

DOI: 10.5846/stxb201712182267

刘波, 陈倩倩, 阮传清, 王阶平, 张海峰, 刘国红, 陈峥, 潘志针, 刘欣. 养猪微生物发酵床芽胞杆菌空间生态位特性研究. 生态学报, 2019, 39(11):

Liu B, Chen Q Q, Ruan C Q, Wang J P, Zhang H F, Liu G H, Chen Z, Pan Z Z, Liu X. Characteristics of the spatial ecological niche of *Bacillus*-like genera in a microbial fermentation bed used for pig raising. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(11):

养猪微生物发酵床芽胞杆菌空间生态位特性研究

刘 波*, 陈倩倩, 阮传清, 王阶平, 张海峰, 刘国红, 陈 峥, 潘志针, 刘欣

福建省农业科学院农业生物资源研究所, 福州 350003

摘要: 研究养猪微生物发酵床芽胞杆菌空间生态位特性, 理解养殖粪污形成的环境生态位与芽胞杆菌种类的相互关系, 为阐明微生物发酵床猪粪降解、臭味消除、猪病防控机理和资源化利用等提供科学数据。采用随机采样法获得微生物发酵床的上层垫料(0—20 cm)和下层垫料(40—60 cm)样本共 14 个。利用营养条件检测和宏基因组测序的方法, 分析垫料样本的营养特性(有机质、全氮、腐殖酸、粗纤维)和生长条件(水份、pH), 鉴定芽胞杆菌种类和测定相对丰度(reads); 利用聚类分析、相关性分析、空间分布型分析、生态位宽度和重叠, 揭示芽胞杆菌空间生态位特性及其因子间相互关系。研究结果表明, 从空间生态位样本中共鉴定出芽胞杆菌目 8 个科中的 6 个科 24 个属种类(其中 2 个属具有芽胞杆菌种名形式, 不属于芽胞杆菌), 发现微生物发酵床垫料空间生态位中 *Ammonibacillus*(氨芽胞杆菌属, 类芽胞杆菌科)、*Desulfuribacillus*(脱硫芽胞杆菌属, 芽胞杆菌待建立新科)、*Tuberibacillus*(肿块芽胞杆菌属, 芽胞乳杆菌科), 国内未见报道, 为中国新记录属。在被测生态位中相对含量(reads)最高的前 3 个属为芽胞杆菌属(*Bacillus*) (reads = 8020)、乳杆菌属(*Lactobacillus*) (reads = 4565)、肿块芽胞杆菌属(*Tuberibacillus*) (reads = 1418); 发酵床上层垫料生态位芽胞杆菌属总量与下层相比无显著差异($P > 0.05$), 但属种类和数量结构、亚群落分化差异显著, 上层生态位前 5 位高含量芽胞杆菌优势属(数量平均值)分别为 *Bacillus* (532.86)、*Lactobacillus* (480.43)、*Geobacillus* (88.86)、*Gracilibacillus* (70.00)、*Paenibacillus* (40.86), 而下层为 *Bacillus* (612.86)、*Tuberibacillus* (188.57)、*Lactobacillus* (171.71)、*Paucislibacillus* (60.00)、*Ureibacillus* (46.71)。分析表明 5 个生态位最宽的芽胞杆菌分别为: *Bacillus* (10.5159)、*Ornithinibacillus* (8.6094)、*Paenibacillus* (7.8463)、*Oceanobacillus* (6.9927)、*Rummeliibacillus* (5.7417), 对发酵床环境条件适应范围较宽、对营养条件要求较低的芽胞杆菌, 空间生态位宽度较宽, 可利用的资源数较多, 反之亦然; 分析表明芽胞杆菌各属之间空间生态位重叠 Pianka 测度范围为 0.00—0.99, 有些属之间生态位重叠很高, 如 *Gracilibacillus* 和 *Ammonibacillus*, 有些几乎不重叠, 如 *Desulfuribacillus* 和 *Aneurinibacillus*; 芽胞杆菌空间生态位宽度与生态位重叠存在着相互关系, 生态位较宽的属, 如芽胞杆菌属(*Bacillus*), 与其他属之间的空间生态位重叠集中在 0.20—0.80 之间, 空间生态位较窄的属, 如 *Geobacillus*, 与其他属之间的空间生态位重叠主要分布在 < 0.20 或 > 0.80 。

关键词: 微生物发酵床; 芽胞杆菌; 生态位宽度; 生态位重叠; 空间分布型; 亚群落分化

Characteristics of the spatial ecological niche of *Bacillus*-like genera in a microbial fermentation bed used for pig raising

LIU Bo*, CHEN Qianqian, RUAN Chuanqing, WANG Jieping, ZHANG Haifeng, LIU Guohong, CHEN Zheng, PAN Zhizhen, LIU Xin

Agricultural Bio-resources Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China

Abstract: The aim of this study was to investigate the characteristics of the spatial ecological niche of the *Bacillus*-like genera in a microbial fermentation bed (MFB) used for pig raising. To understand the ecological relationship between the

基金项目: 国家自然科学基金(31370059); 福建省重大专项项目农业科技重大专项(编号 2015NZ0003); 福建省种业创新与产业化工程项目(FJZZZY-1544); 福建省种业创新项目; 福建省自然科学基金(2016J01129); 国家重点研发计划项目(No.2018YFD0500201)

收稿日期: 2017-12-18; 网络出版日期: 2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: fzliubo@163.com

environment and *Bacillus*-like genera, and thereby clarify the functions of pig feces degradation, odor elimination, pig disease prevention, and resource utilization, the random sampling method was used to obtain a total of 14 samples from the upper (0—20 cm) and under (40—60 cm) layers of the MFB. Nutrition condition analysis and metagenome sequencing methods were used to analyze the nutrition characteristics of the litter samples (organic matter, total nitrogen, humic acid, crude fiber) and growth conditions (moisture, pH), with identification of the *Bacillus*-like genera and determination of their relative abundance (reads). Cluster analysis, correlation analysis, spatial distribution analysis, and ecological niche width and overlap were used to reveal the characteristics of the spatial ecological niche and the relationships between it and other factors. A total of 24 *Bacillus*-like genera within six families were identified in the samples from the MFB (including two non-*Bacillus* genera), of which the genera *Ammoniibacillus*, *Desulfuribacillus*, and *Tuberibacillus* were all newly recorded genera in China. The three genera with the highest relative contents (reads) in the measured ecological niche were *Bacillus* (reads=8020), *Lactobacillus* (reads=4565), and *Tuberibacillus* (reads=1418), respectively. The total numbers of the *Bacillus*-like genera showed no significant differences ($P > 0.05$) between the upper and under layers of the ecological niche in the MFB. However, differences in the *Bacillus*-like genera were found at the level of their subcommunity structure: the top five genera with the highest contents were *Bacillus* (532.86), *Lactobacillus* (480.43), *Geobacillus* (88.86), *Gracilibacillus* (70.00), and *Paenibacillus* (40.86) in the upper layer, and *Bacillus* (612.86), *Tuberibacillus* (188.57), *Lactobacillus* (171.71), *Paucisalibacillus* (60.00), and *Ureibacillus* (46.71) in the under layer. The results showed that the five highest ecological niche breadth values of *Bacillus*-like genera were those of *Bacillus* (10.5159), *Ornithinibacillus* (8.6094), *Paenibacillus* (7.8463), *Oceanobacillus* (6.9927), and *Rummeliibacillus* (5.7417). The results indicated that the Pianka measurement values of the spatial ecological niche overlap between any two *Bacillus*-like genera ranged from 0.00—0.99, some of them had a high overlap, such as *Gracilibacillus* and *Ammoniibacillus*, while some of them had almost no overlap, such as *Desulfuribacillus* and *Aneurinibacillus*. Moreover, there existed a relationship between the ecological niche breadth and ecological niche overlap: the genera with a wide ecological niche breadth, such as *Bacillus*, had niche overlap values from 0.20—0.80 with the other genera, while those with a narrow ecological niche breadth, such as *Geobacillus*, had niche overlap values under 0.20 or over 0.80.

Key Words: microbial fermentation bed (MFB); *Bacillus*-like genera; ecological niche breadth; ecological niche overlap; spatial distribution pattern; subcommunity differentiation

微生物发酵床(microbial fermentation bed, MFB)利用植物废弃物如谷壳、秸秆、锯糠、椰糠等材料制作发酵床垫层,接种微生物,猪养殖在垫层上,排出的粪便由微生物分解消纳,原位发酵成有机肥^[1]。大量的研究认为,微生物发酵床养殖是实现粪污无害化与环境友好型的一种自然健康养殖技术,能明显改善猪舍内的环境卫生,消除臭味,增强免疫力,降低呼吸道和消化道等疾病的发病率,减少抗生素等药物的使用,提高猪肉品质^[2-10]。德国学者 Kaufmann 等研究了育肥猪微生物发酵床(the biological-bed system for fattening pigs)中猪粪营养平衡^[11],法国学者 Bonneau 等指出发酵床模式提供了养猪最优的环境和经济模式^[12],国内学者陈倩倩等研究了微生物发酵床对猪大肠杆菌种群抑制作用^[13],郑雪芳等报道了微生物发酵床对猪舍大肠杆菌病原的生物防治作用^[14],发酵床中的芽胞杆菌对猪病防控、臭味分解、有机质降解发挥着重要的作用^[15-21]。

