.71%、98.85%和99.73%；变形菌门在各组的相对丰度为4.74%、4.46%、3.22%、1.12%和0.20%；黏球菌门和Patescibacteria门只出现在发生链格孢叶斑病组中，相对丰度为0.0006%和0.0020%；只有发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组中不存在拟杆菌门，相对丰度为0。

在目分类水平上(图3b)，不同发病处理的青贮玉米细菌优势目有10个，分别为乳杆菌目(Lactobacillales)、肠杆菌目(Enterobacterales)、黄色单胞菌目(Xanthomonadales)、伯克氏菌目(Burkholderiales)、根瘤菌目(Rhizobiales)、微球菌目(Micrococcales)、黄杆菌目(Flavobacteriales)、梭菌目(Clostridiales)、鞘脂单胞菌目(Sphingomonadales)和芽孢杆菌目(Bacillales)。在样品未发生病害组、发生链格孢叶斑病组、发生瘤黑粉病组、发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组和发生锈病组中占比最高的菌目是乳杆菌目，其在各组中的占比分别为95.09%、94.98%、96.43%、98.81%和99.72%。未发生病害组、发生瘤黑粉病组和发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组中相对丰度较大的菌目为肠杆菌目，占比分别为4.61%、2.08%和0.87%；发生链格孢叶斑病组中相对丰度较大的菌目为黄色单胞菌目，占比2.14%。未发生病害组和发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组中无黄色单胞菌目，相对丰度为0。

在属分类水平上(图3c)，不同发病处理的青贮玉米细菌优势属有10个，分别为乳杆菌属(*Lactobacillus*)、拉乌尔菌属(*Raoultella*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、乳球菌属(*Lactococcus*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、未