微生物发酵床的空间微环境下,生物因子和非生物因子(营养成分、温度、湿度、pH、通气量等)决定了垫料微生物生长,形成了独特的生态位。Grinnell 指出从微生境(microhabitat)、非生物因子(abiotic factor)、资源(resource)和被捕食者(predator)等环境限制性因子,把空间生态位定义为“恰好被生物所占据的最后分布单位”^[22]。微生物空间生态位的研究较少,贺纪正等定义了适应环境的微生物功能群所占据空间为微生物生态位^[23]。王子迎等提出在一定的植物病害系统中,某种病原物在其病害循环的每个时段上的全部生态学过程中所具有的功能地位,称为该病原物在该植物病害系统中的生态位^[24]。Fazion 等研究了苏云金芽胞杆菌在

昆虫幼虫内的孢子萌发机制,指出带有 pHT8_1 质粒的菌体占据了幼虫体内生态位,从而导致病害的扩增^[25];Zhang 等研究婴儿食品蜡状芽胞杆菌污染菌时,发现带有肠毒素的菌株占有了中国婴儿食品污染菌的生态位^[26];Blackburn 等建立了吉尔吉斯斯坦炭疽芽胞杆菌生态位模型,预测炭疽病发生的风险^[27];Morton 等开发了平衡树分析软件揭示微生物生态位变化^[28];Piché-Choquette 等研究了氢气氧化细菌改变土壤微生物生态位^[29];Hong 等研究了环境差异引起的土壤奇古菌(*Thaumarchaeota*)生态位的分化^[30]。Chikerema 等建立了津巴布韦炭疽芽胞杆菌生态位空间模型^[31]。

芽胞杆菌作为优势种类占据着微生物发酵床垫料空间生态位^[13],刘国红等利用培养分离的方法研究了养猪微生物发酵床芽胞杆菌空间分布,从 32 份样品中共获得芽胞杆菌 452 株,分别隶属于芽胞杆菌纲的 2 个科、8 个属、48 个种,总含量高达 4.41×10^8 cfu/g,微生物发酵床的芽胞杆菌种类丰富、数量高^[32]。关于养猪发酵床优势微生物群落—芽胞杆菌空间生态位特性的研究未见报道。

本研究通过采样程序,对微生物发酵床不同空间位置的垫料进行采样,分析垫料营养成分,利用宏基因方法组测定垫料微生物组,进行芽胞杆菌活菌计数,分析垫料芽胞杆菌空间生态位数量分布、亚群落分化、生态位宽度与重叠等,以期揭示养猪发酵床芽胞杆菌空间生态位特性,为阐明发酵床猪粪降解、臭味消除、猪病防控、资源化利用提供科学数据。

1 材料与方法

1.1 微生物发酵床空间生态位垫料采样方法

采样地点:福建省农业科学院福清现代设施农业样本工程示范基地。采样对象:微生物发酵床大栏养猪舍,该大栏发酵床猪舍建筑面积为 2100 m²(长 60 m,宽 35 m),养殖面积为 1600 m²,发酵床深度 80 cm,发酵床垫料由 33%椰糠、33%锯糠和 34%谷壳组成。

发酵床饲养 1600 头育肥猪,饲养密度为每平方米 1 头,垫料管理表层 30cm 每 2 天旋耕 1 次,底层不作翻耕,垫料下沉补充新垫料到原来高度,猪舍连续使用 2 年。将大栏发酵床长度方向划分 8 栏(记为 1、2、3、4、5、6、7 和 8),宽度方向划分 4 栏(记为 1、2、3、4),共 32 个小栏,采样格局平面图见图 1。根据随机采样法选择采样点,每个采样点用五点取样方法,采集上层 0—20 cm 和下层 40—60 cm 深度垫料,采集的样品均匀混合后取 1000 g 装入无菌聚氯乙烯塑料瓶,带回实验室放入 4 °C 冰箱内,进行芽胞杆菌的培养分离和宏基因组分析。垫料成分测定(水份、pH、有机质、全氮、腐殖酸、粗纤维)由资质单位福建省农科院土肥所完成。

	1	2	3	4	5	6	7	8
4	(4, 1)			(4, 4)			(4, 7)	
3		(3, 2)			(3, 5)			
2								
1	(1, 1)							(1, 8)

图 1 微生物发酵床空间生态位垫料采样格局

Fig.1 Sampling pattern for spatial ecological niche analysis in microbial fermentation bed for pig raising

横向 1—8:猪舍横向 1—8 栏;纵向 1—4:猪舍纵向 1—4 栏

1.2 微生物发酵床空间生态位细菌宏基因组测序

按土壤 DNA 提取试剂盒 FastDNA SPIN Kit for Soil 的操作指南,称取 500 mg 垫料样本进行总 DNA 的提取。采用琼脂糖凝胶电泳检测总 DNA 浓度,稀释至终浓度为 1 ng/μL 开展后续试验。采用原核生物 16S rDNA 基因 V3—V4 区通用引物 U341F 和 U785R 对各垫料样本总 DNA 进行 PCR 扩增,PCR 反应重复 3 次。取相同体积混合后进行目的片段回收,所用胶回收试剂盒为 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒(Axygen 公司)。采用 QuantiFluorTM—ST 蓝色荧光定量系统(Promega 公司)对回收产物进行定量检测。构建插入片段为 350 bp 的 paired-end(PE)文库(TruSeqTM DNA Sample Prep Kit 建库试剂盒,Illumina 公司),经 Qubit 定量和文库

检测,HiSeq 上机测序,测序由上海美吉完成。

1.3 微生物发酵床空间生态位芽胞杆菌活菌计数

通过梯度稀释涂布法,分离微生物发酵床样品中的芽胞杆菌,根据菌落形态特征等进行芽胞杆菌种类归类、分子鉴定、统计计数,每个样本重复 3 次,按垫料采样坐标的上层和下层分别统计活菌数,进行检验活菌数的垂直分布差异;分离纯化菌株,采用-80℃甘油冷冻法进行保存,采用 Tris—饱和酚法提取芽胞杆菌基因组 DNA,采用通用细菌 16S rRNA 引物进行扩增、测序、鉴定,方法参见 Liu 等所描述^[33]。

1.4 微生物发酵床空间生态位芽胞杆菌数量(reads) 分布

从宏基因组分析结果中提取芽胞杆菌属及其近缘属数量(reads) 构建矩阵,分析比较垫料上层与下层数量差异、芽胞杆菌优势属的分布。

1.5 微生物发酵床空间生态位芽胞杆菌亚群落分化

利用宏基因组分析结果,提取芽胞杆菌属及其近缘属数量(reads),按上层和下层分布分别构建矩阵,以属种类为样本,采样点为指标,马氏距离为尺度,可变类平均法进行系统聚类,分析上层和下层芽胞杆菌亚群落分化特征。

1.6 微生物发酵床芽胞杆菌空间生态位宽度与重叠

以芽胞杆菌的属种类为样本,以空间样本为指标,构建数据矩,用 Levins 生态位宽度公式和 Pianka 生态位重叠公式分别计算生态位宽度和生态位重叠值^[34]。计算公式如下:

(1)Levins 生态位宽度公式: $B = 1 / \sum (P_i^2)$, P_i 为利用资源 i 的个体比例。

(2)Pianka 生态位重叠公式(O_{ik}):

$$O_{ik} = \sum_{j=1}^r (n_{ij} \times n_{kj}) / \sqrt{\sum_{j=1}^r (n_{ij})^2 \sum_{j=1}^r (n_{kj})^2}$$

式中, O_{ik} 为芽胞杆菌属种类 i 和种类 k 的生态位重叠值, n_{ij} 和 n_{kj} 为芽胞杆菌属种类 i 和 k 在资源单位 j 中所占的个体比例, r 为芽胞杆菌属种类个体总数。分析软件采用 DPS v16.05 数据处理系统。

2 结果与分析

2.1 微生物发酵床空间生态位垫料营养特性与芽胞杆菌活菌数分析

垫料营养特征指标测定实验结果见表 1。微生物发酵床采样点垫料营养特性差异显著,垫料含水量差异范围为 37.7%—62.6%,pH 差异范围为 6.2—9.2,有机质差异范围为 37.4%—48.5%,全氮范围为 2.0%—3.2%,腐殖酸差异范围为 9.3%—16.5%,粗纤维差异范围为 10.0%—17.8%。上层垫料与下层垫料的成分特性存在显著差异,上层垫料的水分和 pH 值低于下层,有机质和粗纤维含量高于下层,全氮和腐殖酸低于下层。

表 1 微生物发酵床采样点垫料营养特性分析

Table 1 Analysis of nutritional characteristics of the bedding litters sampled from the microbial fermentation bed

样品序号 Number	深度+坐标 Depth and site	水份/% Moisture	pH	有机质/% Organic material	全氮/% Total nitrogen	腐殖酸/% Humic acid	粗纤维/% Crude fiber	芽胞杆菌活菌数 Numbers of <i>Bacillus</i> / ($\times 10^6$ cfu/mL)
1	0—20+(4,4)	61.60	9.20	45.30	2.40	11.10	11.40	26.7
2	0—20+(3,2)	59.60	7.10	38.90	2.30	9.30	11.30	10
4	0—20+(4,1)	37.70	6.30	45.90	2.00	9.90	17.80	11
6	0—20+(1,1)	54.60	7.80	42.50	3.50	9.00	13.00	21.7
9	0—20+(4,7)	61.40	9.50	42.20	2.10	12.70	12.80	12.3
12	0—20+(1,8)	28.70	8.10	45.30	2.60	12.90	13.00	15
14	0—20+(3,5)	47.60	6.50	48.50	2.10	11.10	17.30	10.7
上层垫料平均值 Average of upper layer		50.17	7.79	44.09	2.43	10.86	13.80	15.34

续表

样品序号 Number	深度+坐标 Depth and site	水份/% Moisture	pH	有机质/% Organic material	全氮/% Total nitrogen	腐殖酸/% Humic acid	粗纤维/% Crude fiber	芽胞杆菌活菌数 Numbers of <i>Bacillus</i> / ($\times 10^6$ cfu/mL)
3	40—60+(3,2)	60.20	7.50	42.20	2.20	10.60	11.70	14
5	40—60+(3,5)	43.60	6.20	45.10	2.10	11.40	14.80	16.3
7	40—60+(4,7)	62.60	9.60	39.30	2.60	9.70	10.00	14.7
8	40—60+(4,1)	51.90	7.50	38.30	2.50	13.60	11.90	4.3
10	40—60+(4,4)	60.50	9.10	44.80	2.70	16.50	11.70	15.7
11	40—60+(1,8)	46.00	8.50	37.40	3.20	12.30	13.60	6
13	40—60+(1,1)	50.80	7.40	38.20	3.20	18.10	16.20	11.7
下层垫料平均值 Average of under layer		53.66	7.97	40.76	2.64	13.17	12.84	11.81

实验测定微生物发酵床垫料芽胞杆菌活菌数(表2),并根据芽胞杆菌活菌数进行统计分析(表3)。微生物发酵床垫料空间采样点芽胞杆菌活菌数量存在显著差异,最小含量为 $4.3(\times 10^6$ cfu/mL),最大含量为 $26.7(\times 10^6$ cfu/mL);垫料上层(0—20 cm)采样单元芽胞杆菌含量平均值为 $15.34(\times 10^6$ cfu/mL),下层(40—60 cm)采样单元平均值为 $11.81(\times 10^6$ cfu/mL),两处理方差齐性,均值差异检验 $t = 1.1634, df = 12, P = 0.2673$ 。检测结果表明,上层垫料与下层垫料芽胞杆菌数量差异不显著($P > 0.05$)。

表2 微生物发酵床垫料空间样本芽胞杆菌活菌计数

Table 2 Colony forming unit of the *Bacillus*-like species taken from the MFB

编号 Number	垫料深度+相对坐标 Deep+ relative coordinates	芽胞杆菌活菌数量($\times 10^6$ cfu/mL)			平均值 Average
		重复 I Repeation1	重复 II Repeation2	重复 III Repeation3	
1	0—20+(4,4)	20	31	29	26.7
2	0—20+(3,2)	10	8	12	10.0
4	0—20+(4,1)	19	6	8	11.0
6	0—20+(1,1)	26	18	21	21.7
9	0—20+(4,7)	18	11	8	12.3
12	0—20+(1,8)	11	15	19	15.0
14	0—20+(3,5)	9	12	11	10.7
垫料上层芽胞杆菌活菌数平均值 Average of upper layer		15.34±6.42			
3	40—60+(3,2)	10	13	19	14.0
5	40—60+(3,5)	13	18	18	16.3
7	40—60+(4,7)	17	16	11	14.7
8	40—60+(4,1)	5	4	4	4.3
10	40—60+(4,4)	19	16	12	15.7
11	40—60+(1,8)	3	5	10	6.0
13	40—60+(1,1)	10	16	9	11.7
垫料下层芽胞杆菌活菌数平均值 Average of under layer		11.81±4.80			

2.2 微生物发酵床空间生态位细菌宏基因组测序

测序结果见表4。垫料样本短序列(reads)范围为83279—135829条,细菌种类(OTUs)范围为929—1714个,测序覆盖度(Coverage)均在0.99以上;Ace指数、Chao指数、香农指数(shannon)、辛普森指数(simpson)。样本的稀释曲线(图2)和香农指数稀释曲线(图3)接近平台,表明测序深度已经基本覆盖样本中的所有细菌物种,覆盖率高(>0.99)。

表3 微生物发酵床垫料空间样本芽胞杆菌活菌计数均数t检验*

Table 3 T-test on colony forming unit of the *Bacillus*-like species taken from the MFB

编号 Number	样本数量 Numbers	均值 Average	标准差 Standard deviation	标准误 Standard error	95%置信区间 Confidence interval	
上层垫料 Average of upper layer	7	15.3429	6.4257	2.4287	9.4001	21.2856
下层垫料 Average of under layer	7	11.8143	4.8064	1.8166	7.3691	16.2595
差值 Difference		3.5286	5.6741	3.0329	-3.0796	10.1368

* 均值差异检验 $t = 1.1634, df = 12, P = 0.2673$

表4 微生物发酵床垫料空间生态位样本细菌宏基因组测定

Table 4 Metagenome sequencing of the space ecological niche samples from the MFB

编号 Number	序列数 Read numbers	可操作分类单元 Operational taxonomic unit	16S rDNA 测序 (0.97) Sequencing of 16S rDNA				
			Ace 指数 Ace	Chao 指数 Chao	覆盖率 Coverage	香农指数 Hannon	辛普森指数 Simpson
1	102575	1608	1824 (1779, 1882)	1879 (1809, 1973)	0.997114	5.14 (5.13, 5.15)	0.0212 (0.0208, 0.0216)
2	129891	1698	1922 (1875, 1981)	1973 (1902, 2068)	0.997721	5.55 (5.54, 5.55)	0.0101 (0.0100, 0.0103)
3	129077	1726	1928 (1885, 1983)	1932 (1878, 2006)	0.997846	5.54 (5.53, 5.55)	0.0118 (0.0116, 0.0120)
4	83279	1255	1604 (1536, 1689)	1592 (1511, 1700)	0.995845	4.68 (4.67, 4.7)	0.0252 (0.0248, 0.0255)
5	137195	1192	1381 (1337, 1438)	1421 (1356, 1512)	0.998287	4.85 (4.85, 4.86)	0.0187 (0.0185, 0.0189)
6	120249	1620	1832 (1787, 1889)	1855 (1793, 1937)	0.997613	5.37 (5.36, 5.38)	0.0111 (0.0110, 0.0112)
7	134760	1624	1886 (1834, 1951)	1908 (1839, 2001)	0.997544	4.8 (4.79, 4.81)	0.0306 (0.0301, 0.0310)
8	135829	1386	1591 (1546, 1650)	1597 (1539, 1676)	0.998115	5.1 (5.09, 5.11)	0.0166 (0.0163, 0.0168)
9	119811	1711	1997 (1942, 2067)	2047 (1966, 2153)	0.997087	5.11 (5.1, 5.12)	0.0255 (0.0251, 0.0260)
10	131818	1714	1950 (1902, 2010)	1961 (1899, 2043)	0.997618	5.17 (5.16, 5.19)	0.0163 (0.0161, 0.0165)
11	123334	1414	1666 (1614, 1733)	1692 (1621, 1789)	0.997584	4.88 (4.87, 4.89)	0.0263 (0.0259, 0.0267)
12	111290	1257	1566 (1503, 1646)	1574 (1493, 1683)	0.997232	4.96 (4.95, 4.97)	0.0153 (0.0151, 0.0155)
13	113781	929	1121 (1075, 1181)	1098 (1048, 1169)	0.998137	3.59 (3.57, 3.6)	0.0943 (0.0932, 0.0954)
14	113573	1564	1791 (1744, 1851)	1817 (1752, 1904)	0.997385	5.19 (5.17, 5.2)	0.0159 (0.0157, 0.0161)

2.3 基于宏基因测序微生物发酵床空间生态位芽胞杆菌含量 (reads) 分布

2.3.1 属水平的芽胞杆菌种类鉴定

利用宏基因测序, 鉴定出芽胞杆菌目 21 个属 (表 5) 和非芽胞杆菌目的 3 个属, 分属于 6 芽胞杆菌个科, 即芽胞杆菌科、脂环酸芽胞杆菌科、类芽胞杆菌科、动球菌科、芽胞乳杆菌科、待建立的科; 相对含量最高的前 3 个属为 *Bacillus* (芽胞杆菌属) (reads = 8020)、*Lactobacillus* (乳杆菌属) (reads = 4565)、*Tuberibacillus* (肿块芽胞杆菌属) (reads = 1418); 其中 *Halothiobacillus* * (盐硫杆菌属) 属于 γ -变形菌纲细菌, *Roseibacillus* * (玫瑰杆菌属) 属于疣微菌纲细菌, *Lactobacillus* (乳杆菌属) 属于乳杆菌目细菌。 *Ammoniibacillus* #、*Desulfuribacillus* #、*Roseibacillus* * #、*Tuberibacillus* # 4 个属在国内未见研究报道, 为国内新记录属。