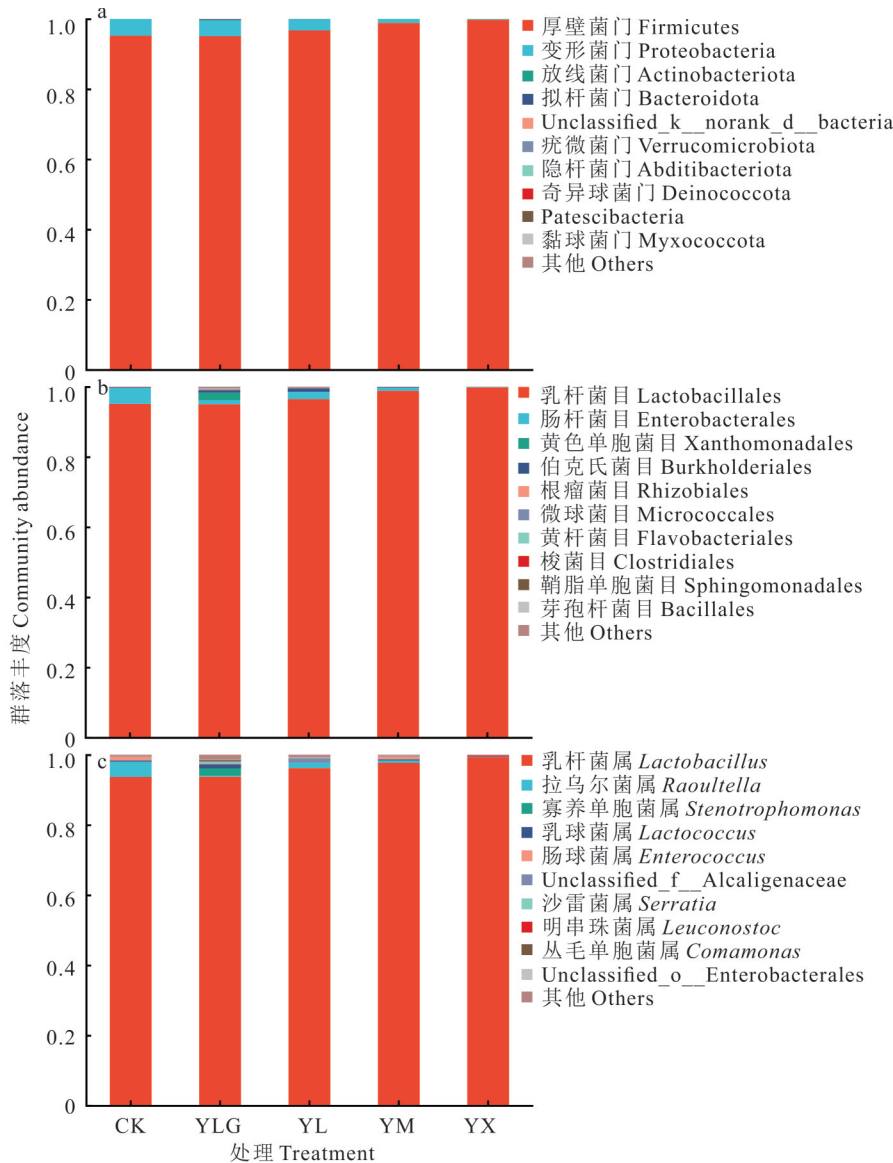


图3 门、目、属水平上的细菌群落丰度分布

Fig. 3 The abundance distribution of bacterial community at the level of phylum, order and genus

分类属产碱杆菌科(unclassified_f_Alcaligenaceae)、沙雷菌属(*Serratia*)、明串珠菌属(*Leuconostoc*)、丛毛单胞菌属(*Comamonas*)和未分类纲肠杆菌目(unclassified_o_Enterobacterales)。乳杆菌属在未发生病害组、发生链格孢叶斑病组、发生瘤黑粉病组、发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组和发生锈病组的相对丰度分别为93.67%、93.72%、96.19%、97.69%和99.22%，是5组中的优势菌属，发生锈病组中乳杆菌属含量最高。未发生病害组中无寡养单胞菌属和丛毛单胞菌属，相对丰度均为0。除乳杆菌属外，未发生病害组中相对丰度大于1%的属为拉乌尔菌属(4.38%)和肠球菌属(1.01%)，发生链格孢叶斑病组中为寡养单胞菌属(2.14%)和乳球菌属(1.11%)，发生瘤黑粉病组中为拉乌尔菌属(1.63%)。乳酸菌中肠球菌属在未发生病害组、发生链格孢叶斑病组、发生瘤黑粉病组、发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组和发生锈病组中相对丰度为1.009%、0.135%、0.079%、0.716%和0.200%；明串珠菌属在各组中相对丰度为0.106%、0.005%、0.003%、0.076%和0.276%；魏斯氏菌在各组中相对丰度为0.012%、0.006%、0.001%、0和0.001%；链球菌属仅出现在未发生病害组中，相对丰度为0.003%。

2.5 不同发病处理的青贮玉米真菌和细菌 β 多样性分析

真菌OTU散点图结果表明(图4a)，第一主坐标与第二主坐标贡献率分别为15.56%和12.13%，未发生病害组、发生瘤黑粉病组、发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组相聚较近，说明3组真菌OTU较为接近；发生锈病组与各组

相比较远,说明发生锈病组真菌 OTU 与其他组有差异。细菌 OTU 散点图结果表明(图 4b),第一主坐标与第二主坐标贡献率分别为 20.28% 和 15.35%,未发生病害组、发生锈病组、发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组相聚较近,说明 3 组细菌 OTU 分类相似;发生瘤黑粉病组、发生链格孢叶斑病组与其他 3 组无交接,且距离较远,说明发生瘤黑粉病组与发生链格孢叶斑病组细菌 OTU 与其他组有明显差异。

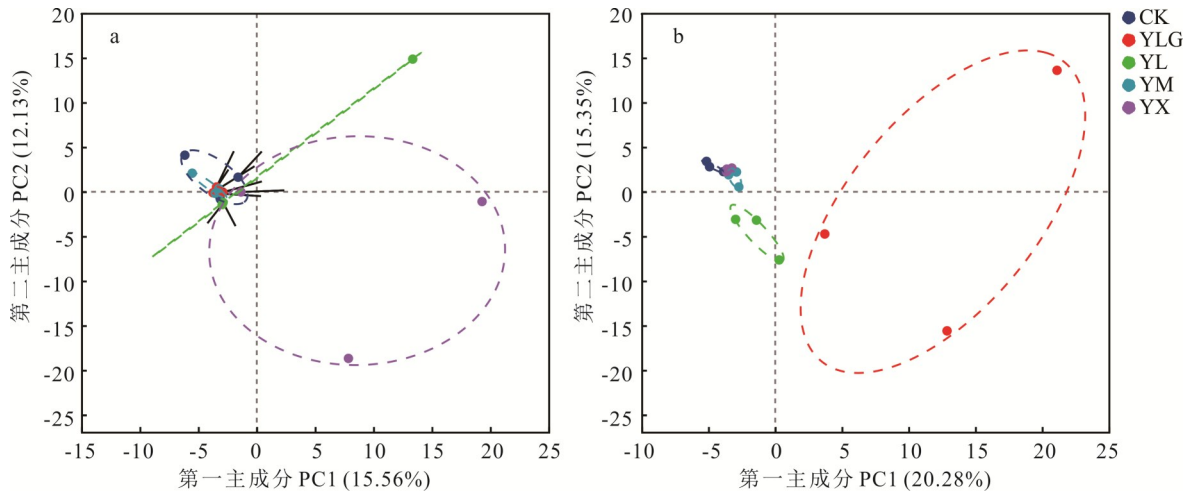


图 4 微生物 OTU 分布散点图

Fig. 4 Scatter plot of microbial OTU distribution

a: 真菌 Fungi; b: 细菌 Bacteria.

2.6 不同发病处理的青贮玉米真菌和细菌 LEfSe 物种差异性分析

真菌群落线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)($LDA > 2, P < 0.05$)表明,属水平上伊萨酵母属、酵母属(*Saccharomyces*)和外瓶霉属的丰度分别对未发生病害组、发生瘤黑粉病组和发生锈病组差异效果影响最大,目水平上肉坐菌目、黑粉菌目和刺盾负目的丰度分别对发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病、瘤黑粉病组和锈病组差异效果影响最大。细菌群落 LDA 分析($LDA > 2, P < 0.05$)表明属水平上拉乌尔菌属、寡养单胞菌属、拉恩氏菌属(*Rahnella*)和乳杆菌属的丰度分别对未发生病害组、发生链格孢叶斑病组、发生瘤黑粉病组和锈病组差异影响效果最大,目水平上肠杆菌目、黄色单胞菌目、类芽孢杆菌目和乳杆菌目的丰度分别对未发生病害组、发生链格孢叶斑病组、发生瘤黑粉病组和锈病组差异影响效果最大(图 5)。

3 讨论

研究结果表明,微生物 α 多样性中,未发生病害组真菌多样性略高于发生瘤黑粉病组和发生链格孢叶斑病组,但显著低于发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组和发生锈病组,未发生病害组细菌多样性高于发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病组、发生瘤黑粉病组、发生锈病组,但低于发生链格孢叶斑病组。陈义勇等^[29]的研究结果显示在茶饼病发病叶片中细菌多样性明显低于健康叶片;发病叶片真菌多样性高于健康叶片。而涂敏等^[30]的研究结果显示患红根病橡胶树(*Hevea brasiliensis*)根际土壤真菌多样性显著降低,OTU 数量和 Alpha 多样性指数均低于健康橡胶树根际土壤;患病植株根际土壤细菌多样性略高于健康植株。本研究结果与他人研究结果既有相似又有不同,可能是植物种类和所患病害种类不同等导致。

在检测样本中真菌群落子囊菌门、担子菌门、未分类的真菌、被孢霉门、毛霉菌门和壶菌门为优势菌门;其中子囊菌门和担子菌门是真菌群落中的优势菌门,占各样本丰度的 90% 以上。本研究结果与胡子贤^[31]的患病结香(*Edgeworthia chrysantha*)和健康结香根际土壤主要优势真菌门的结果基本一致。检测样本中细菌门分别为厚壁菌门、变形菌门、放线菌门、拟杆菌门、未分类门的细菌、疣微菌门、隐杆菌门、奇异球菌门、Patescibacteria 和黏球菌门;其中厚壁菌门和变形菌门是优势细菌门。陈三冬等^[32]对青贮玉米有氧暴露条件下细菌群落多样性进行