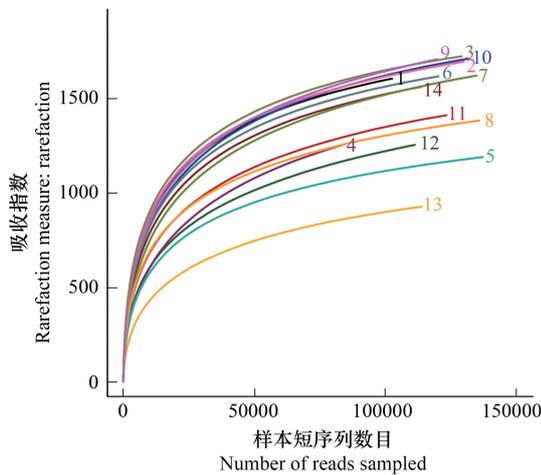


图 2 发酵床垫料样本细菌 read 稀释曲线

Fig.2 Dilution curve of bacterial reads in the litter samples from the MFB

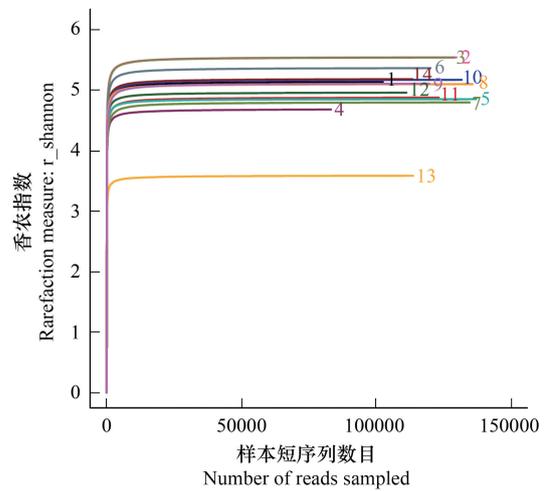


图 3 发酵床垫料样本细菌香农指数稀释曲线

Fig.3 Dilution curve of shannon index of bacteria in the litter samples from the MFB

表 5 基于宏基因组测序微生物发酵床垫料属水平芽胞杆菌种类鉴定

Table 5 Identification of the *Bacillus*-like genera in the litter samples from the MFB based on metagenome sequencing

拉丁文学名 Genus name	分类地位 Family	中文学名 Chinese name	含量 Reads
<i>Ammonibacillus</i> # ^[35]	类芽胞杆菌科	氨芽胞杆菌属	39
<i>Aneurinibacillus</i> ^[36]	类芽胞杆菌科	解硫酸素芽胞杆菌属	134
<i>Paenibacillus</i> ^[37]	类芽胞杆菌科	类芽胞杆菌属	431
<i>Thermobacillus</i> ^[38]	类芽胞杆菌科	热芽胞杆菌属	231
<i>Amphibacillus</i> ^[39]	芽胞杆菌科	兼性芽胞杆菌属	61
<i>Bacillus</i> ^[40]	芽胞杆菌科	芽胞杆菌属	8020
<i>Caldalkalibacillus</i> ^[41]	芽胞杆菌科	热碱芽胞杆菌属	43
<i>Geobacillus</i> s ^[42]	芽胞杆菌科	地芽胞杆菌属	796
<i>Gracilibacillus</i> s ^[43]	芽胞杆菌科	纤细芽胞杆菌属	661
<i>Halolactibacillus</i> s ^[44]	芽胞杆菌科	盐乳芽胞杆菌属	456
<i>Oceanobacillus</i> s ^[45]	芽胞杆菌科	大洋芽胞杆菌属	397
<i>Ornithinibacillus</i> s ^[46]	芽胞杆菌科	鸟氨酸芽胞杆菌属	305
<i>Paucisalibacillus</i> s ^[47]	芽胞杆菌科	少盐芽胞杆菌属	598
<i>Sinibacillus</i> s ^[48]	芽胞杆菌科	中华芽胞杆菌属	34
<i>Vulcanibacillus</i> s ^[49]	芽胞杆菌科	火山芽胞杆菌属	239
<i>Rummeliibacillus</i> s ^[50]	动球菌科	鲁梅尔芽胞杆菌属	51
<i>Solibacillus</i> s ^[51]	动球菌科	土壤芽胞杆菌属	11
<i>Ureibacillus</i> s ^[52]	动球菌科	尿素芽胞杆菌属	383
<i>Tuberibacillus</i> # s ^[53]	芽胞乳杆菌科	肿块芽胞杆菌属	1418
<i>Sulfobacillus</i> s ^[54]	脂环酸芽胞杆菌科	硫化芽胞杆菌属	43
<i>Desulfuribacillus</i> # s ^[55]	待建新科	脱硫芽胞杆菌属	12
<i>Lactobacillus</i>	芽胞杆菌纲,乳杆菌科	乳杆菌属	4565
<i>Halothiobacillus</i> * s ^[56]	γ -变形菌纲,盐硫杆状菌科	盐硫杆状菌属	137
<i>Roseibacillus</i> * # s ^[57]	疣微菌纲,疣微菌科	玫瑰杆菌属	8

* 为非芽胞杆菌纲种类,#为中国新纪录属

2.3.2 芽胞杆菌数量 (reads) 垂直分布

根据宏基因组测序的芽胞杆菌 (reads) 测定 (表 6), 进行微生物发酵床上层和下层芽胞杆菌属水平含量 (reads) 均数 t 检验, 分析结果见表 7。上层芽胞杆菌数量平均值为 1212.13, 占细菌总数的 1.25%; 下层芽胞杆菌数量平均值为 1339.43, 占细菌总数的 1.06%; 两处理方差齐性, 均值差异检验 $t=0.0798$, $df=12$, $P=0.9377$, 统计学上差异不著 ($p>0.05$)。检测结果表明, 上层垫料与下层垫料芽胞杆菌数量差异不显著。

表 6 基于宏基因组测序的微生物发酵床芽胞杆菌属水平含量 (reads)

Table 6 Contents (reads) of the *Bacillus*-like genera in the litter samples from the MFB based on metagenome sequencing

芽胞杆菌相关属 <i>Bacillus</i> -like genus	上层垫料含量 Reads of upper layer							下层垫料含量 Reads of under layer						
	1	2	4	6	9	12	14	3	5	7	8	10	11	13
<i>Ammonibacillus</i> 氨芽胞杆菌属	0	2	0	7	0	18	0	1	0	1	10	0	0	0
<i>Amphibacillus</i> 兼性芽胞杆菌属	0	0	5	4	0	4	2	1	22	2	0	3	16	2
<i>Aneurinibacillus</i> 解硫胺素杆菌属	0	1	4	6	0	1	0	3	0	1	84	0	16	18
<i>Bacillus</i> 芽胞杆菌属	70	303	1101	630	248	861	517	1237	654	123	697	666	560	353
<i>Caldalkalibacillus</i> 热碱芽胞杆菌属	0	2	0	3	1	11	2	1	0	1	17	0	5	0
<i>Desulfuribacillus</i> 解硫芽胞杆菌属	9	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>Geobacillus</i> 地芽胞杆菌属	1	12	3	15	4	579	8	2	19	1	48	13	78	13
<i>Gracilibacillus</i> 纤细芽胞杆菌属	3	13	3	51	2	381	37	11	8	3	50	20	63	16
<i>Halolactibacillus</i> 盐乳杆菌属	57	4	9	18	27	13	14	2	253	28	4	5	10	12
<i>Halothiobacillus</i> 盐硫杆菌属	1	0	1	56	0	2	5	28	20	0	1	7	14	2
<i>Lactobacillus</i> 乳杆菌属	535	108	171	238	55	1975	281	56	724	182	42	91	88	19
<i>Oceanobacillus</i> 海洋芽胞杆菌属	7	5	7	73	3	102	51	22	28	8	12	33	38	8
<i>Ornithinibacillus</i> 鸟氨酸芽胞杆菌属	5	20	12	28	1	31	36	4	16	0	63	42	30	17
<i>Paenibacillus</i> 类芽胞杆菌属	8	43	8	61	18	55	93	13	28	3	34	1	62	4
<i>Paucisalibacillus</i> 微盐杆菌属	8	15	13	33	7	77	25	41	25	3	62	243	28	18
<i>Roseibacillus</i> 玫瑰杆菌属	1	5	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rummeliibacillus</i> 鲁梅尔芽胞杆菌属	15	8	4	3	0	5	2	3	10	0	0	0	1	0
<i>Sinibacillus</i> 土芽胞杆菌属	0	1	0	10	0	0	3	1	0	0	2	11	2	4
<i>Solibacillus</i> 土芽胞杆菌属	5	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	4	0
<i>Sulfobacillus</i> 硫芽胞杆菌属	0	3	2	0	0	0	2	1	0	0	12	0	8	15
<i>Thermobacillus</i> 热芽胞杆菌属	0	9	2	8	2	4	15	1	0	0	124	11	20	35
<i>Tuberibacillus</i> 肿块芽胞杆菌属	0	1	20	21	0	1	55	6	1232	2	14	0	4	62
<i>Ureibacillus</i> 豚芽胞杆菌属	6	3	0	24	1	6	16	0	0	1	7	229	0	90
<i>Vulcanibacillus</i> 武尔坎努斯杆菌属	28	1	0	4	53	3	1	9	21	83	0	20	14	2

表 7 基于宏基因组测序的微生物发酵床上层和下层芽胞杆菌属水平含量 (reads) 均数 t 检验 *

Table 7 T-test on contents (reads) of the *Bacillus*-like species in upper layer and under layer litters taken from the MFB

样本 Samples	样本数量 Numbers	均值 Average	标准差 Standard deviation	标准误 Standard error	95% 置信区间 95% confidence interval	
上层垫料 Average of upper layer	7	1385.2857	1264.2256	477.8324	216.0722	2554.4993
下层垫料 Average of under layer	7	1339.4286	844.6243	319.2380	558.2814	2120.5757
差值 Difference		45.8571	1075.0945	574.6622	-1206.2241	1297.9384

* 均值差异检验 $t=0.0798, df=12, P=0.9377$

2.3.3 芽胞杆菌优势属分布

不同芽胞杆菌属及其近缘属数量 (reads) 发酵床分布结果显示 (图 4): 微生物发酵床 14 个垫料样本检测到 24 个芽胞杆菌属, 总量 (reads) 达 19073, 不同属数量分布差异显著, 前 5 个分布最多的优势属为芽胞杆菌属 (*Bacillus*) (8020)、乳杆菌属 (*Lactobacillus*) (4565)、肿块芽胞杆菌属 (*Tuberibacillus*) (1418)、地芽胞杆菌属 (*Geobacillus*) (796) 和纤细芽胞杆菌属 (*Gracilibacillus*) (661)。