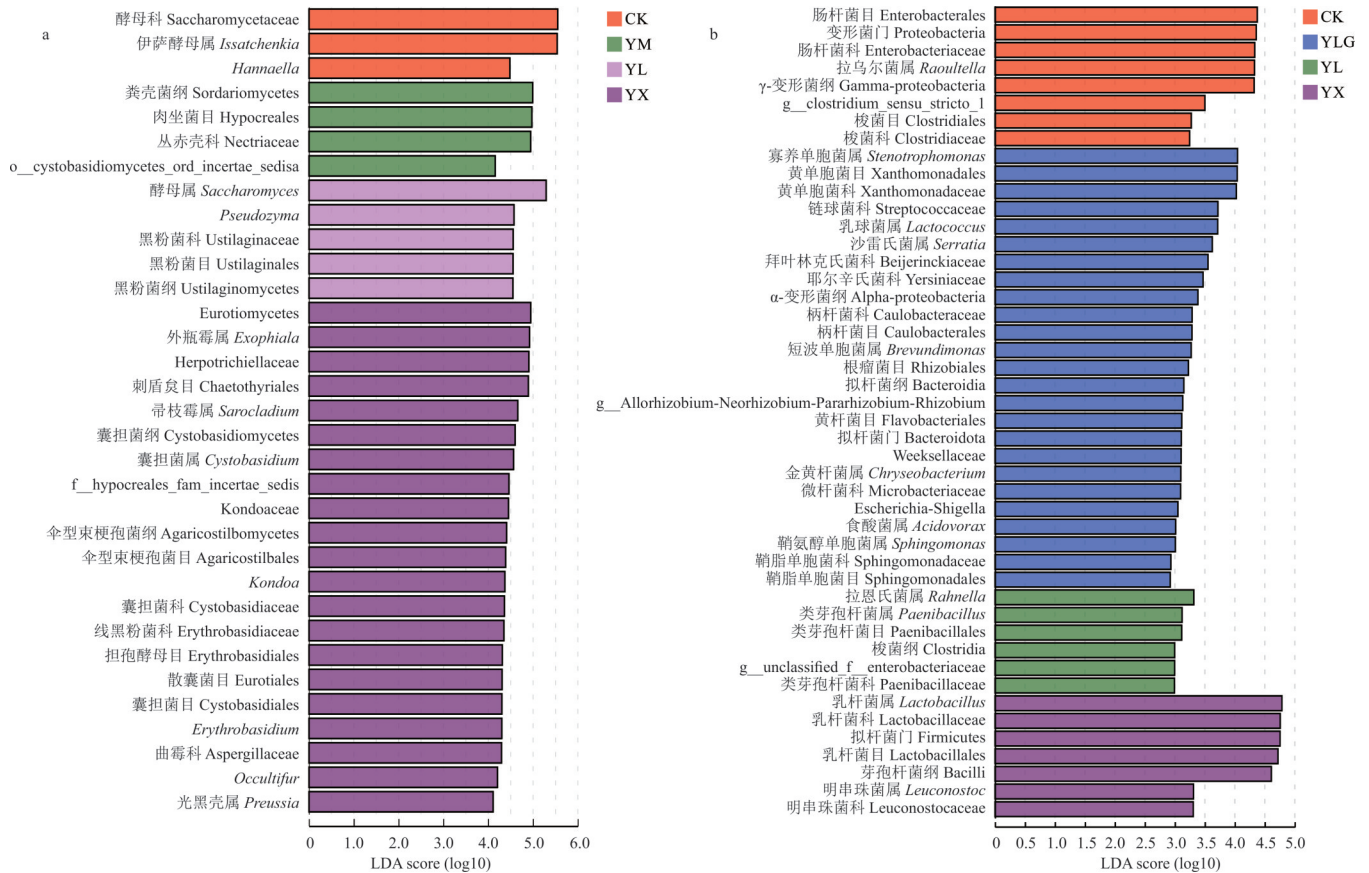


图 5 真菌和细菌线性判别分析 (LDA) 结果

Fig. 5 Linear discriminant analysis results of fungi and bacteria

a: 真菌 Fungi; b: 细菌 Bacteria.

研究发现,厚壁菌门和变形菌门为优势细菌门。李冬丽等^[33]对海南香蕉(*Musa nana*)枯萎病的研究中发现健康植株和患病植株的土壤均以变形菌门、酸杆菌门、厚壁菌门、黄杆菌门、绿弯菌门和螺旋菌门为主要优势菌群。本研究结果与其基本一致。