芽胞杆菌在垫料上层和下层垂直分布显示 (图 5): 上层垫料芽胞杆菌各属总量 (reads) 为 9697, 含量最低的为土芽胞杆菌属 (*Solibacillus*) 仅为 7 (reads), 最高的为芽胞杆菌属 (*Bacillus*) 达 3730 (reads); 下层垫料芽胞杆菌各属总量 (reads) 为 9376, 总量与上层差异不显著, 含量最低的玫瑰杆菌属 (*Roseibacillus*) 为 0, 最高的为芽胞杆菌属 (*Bacillus*) 达 4290。不同芽胞杆菌优势属在垫料上层和下层数量垂直分布差异显著 (图 6), 如芽胞杆菌属 (*Bacillus*) 上层分布 (3730) 低于下层分布 (4290), 肿块芽胞杆菌属 (*Tuberibacillus*) 上层 (98) 低于下层 (1320); 乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 上层 (3363) 分布高于下层 (1202), 地芽胞杆菌属 (*Geobacillus*) 上层 (622) 高于下层 (174), 纤细芽胞杆菌属 (*Gracilibacillus*) 上层 (490) 高于下层 (171) 等等。

2.4 微生物发酵床空间生态位芽胞杆菌亚群落分化

分别构建上层和下层垫料不同样本芽胞杆菌数量 (reads) 矩阵, 以属为样本, 样方为指标, 马氏距离为尺度, 可变类平均法进行系统聚类。可以看出, 垫料上下层芽胞杆菌亚群落分化存在显著差异。

垫料上层 (表 8、图 6), 芽胞杆菌亚群落分化为 4 个组, 第 1 组为微含量组, 数量 (reads) 总和为 18.67, 包含了 9 个芽胞杆菌属, 即 *Ammonibacillus* (氨芽胞杆菌属)、*Amphibacillus* (兼性芽胞杆菌属)、*Aneurinibacillus* (解硫酸素杆菌属)、*Caldalkalibacillus* (热碱芽胞杆菌属)

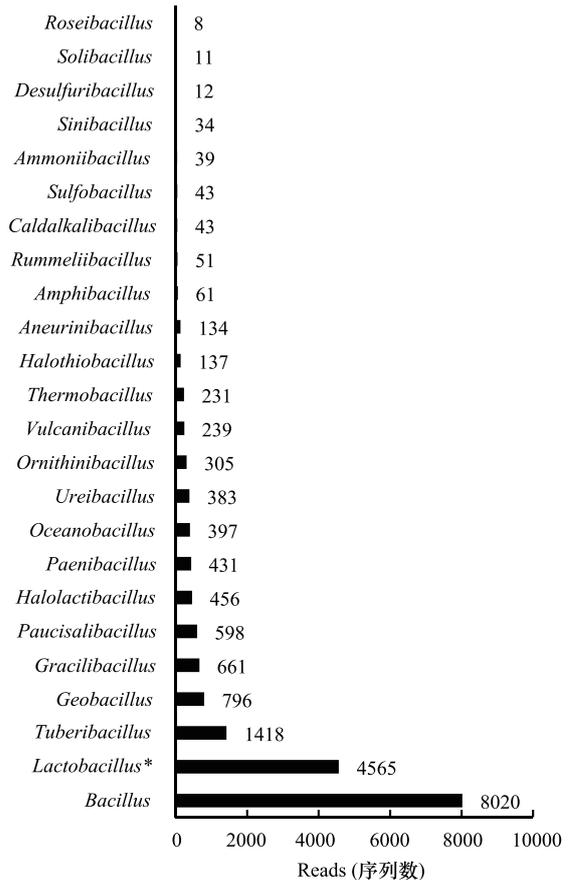


图 4 微生物发酵床垫料芽胞杆菌数量分布

Fig.4 Read distribution of the *Bacillus*-like genera in the MFB

Roseibacillus (玫瑰杆菌属)、*Solibacillus* (土芽胞杆菌属)、*Desulfuribacillus* (脱硫芽胞杆菌属)、*Sinibacillus*、*Ammonibacillus* (氨芽胞杆菌属)、*Sulfobacillus* (硫芽胞杆菌属)、*Caldalkalibacillus* (热碱芽胞杆菌属)、*Rummeliibacillus* (鲁梅尔芽胞杆菌属)、*Amphibacillus* (兼性芽胞杆菌属)、*Aneurinibacillus* (解硫酸素杆菌属)、*Halolactibacillus* (盐乳杆菌属)、*Thermobacillus* (热芽胞杆菌属)、*Vulcanibacillus* (武尔坎努斯杆菌属)、*Ornithinibacillus* (鸟氨酸芽胞杆菌属)、*Ureibacillus* (脲芽胞杆菌属)、*Oceanobacillus* (海洋芽胞杆菌属)、*Paenibacillus* (类芽胞杆菌属)、*Halothiobacillus* (盐硫杆菌属)、*Paucisalibacillus* (微盐杆菌属)、*Gracilibacillus* (纤细芽胞杆菌属)、*Geobacillus* (地芽胞杆菌属)、*Tuberibacillus* (肿块芽胞杆菌属)、*Lactobacillus* (乳杆菌属)、*Bacillus* (芽胞杆菌属)

属)、*Desulfuribacillus* (脱硫芽孢杆菌属)、*Roseibacillus* (玫瑰杆菌属)、*Sinibacillus*、*Solibacillus* (土芽孢杆菌属)、*Ureibacillus* (脲芽孢杆菌属);第2组为高含量组,数量(reads)总和为1494.99,包含了3个芽孢杆菌属,即*Bacillus* (芽孢杆菌属)、*Geobacillus* (地芽孢杆菌属)、*Ornithinibacillus* (鸟氨酸芽孢杆菌属);第3组为中含量组,数量(reads)总和为553.48,包含了8个芽孢杆菌属,即*Gracilibacillus* (纤细芽孢杆菌属)、*Halothiobacillus* (盐硫杆状菌属)、*Lactobacillus* (乳杆菌属)、*Oceanobacillus* (海洋芽孢杆菌属)、*Paucisalibacillus* (微盐杆菌属)、*Rummeliibacillus* (鲁梅尔芽孢杆菌属)、*Sulfobacillus* (硫芽孢杆菌属)、*Thermobacillus* (热芽孢杆菌属);第4组为低含量组,数量(reads)总和为154,包含了4个芽孢杆菌属,即*Halolactibacillus* (盐乳杆菌属)、*Paenibacillus* (类芽孢杆菌属)、*Tuberibacillus* (肿块芽孢杆菌属)、*Vulcanibacillus* (武尔坎努斯杆菌属)。

垫料下层(表9、图7)芽孢杆菌亚群落分化为4个组,第1组为微含量组,数量(reads)总和为57.27,包含了11个芽孢杆菌属,即*Ammoniiibacillus* (氨芽孢杆菌属)、*Amphibacillus* (兼性芽孢杆菌属)、*Aneurinibacillus* (解硫胺素杆菌属)、*Caldalkalibacillus* (热碱芽孢杆菌属)、*Desulfuribacillus* (脱硫芽孢杆菌属)、*Halolactibacillus* (盐乳杆菌属)、*Halothiobacillus* (盐硫杆状菌属)、*Roseibacillus* (玫瑰杆菌属)、*Rummeliibacillus* (鲁梅尔芽孢杆菌属)、*Sinibacillus*、*Solibacillus* (土芽孢杆菌属);第2组为中含量组,数量(reads)总和为756,包含了7个芽孢杆菌属,即*Bacillus* (芽孢杆菌属)、*Geobacillus* (地芽孢杆菌属)、*Gracilibacillus* (纤细芽孢杆菌属)、*Oceanobacillus* (海洋芽孢杆菌属)、*Ornithinibacillus* (鸟氨酸芽孢杆菌属)、*Paenibacillus* (类芽孢杆菌属)、*Thermobacillus* (热芽孢杆菌属);第3组为低含量组,数量(reads)总和为451.75,包含了4个芽孢杆菌属,即*Lactobacillus* (乳杆菌属)、*Paucisalibacillus* (微盐杆菌属)、*Sulfobacillus* (硫芽孢杆菌属)、*Vulcanibacillus* (武尔坎努斯杆菌属);第4组为高含量组,数量(reads)总和为823.5,包含了2个芽孢杆菌属,即*Tuberibacillus* (肿块芽孢杆菌属)、*Ureibacillus* (脲芽孢杆菌属)。

2.5 微生物发酵床空间生态位芽孢杆菌数量(reads)与垫料营养特性的相关性

2.5.1 微生物发酵床垫料营养特性主成分分析

基于微生物发酵床垫料营养特性测定数据矩阵,以欧氏距离为尺度,进行聚类分析和主成分分析,结果见表10、表11、图8。垫料营养特性的第1主成分特征值达96.15,包含了主要信息;主成分分析得分可以看出,垫

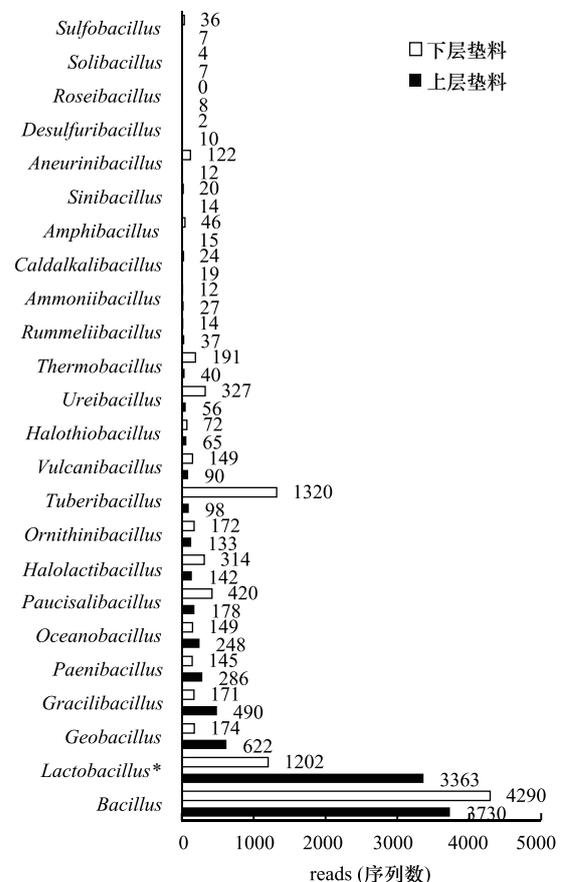


图5 微生物发酵床上层和下层芽孢杆菌数量分布

Fig.5 Read distribution of the *Bacillus*-like genera in the upper layer and under layer litters in the MFB

Sulfobacillus (硫芽孢杆菌属)、*Solibacillus* (土芽孢杆菌属)、*Roseibacillus* (玫瑰杆菌属)、*Desulfuribacillus* (脱硫芽孢杆菌属)、*Aneurinibacillus* (解硫胺素杆菌属)、*Sinibacillus*、*Amphibacillus* (兼性芽孢杆菌属)、*Caldalkalibacillus* (热碱芽孢杆菌属)、*Ammoniiibacillus* (氨芽孢杆菌属)、*Rummeliibacillus* (鲁梅尔芽孢杆菌属)、*Thermobacillus* (热芽孢杆菌属)、*Ureibacillus* (脲芽孢杆菌属)、*Halolactibacillus* (盐乳杆菌属)、*Vulcanibacillus* (武尔坎努斯杆菌属)、*Tuberibacillus* (肿块芽孢杆菌属)、*Ornithinibacillus* (鸟氨酸芽孢杆菌属)、*Halothiobacillus* (盐硫杆状菌属)、*Paucisalibacillus* (微盐杆菌属)、*Oceanobacillus* (海洋芽孢杆菌属)、*Paenibacillus* (类芽孢杆菌属)、*Gracilibacillus* (纤细芽孢杆菌属)、*Geobacillus* (地芽孢杆菌属)、*Lactobacillus* (乳杆菌属)、*Bacillus* (芽孢杆菌属)

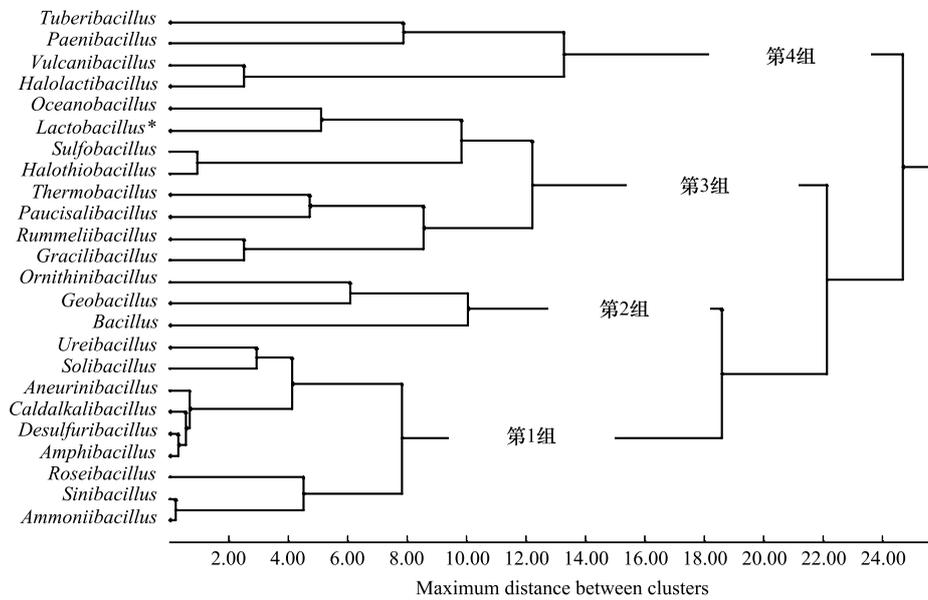


图 6 上层垫料芽胞杆菌亚群落分化

Fig.6 Cluster on subcommunity polarization for the Bacillus-like genera in the upper layer litters in the MFB

Tuberibacillus(肿块芽胞杆菌属)、*Paenibacillus*(类芽胞杆菌属)、*Vulcanibacillus*(武尔坎努斯杆菌属)、*Halolactibacillus*(盐乳杆菌属)、*Oceanobacillus*(海洋芽胞杆菌属)、*Lactobacillus*(乳杆菌属)、*Sulfobacillus*(硫芽胞杆菌属)、*Halothiobacillus*(盐硫杆菌属)、*Thermobacillus*(热芽胞杆菌属)、*Paucisalibacillus*(微盐杆菌属)、*Rummeliibacillus*(鲁梅尔芽胞杆菌属)、*Gracilibacillus*(纤细芽胞杆菌属)、*Ornithinibacillus*(鸟氨酸芽胞杆菌属)、*Geobacillus*(地芽胞杆菌属)、*Bacillus*(芽胞杆菌属)、*Ureibacillus*(脲芽胞杆菌属)、*Solibacillus*(土芽胞杆菌属)、*Aneurinibacillus*(解硫胺素杆菌属)、*Caldalkalibacillus*(热碱芽胞杆菌属)、*Desulfuribacillus*(脱硫芽胞杆菌属)、*Amphibacillus*(兼性芽胞杆菌属)、*Roseibacillus*(玫瑰杆菌属)、*Sinibacillus*、*Ammonii bacillus*(氨芽胞杆菌属)

料水分、有机质得分较高,为正值,全氮及其其他因子得分为负值,形成了 3 个分支,这与聚类分析结果相符合,形成 3 个主成分,即水分主成分、有机质主成分、营养主成分(图 8)。

表 8 上层垫料芽胞杆菌属亚群落分化

Table 8 Subcommunity polarization for the Bacillus-like genera in the upper layer litters in the MFB

编号 Number	第 1 组 First group	第 2 组 Second group	第 3 组 Thirdgroup	第 4 组 Forth group
1	2.33	25.33	71.12	23.25
2	1.56	111.67	20.12	12.25
4	1.00	372.00	25.37	9.25
6	6.22	224.33	57.75	26.00
9	0.44	84.33	8.62	24.50
12	4.56	490.33	318.25	18.00
14	2.56	187.00	52.25	40.75
总和 Total	18.67	1494.99	553.48	154.00

表 9 下层垫料芽胞杆菌属亚群落分化

Table 9 Subcommunity polarization for the Bacillus-like genera in the under layer litters in the MFB

编号 Number	第 1 组 First group	第 2 组 Second group	第 3 组 Thirdgroup	第 4 组 Forth group
3	3.64	184.29	26.75	3.00
5	27.73	107.57	192.50	616.00
7	3.09	19.71	67.00	1.50
8	10.73	146.86	29.00	10.50
10	2.45	112.29	88.50	114.50
11	6.18	121.57	34.50	2.00
13	3.45	63.71	13.50	76.00
总和 Total	57.27	756.00	451.75	823.50

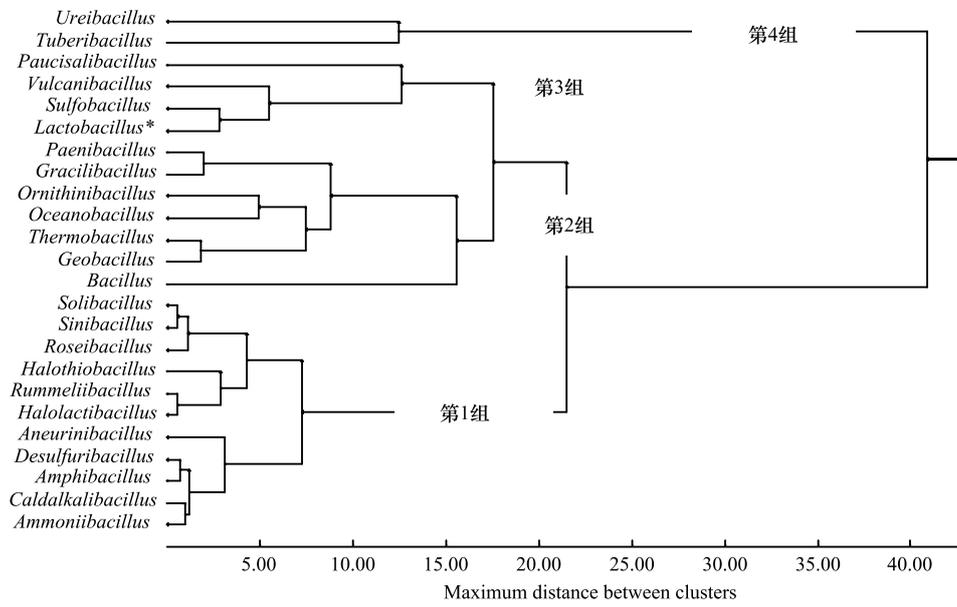


图 7 下层垫料芽胞杆菌亚群落分化

Fig.7 Cluster on subcommunity polarization for the Bacillus-like genera in the under layer litters in the MFB