青贮完成后不同样品中各菌属成分和丰度均有差异,镰刀菌属在发生瘤黑粉病玉米、链格孢叶斑病玉米、麦根腐平脐蠕孢叶斑病玉米、锈病玉米和未发生病害玉米组中的丰度分别为 15.75%、0.15%、3.23%、10.35% 和 0.11%,发生病害的青贮玉米中镰刀菌属丰度均高于未发生病害组。祁鹤兴等^[9]研究发现镰刀菌可以引起青贮玉米病害,为青贮玉米致病真菌。青霉菌属在发生锈病、麦根腐平脐蠕孢叶斑病和未发生病害青贮样本中的丰度分别为 0.80%、0.30% 和 0.04%,这两种发生病害样本中青霉菌属丰度显著高于未发生病害组;曲霉菌属在发生锈病、麦根腐平脐蠕孢叶斑病和未发生病害青贮样本中的丰度分别为 0.50%、0.30% 和 0.22%,这两种病害中曲霉菌属丰度均高于未发生病害组。镰刀菌、青霉和曲霉等真菌会产生多种真菌毒素,从而影响青贮品质和畜牧安全^[34-36]。念珠菌属在发生瘤黑粉病玉米、链格孢叶斑病玉米、麦根腐平脐蠕孢叶斑病玉米、锈病玉米组中的丰度分别为 0.05%、0.11%、33.59%、11.62%,念珠菌属未出现在未发生病害组中,发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病玉米中念珠菌属丰度最高。念珠菌会通过饲草进食传染性畜导致牲畜患病^[37]。

未发生病害组异常威克汉姆酵母属丰度高于各发病组,说明异常威克汉姆酵母菌可以抑制部分病原真菌,具有一定的抑制毒素作用,从而降低或抑制未发生病害组中镰刀菌属、青霉菌属、曲霉菌属等有害微生物的丰度。蓝黄博恩^[38]和 Zhu 等^[39]发现异常威克汉姆酵母菌对番茄(*Solanum lycopersicum*)病害病原真菌抑制作用明显;此外,有研究证明异常威克汉姆酵母菌可以用于饲料中的毒素降解^[40]。各组样品细菌群落属水平菌群有乳杆菌属、拉乌尔菌属、寡养单胞菌属、乳球菌属、肠球菌属、未分类属产碱杆菌科、沙雷菌属、明串珠菌属、丛毛单胞菌属和

未分类纲肠杆菌目。本研究结果与陈三冬等^[32]和张咚咚等^[41]的研究结果基本一致。本试验结果中,在发生瘤黑粉病玉米、链格孢叶斑病玉米、麦根腐平脐蠕孢叶斑病玉米、锈病玉米和未发生病害玉米组中肠球菌属丰度分别为0.079%、0.135%、0.716%、0.200%和1.009%;魏斯氏菌属在以上组中丰度为0.001%、0.006%、0、0.001%和0.012%;链球菌属仅出现在未发生病害组中,相对丰度为0.003%。肠球菌属、魏斯氏菌属和链球菌属都是乳酸菌类菌种,可以促进发酵进程、提高青贮品质^[42-43];发生病害组中这3类菌属丰度低于未发生病害组,原因可能是病原菌影响了该类乳酸菌正常生长。

4 结论

本研究针对4种真菌性病害对青贮微生物群落多样性影响进行分析,发现病原菌会影响青贮微生物群落多样性。发生病害组中的微生物群体较未发生病害组更复杂多样,其中锈病对真菌多样性影响最大,香农指数最高,链格孢叶斑病对细菌多样性影响最大,香农指数最高。镰刀菌属和念珠菌属丰度在发生病害组高于未发生病害组,青霉菌属和曲霉菌属丰度在发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病和锈病组高于未发生病害组,其中发生麦根腐平脐蠕孢叶斑病和锈病的玉米中这4种致病菌丰度较高。肠球菌属、魏斯氏菌属、链球菌属在未发生病害玉米中丰度较高。综上,真菌性病害会影响青贮微生物群落多样性,导致致病病菌增加,使得肠球菌属、魏斯氏菌属、链球菌属丰度降低,破坏青贮发酵环境,影响发酵过程正常进行,从而可能导致青贮饲料品质下降。

参考文献 References:

- [1] Che L J, Hao W B. Quality of corn stover silage with cellulase and its effect on growth performance of beef cattle. *Feed Research*, 2022, 45(16): 18–22.
车雷杰, 郝大宝. 纤维素酶青贮玉米秸秆的品质及其对肉牛生长性能的影响. *饲料研究*, 2022, 45(16): 18–22.
- [2] Dong S J. Analysis of influencing factors on nutritional characteristics of silage maize. *Feed Research*, 2021, 44(17): 158–160.
董世界. 青贮玉米营养特性的影响因素分析. *饲料研究*, 2021, 44(17): 158–160.
- [3] Fan K L, Su Y J, Wu J P, *et al.* Effects of silage fermentation promoters and harvest time on nutritional quality of whole-plant silage maize. *Pratacultural Science*, 2022, 39(3): 586–596.
范凯利, 苏亚军, 吴建平, 等. 青贮发酵促进剂和收获期对全株青贮玉米营养品质的影响. *草业科学*, 2022, 39(3): 586–596.
- [4] Wang J W, Luo Y G. Utilization status of silage maize in Hebei Province. *Modern Rural Science and Technology*, 2016(22): 14.
王建文, 罗永刚. 河北省青贮玉米的利用现状. *现代农村科技*, 2016(22): 14.
- [5] Li J, Xiao Y L, Chang R F, *et al.* Research on current situation, specialties and development strategies of agriculture and stockbreeding in Qinghai Province. *Research of Agricultural Modernization*, 2011, 32(1): 15–18.
李靖, 肖运来, 常瑞甫, 等. 青海省农牧业发展现状和特色及发展战略研究. *农业现代化研究*, 2011, 32(1): 15–18.
- [6] Yu Y, Yang X X, Dong Q M, *et al.* Research on the development of modern grassland animal husbandry in Qinghai Province under the structural reform of agricultural supply side. *Qinghai Social Sciences*, 2019(6): 123–129.
俞畅, 杨晓霞, 董全民, 等. 农业供给侧结构性改革下的青海省现代草地畜牧业发展研究. *青海社会科学*, 2019(6): 123–129.
- [7] Ma X Q, Kong T C, Qi H X. Preliminary investigation of *Zea mays* L. disease species in the eastern agricultural region of Qinghai Province. *Science and Technology of Qinghai Agriculture and Forestry*, 2024(1): 26–31, 36.
马学青, 孔天赐, 祁鹤兴. 青海省东部农业区青贮玉米病害种类初步调查. *青海农林科技*, 2024(1): 26–31, 36.
- [8] Qi H X, Lu G X, Li Z R, *et al.* Pathogen identification and pathogenicity analysis of *Alternaria* leaf blight of silage maize in Qinghai Province. *Acta Prataculturæ Sinica*, 2021, 30(6): 94–105.
祁鹤兴, 芦光新, 李宗仁, 等. 青海省青贮玉米链格孢叶枯病病原菌鉴定及其致病力分析. *草业学报*, 2021, 30(6): 94–105.
- [9] Qi H X, Li H F, Zou H T, *et al.* Identification and pathogenicity analysis of *Fusarium* pathogens from silage maize. *Molecular Plant Breeding*, (2023-10-17)[2024-04-01]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20231016.1120.012.html>.
祁鹤兴, 李红芳, 邹海涛, 等. 青贮玉米来源镰刀菌的分离鉴定及其致病性分析. *分子植物育种*, (2023-10-17)[2024-04-01]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20231016.1120.012.html>.
- [10] Chang J P, Ni R Y, He C B, *et al.* Identification and pathogenicity analysis of subasperellate leaf spot pathogens from silage