Ureibacillus (脲芽孢杆菌属)、*Tuberibacillus* (肿块芽孢杆菌属)、*Paucisalibacillus* (微盐杆菌属)、*Vulcanibacillus* (武尔坎努斯杆菌属)、*Sulfobacillus* (硫芽孢杆菌属)、*Lactobacillus* (乳杆菌属)、*Paenibacillus* (类芽孢杆菌属)、*Gracilibacillus* (纤细芽孢杆菌属)、*Ornithinibacillus* (鸟氨酸芽孢杆菌属)、*Oceanobacillus* (海洋芽孢杆菌属)、*Thermobacillus* (热芽孢杆菌属)、*Geobacillus* (地芽孢杆菌属)、*Bacillus* (芽孢杆菌属)、*Solibacillus* (土芽孢杆菌属)、*Sinibacillus*、*Roseibacillus* (玫瑰杆菌属)、*Halolactibacillus* (盐乳杆菌属)、*Rummeliibacillus* (鲁梅尔芽孢杆菌属)、*Halothiobacillus* (盐硫杆菌属)、*Aneurinibacillus* (解硫酸素杆菌属)、*Desulfuribacillus* (脱硫芽孢杆菌属)、*Caldalkalibacillus* (热碱芽孢杆菌属)、*Ammoniobacillus* (氨芽孢杆菌属)、*Amphibacillus* (兼性芽孢杆菌属)

表 10 微生物发酵床垫料营养特性主成分特征值

Table 10 Principal component eigenvalues for nutrition characteristics of the litters in the MFB

主成分分析 PCA Principal component analysis	特征值 Eigenvalues	百分率/% Percentage	累计百分率/% Cumulative percentage
1	13.46	96.15	96.15
2	0.48	3.41	99.56
3	0.03	0.25	99.81
4	0.02	0.17	99.99
5	0.00	0.01	100.00

表 11 微生物发酵床垫料营养特性主成分分析得分

Table 11 Principal component analysis score for nutrition characteristics of the litters in the MFB

因子 Factor	Y(i,1)	Y(i,2)	Y(i,3)	Y(i,4)	Y(i,5)
水份 Moisture	5.3890	-0.9694	-0.0099	-0.0303	-0.0017
pH	-2.5162	-0.1922	-0.1292	0.1524	0.0587
有机质 Organic material	3.8224	1.1277	-0.0538	0.0818	-0.0100
全氮 Total nitrogen	-3.4830	-0.2375	-0.1550	0.0255	-0.0618
腐殖酸 Humic acid	-1.7325	-0.0178	0.3620	0.0651	-0.0062
粗纤维 Crude fiber	-1.4797	0.2892	-0.0142	-0.2945	0.0211

2.5.2 芽胞杆菌数量与垫料成分特性相关性分析

以芽胞杆菌数量 (reads) 和垫料营养特性为样本, 垫料空间样本为指标, 构建矩阵 (表 12), 进行相关性分析, 芽胞杆菌与营养条件的相关系数见表 10。相关系数显著检验的临界值 $\alpha=0.05$ 时, $r=0.5324$ (显著), $\alpha=0.$

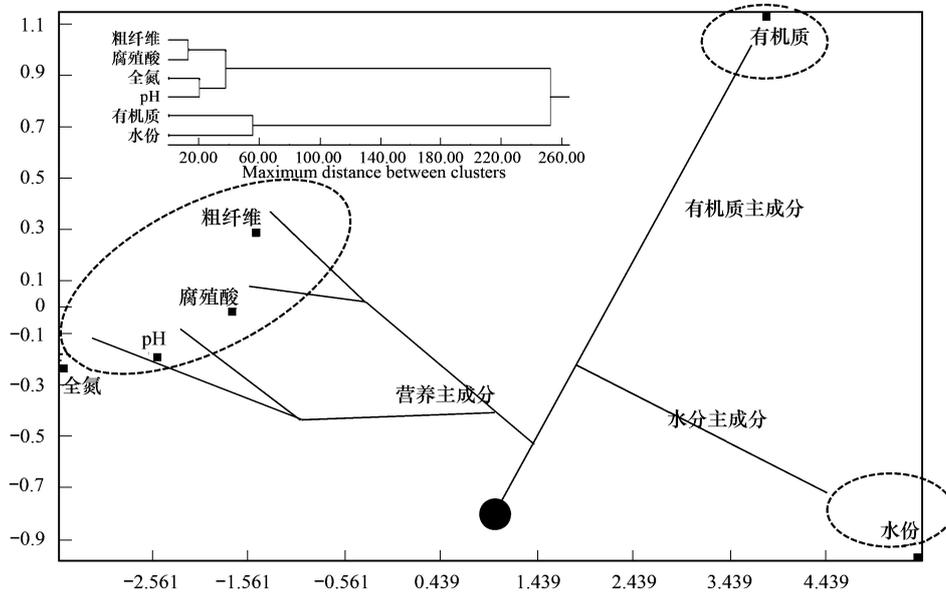


图 8 微生物发酵床垫料营养特性聚类分析与主成分分析

Fig.8 Cluster and principal component analyses of nutrition characteristics of the litters in the MFB

01 时, $r=0.6614$ (极显著); 结果表明水分主成分提供了芽胞杆菌生存条件, 不同的属存在差异, 与 *Geobacillus* (-0.6825)、*Gracilibacillus* (-0.6804)、*Lactobacillus* (-0.6636) 呈显著负相关; 基质主成分 (有机质) 提供了芽胞杆菌生存基质, 对所有芽胞杆菌相关系数不显著, 都是需要的; 营养主成分提供了芽胞杆菌营养条件, 不同属存在差异, 与 *Vulcanibacillus* (0.7063) 极显著相关, 全氮与 *Sinibacillus* (0.6021) 显著相关, 腐殖酸与 *Ureibacillus* (0.6898) 极显著相关, 其余相关性不显著。

表 12 表 2 (营养特性) 和表 6 (芽胞杆菌含量 (reads)) 合并

Table 12 Merging of Table 2 and Table 6

属名 Genus	样本编号 Number of samples													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<i>Ammonibacillus</i> 氨芽胞杆菌属	0	2	1	0	0	7	1	10	0	0	0	18	0	0
<i>Amphibacillus</i> 兼性芽胞杆菌属	0	0	1	5	22	4	2	0	0	3	16	4	2	2
<i>Aneurinibacillus</i> 解硫胺素杆菌属	0	1	3	4	0	6	1	84	0	0	16	1	18	0
<i>Bacillus</i> 芽胞杆菌属	70	303	1237	1101	654	630	123	697	248	666	560	861	353	517
<i>Caldalkalibacillus</i> 热碱芽胞杆菌属	0	2	1	0	0	3	1	17	1	0	5	11	0	2
<i>Desulfuribacillus</i> 解硫芽胞杆菌属	9	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0
<i>Geobacillus</i> 地芽胞杆菌属	1	12	2	3	19	15	1	48	4	13	78	579	13	8
<i>Gracilibacillus</i> 纤细芽胞杆菌属	3	13	11	3	8	51	3	50	2	20	63	381	16	37
<i>Halolactibacillus</i> 盐乳杆菌属	57	4	2	9	253	18	28	4	27	5	10	13	12	14
<i>Halothiobacillus</i> 盐硫杆菌属	1	0	28	1	20	56	0	1	0	7	14	2	2	5
<i>Lactobacillus</i> 乳杆菌属	535	108	56	171	724	238	182	42	55	91	88	1975	19	281

续表

属名 Genus	样本编号 Number of samples													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<i>Oceanobacillus</i> 海洋芽孢杆菌属	7	5	22	7	28	73	8	12	3	33	38	102	8	51
<i>Ornithinibacillus</i> 鸟氨酸芽孢杆菌属	5	20	4	12	16	28	0	63	1	42	30	31	17	36
<i>Paenibacillus</i> 类芽孢杆菌属	8	43	13	8	28	61	3	34	18	1	62	55	4	93
<i>Paucisolibacillus</i> 微盐杆菌属	8	15	41	13	25	33	3	62	7	243	28	77	18	25
<i>Roseibacillus</i> 玫瑰杆菌属	1	5	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Rummeliibacillus</i> 鲁梅尔芽孢杆菌属	15	8	3	4	10	3	0	0	0	0	1	5	0	2
<i>Sinibacillus</i>	0	1	1	0	0	10	0	2	0	11	2	0	4	3
<i>Solibacillus</i> 土芽孢杆菌属	5	0	0	0	0	1	0	0	0	0	4	1	0	0
<i>Sulfobacillus</i> 硫芽孢杆菌属	0	3	1	2	0	0	0	12	0	0	8	0	15	2
<i>Thermobacillus</i> 热芽孢杆菌属	0	9	1	2	0	8	0	124	2	11	20	4	35	15
<i>Tuberibacillus</i> 肿块芽孢杆菌属	0	1	6	20	1232	21	2	14	0	0	4	1	62	55
<i>Ureibacillus</i> 脲芽孢杆菌属	6	3	0	0	0	24	1	7	1	229	0	6	90	16
<i>Vulcanibacillus</i> 武尔坎努斯杆菌属	28	1	9	0	21	4	83	0	53	20	14	3	2	1
水份/% Moisture	61.6	59.6	37.7	54.6	61.4	28.7	47.6	60.2	43.6	62.6	51.9	60.5	46	50.8
pH	9.2	7.1	6.3	7.8	9.5	8.1	6.5	7.5	6.2	9.6	7.5	9.1	8.5	7.4
有机质/% Organic material	45.3	38.9	45.9	42.5	42.2	45.3	48.5	42.2	45.1	39.3	38.3	44.8	37.4	38.2
全氮/% Total nitrogen	2.4	2.3	2	3.5	2.1	2.6	2.1	2.2	2.1	2.6	2.5	2.7	3.2	3.2
腐殖酸/% Humic acid	11.1	9.3	9.9	9	12.7	12.9	11.1	10.6	11.4	9.7	13.6	16.5	12.3	18.1
粗纤维/% Crude fiber	11.4	11.3	17.8	13	12.8	13	17.3	11.7	14.8	10	11.9	11.7	13.6	16.2