- maize. *Molecular Plant Breeding*, (2023-10-19) [2024-04-01]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20231019.0919.002.html>.
- 常建萍, 倪如原, 贺晨邦, 等. 青贮玉米亚隔孢壳叶斑病菌的分离鉴定及其致病性分析. *分子植物育种*, (2023-10-19) [2024-04-01]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20231019.0919.002.html>.
- [11] Qi H X, Wang H C, Lu G X, *et al.* Identification and pathogenicity analysis of *Parastagonospora* leaf spot pathogens from silage maize. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, 31(1): 40–49.
祁鹤兴, 王海春, 芦光新, 等. 青贮玉米蠕形菌的分离鉴定及其致病性分析. *草地学报*, 2023, 31(1): 40–49.
- [12] Shang Z D, Tan Z K, Li J K, *et al.* Effects of different planting seasons on the fermentation quality and microbial diversity of corn silage in Tibet. *Acta Agrestia Sinica*, 2019, 27(2): 488–496.
商振达, 谭占坤, 李家奎, 等. 种植时间对西藏地区青贮玉米发酵品质和微生物多样性的影响. *草地学报*, 2019, 27(2): 488–496.
- [13] Zhang S, Chang J, Hu Z F, *et al.* Harmful microorganisms in silage and their suppression measures. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(12): 4308–4314.
张适, 常杰, 胡宗福, 等. 青贮饲料有害微生物及其抑制措施. *动物营养学报*, 2017, 29(12): 4308–4314.
- [14] Han Z Q, Song Y H, Wang Z F. Research progress which influence factors about quality of silage corn. *Feed Research*, 2020, 43(1): 106–109.
韩战强, 宋艳画, 王志方. 影响青贮玉米品质因素的研究进展. *饲料研究*, 2020, 43(1): 106–109.
- [15] Liu B Y, Huan H L, Gu H R, *et al.* Changes of silage quality and microbial diversity in barley during different fermentation periods. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 35(3): 653–660.
刘蓓一, 宦海琳, 顾洪如, 等. 不同发酵时期大麦青贮品质和微生物多样性变化. *江苏农业学报*, 2019, 35(3): 653–660.
- [16] Kung L, Taylor C C, Lynch M P, *et al.* The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2003(1): 86.
- [17] Cao X, Wu K L, Wen L Y, *et al.* Effects of rice straw, wheat bran and glucose addition on the silage quality of *Myriophyllum elatinoide*s. *Acta Agrestia Sinica*, 2022, 30(12): 3447–3454.
曹欣, 吴康乐, 文乐元, 等. 水稻秸秆、麦麸、葡萄糖添加对绿狐尾藻青贮质量影响研究. *草地学报*, 2022, 30(12): 3447–3454.
- [18] Hou R R, Zhang M H. Damage of mycotoxins on animals and advances in study on methods of prevention. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2007(1): 13–16.
侯然然, 张敏红. 霉菌毒素对畜禽的危害及其防控方法的研究进展. *中国畜牧兽医*, 2007(1): 13–16.
- [19] Zhang X F. *Forage processing and storage*. Beijing: China Agriculture Press, 2004: 10.
张秀芬. *饲草饲料加工与贮藏*. 北京: 中国农业出版社, 2004: 10.
- [20] Pérez-Pazos J V, Romero-Ferrer J L, Berdugo-Cely J A. Selection of a CTAB protocol for high-quality DNA extraction in *Oryza sativa* L. validated for application in genotyping process based on Illumina sequencing. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 2022, 26(4): 433–446.
- [21] Liu S Y, Shen D C, Liu Z, *et al.* Microbial diversity in leaves of different *Fraxinus mandshurica* brown spot disease stages. *Forestry Engineering*, 2024, 40(1): 1–8.
刘思远, 申东晨, 刘峥, 等. 不同水曲柳褐斑病病级叶片的微生物多样性. *森林工程*, 2024, 40(1): 1–8.
- [22] Chen S, Zhou Y, Chen Y, *et al.* FASTP: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics*, 2018, 34(17): i884–i890.
- [23] Magoč T, Salzberg S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957–2963.
- [24] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996–998.
- [25] 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. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1994, 44(4): 846–849.
- [26] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, *et al.* Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5261–5267.
- [27] Huang X L, Chen J P, Mo X F, *et al.* Microbial diversity and chemical characteristics of rhizosphere soil associated with understory *Cardiocrinum giganteum*. *Journal of Forest and Environment*, 2023, 43(6): 596–605.
黄晓露, 陈江平, 莫小锋, 等. 林下大百合根际土壤微生物及化学特征分析. *森林与环境学报*, 2023, 43(6): 596–605.
- [28] Yao W, Wang E, Zhou Y, *et al.* Effects of garcinol supplementation on the performance, egg quality, and intestinal health of

- laying hens in the late laying period. *Poultry Science*, 2023, 102(10): 1–12.
- [29] Chen Y Y, Zhou B, Li J L, *et al.* Blister blight lesions of tea (*Camellia sinensis* L. Kuntze) leaves: microbial diversity analysis and identification of the disease fungi. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2023, 39(6): 116–123.
陈义勇, 周波, 黎健龙, 等. 茶饼病病叶表面微生物多样性及病害真菌的分离鉴定. *中国农学通报*, 2023, 39(6): 116–123.
- [30] Tu M, Cai H B, Peng Y L, *et al.* Structures and biodiversity of microbial communities in rhizosphere soil of red root rot disease and healthy of *Hevea brasiliensis*. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2021, 42(12): 3639–3645.
涂敏, 蔡海滨, 彭延麟, 等. 橡胶树红根病患病与健康植株根际土壤微生物结构及多样性分析. *热带作物学报*, 2021, 42(12): 3639–3645.
- [31] Hu Z X. Characteristics of microbial community composition and diversity in rhizospheric soil of *Edgeworthia chrysantha* root-rot. Hefei: Anhui Agricultural University, 2024.
胡子贤. 结香根腐病根际土壤微生物群落组成与多样性特点. 合肥: 安徽农业大学, 2024.
- [32] Chen S D, Gong H Q, Yin G L, *et al.* Nutrient quality and bacterial community diversity of silage corn during aerobic exposure. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, 31(2): 388–395.
陈三冬, 巩海强, 尹国丽, 等. 青贮玉米有氧暴露过程中营养品质及细菌群落多样性. *草地学报*, 2023, 31(2): 388–395.
- [33] Li D L, Xu L, Ruan X L, *et al.* Analysis of main microbial groups in different types of soil in banana *Fusarium* wilt field// Proceedings of the 2011 annual academic conference of the Chinese Society of Plant Pathology. Guangzhou: College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, 2011: 576.
李冬丽, 许乐, 阮小蕾, 等. 香蕉枯萎病田间不同类型土壤中微生物主要类群的分析//中国植物病理学会2011年学术年会论文集. 广州: 华南农业大学资源环境学院, 2011: 576.
- [34] Labuda R, Parich A, Berthiller F, *et al.* Incidence of trichothecenes and zearalenone in poultry feed mixtures from Slovakia. *International Journal of Food Microbiology*, 2005, 105(1): 19–25.
- [35] Wang X Z. Effect of compaction and harvest stage on quality and mycotoxin of whole-plant corn silage. Shihezi: Shihezi University, 2020.
王旭哲. 紧实度及收获期对全株玉米青贮品质及霉菌毒素的影响研究. 石河子: 石河子大学, 2020.
- [36] Tian J P. The accumulation and control technology of aflatoxin in whole crop silage. Beijing: China Agricultural University, 2017.
田吉鹏. 全株玉米青贮饲料中黄曲霉毒素积累规律及调控技术研究. 北京: 中国农业大学, 2017.
- [37] Liu B C, Elad D. Clinical mastitis caused by *Candida krusei* contamination of feed in dairy cows. *Animal Science Abroad (Feed)*, 1996(5): 24–26.
刘伯淳, Elad D. 克柔氏念珠菌污染饲料引起的乳牛霉菌性乳房炎. *国外畜牧学(饲料)*, 1996(5): 24–26.
- [38] Lan H B E. Research on the biocontrol efficacy of *Wickerhamomyces anomalus* on diseases of tomatoes and the mechanisms involved. Zhenjiang: Jiangsu University, 2023.
蓝黄博恩. 异常威克汉姆酵母对番茄病害的生物防治及其机制研究. 镇江: 江苏大学, 2023.
- [39] Zhu M, Yang Q, Godana E A, *et al.* Efficacy of *Wickerhamomyces anomalus* in the biocontrol of black spot decay in tomatoes and investigation of the mechanisms involved. *Biological Control*, 2023, 186: 1–11.
- [40] Ma X, Sun M G, Nie C X, *et al.* A feeding *Wickhamomyces anomalus* and its application: China, CN109609393B. 2019-04-12.
马曦, 孙美鸽, 聂存喜, 等. 一种饲用异常威克汉姆酵母及其应用: 中国, CN109609393B. 2019-04-12.
- [41] Zhang D D, Zhao J F, Xie S Y, *et al.* Analysis of microbial diversity in maize based on high throughput sequencing. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2023, 23(10): 305–314.
张咚咚, 赵金凤, 谢思源, 等. 基于高通量测序的玉米中微生物多样性分析. *中国食品学报*, 2023, 23(10): 305–314.
- [42] Yang Y G, Gao J N, Tian R H. Screening and identification of excellent lactic acid bacteria in naturally fermented corn stalks and mixed bacteria fermentation experiments. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2018(7): 145–148.
杨耀刚, 郜晋楠, 田瑞华. 自然发酵玉米秸秆中优良乳酸菌的筛选鉴定及混菌发酵试验. *黑龙江畜牧兽医*, 2018(7): 145–148.
- [43] Wang H R. Effect of lactic acid bacteria and three Chinese herbal medicine additives on oat silage quality, microbial community structure and metabolites. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2023.
王昊然. 乳酸菌和三种中药添加剂对燕麦青贮品质、微生物群落结构及代谢物的影响. 北京: 中国农业科学院, 2023.