表 13 芽孢杆菌数量 (reads) 与垫料营养条件的相关系数

Table 13 Correlation coefficient between number (reads) of the *Bacillus*-like genera and nutrition characteristics of the litters in the MFB

属名 Genus	水份 Moisture/%	有机质 Organic material/%	pH	全氮 Total nitrogen/%	腐殖酸 Humic acid/%	粗纤维 Crude fiber/%
<i>Ammonibacillus</i> 氨芽孢杆菌属	-0.5119	0.0031	-0.0070	0.2080	0.0084	-0.1900
<i>Amphibacillus</i> 兼性芽孢杆菌属	-0.4433	0.0409	-0.3171	0.0805	-0.0457	0.2856
<i>Aneurinibacillus</i> 解硫酸素杆菌属	-0.0460	-0.4850	-0.1108	0.1623	0.2774	-0.0843
<i>Bacillus</i> 芽孢杆菌属	-0.4965	0.2611	-0.5171	-0.1632	-0.0584	0.3118
<i>Caldalkalibacillus</i> 热碱芽孢杆菌属	-0.3635	-0.2709	-0.0329	0.1395	0.1094	-0.1877
<i>Desulfuribacillus</i> 解硫芽孢杆菌属	0.3646	0.2292	0.4569	-0.0978	-0.0655	-0.3102
<i>Geobacillus</i> 地芽孢杆菌属	-0.6825**	0.1615	0.0517	0.1009	0.1228	-0.0390

续表

属名 Genus	水份 Moisture/%	有机质 Organic material/%	pH	全氮 Total nitrogen/%	腐殖酸 Humic acid/%	粗纤维 Crude fiber/%
<i>Gracilibacillus</i> 纤细芽孢杆菌属	-0.6804 **	0.1705	0.0311	0.1637	0.1075	-0.0222
<i>Halolactibacillus</i> 盐乳杆菌属	-0.1635	0.2636	-0.2929	-0.2683	-0.1059	0.1276
<i>Halothiobacillus</i> 盐硫杆菌属	0.0561	0.0388	-0.1643	0.4625	-0.3250	-0.0310
<i>Lactobacillus</i> 乳杆菌属	-0.6636 **	0.4257	-0.0396	-0.0688	-0.0372	0.0091
<i>Oceanobacillus</i> 海洋芽孢杆菌属	-0.5776 *	0.3603	-0.0904	0.3544	-0.0485	0.1048
<i>Ornithinibacillus</i> 鸟氨酸芽孢杆菌属	-0.2911	-0.0543	-0.2279	0.2608	0.3430	0.0803
<i>Paenibacillus</i> 类芽孢杆菌属	-0.3984	0.1706	-0.3480	0.1436	-0.2983	0.2823
<i>Paucisalibacillus</i> 微盐杆菌属	0.0405	0.1942	0.2150	0.1463	0.5207	-0.2058
<i>Roseibacillus</i> 玫瑰杆菌属	0.3363	-0.2423	-0.0506	-0.0955	-0.3635	-0.3112
<i>Rummeliibacillus</i> 鲁梅尔芽孢杆菌属	-0.0511	0.3706	-0.1736	-0.3029	-0.3868	-0.0823
<i>Sinibacillus</i>	0.2215	0.0376	0.1073	0.6021 *	0.3211	-0.0314
<i>Solibacillus</i> 土芽孢杆菌属	0.0195	-0.0368	0.3755	0.3017	-0.0992	-0.1824
<i>Sulfobacillus</i> 硫芽孢杆菌属	-0.1057	-0.6388 *	-0.2052	0.3906	0.5682 *	0.2463
<i>Thermobacillus</i> 热芽孢杆菌属	-0.0306	-0.4414	-0.1335	0.1555	0.3590	-0.0438
<i>Tuberibacillus</i> 肿块芽孢杆菌属	-0.2468	0.2253	-0.4478	-0.2551	-0.0469	0.2254
<i>Ureibacillus</i> 脲芽孢杆菌属	0.2179	0.0893	0.2324	0.2911	0.6898 **	-0.0464
<i>Vulcanibacillus</i> 武尔坎努斯杆菌属	0.4947	-0.1413	0.7063 **	-0.1112	-0.1374	-0.4899

* 相关系数临界值 Correlation coefficient critical value, a=0.05 时, r=0.5324, a=0.01 时, r=0.6614

2.6 微生物发酵床芽胞杆菌空间生态位宽度

2.6.1 芽胞杆菌生态位宽度

分析结果见表 14, 空间生态位宽度 Levins 测度范围为 10.5159 (*Bacillus*)—1.3178 (*Tuberibacillus*), 前 5 个营养生物位较宽的属有: *Bacillus* (10.5159)、*Ornithinibacillus* (8.6094)、*Paenibacillus* (7.8463)、*Oceanobacillus* (6.9927)、*Rummeliibacillus* (5.7417)、*Vulcanibacillus* (4.9111); 可利用资源数最大的是 5 (*Paenibacillus*), 最小的是 1 (*Roseibacillus*); 当截断比例为 0.10—0.18 时, *Paenibacillus* 拥有最多的常用资源, 分别为 S2 = 9.98%、S6 = 14.15%、S11 = 14.39%、S12 = 12.76%、S14 = 21.58%, *Roseibacillus* 的常用资源仅为 1 个, S2 = 62.50%。

表 14 芽胞杆菌空间生态位宽度 *

Table 14 Space ecological niche breath of the *Bacillus*-like genera

属名 Genus	生态位宽度 X1 Space ecological niche breath X1	可利用资源数 X2 Available resources X2	截断比例 X3 Interval censored data X3	常用资源种类 X4 Common resource types X4
<i>Bacillus</i> 芽孢杆菌属	10.5159	3	0.10	S3 = 15.42% S4 = 13.73% S12 = 10.74%
<i>Ornithinibacillus</i> 鸟氨酸芽孢杆菌属	8.6094	3	0.10	S7 = 20.66% S9 = 13.77% S13 = 11.80%
<i>Paenibacillus</i> 类芽孢杆菌属	7.8463	5	0.10	S2 = 9.98% S6 = 14.15% S11 = 14.39% S12 = 12.76% S14 = 21.58%
<i>Oceanobacillus</i> 海洋芽孢杆菌属	6.9927	3	0.10	S6 = 18.39% S12 = 25.69% S14 = 12.85%
<i>Rummeliibacillus</i> 鲁梅尔芽孢杆菌属	5.7417	3	0.12	S1 = 29.41% S2 = 15.69% S5 = 19.61%
<i>Vulcanibacillus</i> 武尔坎努斯杆菌属	4.9111	3	0.11	S1 = 11.72% S6 = 34.73% S7 = 22.18%
<i>Paucisalibacillus</i> 微盐杆菌属	4.8022	3	0.10	S8 = 10.37% S10 = 40.64% S12 = 12.88%

续表

属名 Genus	生态位宽度 X1 Space ecological niche breath X1	可利用资源数 X2 Available resources X2	截断比例 X3 Interval censored data X3	常用资源种类 X4 Common resource types X4
<i>Amphibacillus</i> 兼性芽孢杆菌属	4.5433	2	0.12	S3 = 36.07% S7 = 26.23%
<i>Sinibacillus</i>	4.5156	2	0.13	S3 = 29.41% S5 = 32.35%
<i>Lactobacillus</i> 乳杆菌属	4.2142	3	0.10	S1 = 11.72% S5 = 15.86% S12 = 43.26%
<i>Sulfobacillus</i> 硫芽孢杆菌属	4.0998	3	0.14	S4 = 27.91% S5 = 18.60% S6 = 34.88%
<i>Halothiobacillus</i> 盐硫杆菌属	4.0793	3	0.11	S2 = 20.44% S4 = 14.60% S5 = 40.88%
<i>Caldalkalibacillus</i> 热碱芽孢杆菌属	4.0637	2	0.12	S5 = 39.53% S8 = 25.58%
<i>Ammonibacillus</i> 氨芽孢杆菌属	3.1754	3	0.15	S3 = 17.95% S5 = 25.64% S6 = 46.15%
<i>Thermobacillus</i> 热芽孢杆菌属	3.0462	2	0.11	S5 = 53.68% S10 = 15.15%
<i>Halolactibacillus</i> 盐乳杆菌属	2.9771	2	0.10	S1 = 12.50% S5 = 55.48%
<i>Solibacillus</i> 土芽孢杆菌属	2.8140	2	0.18	S1 = 45.45% S3 = 36.36%
<i>Gracilibacillus</i> 纤细芽孢杆菌属	2.7893	1	0.10	S12 = 57.64%
<i>Ureibacillus</i> 脲芽孢杆菌属	2.3850	2	0.12	S7 = 59.79% S9 = 23.50%
<i>Aneurinibacillus</i> 解硫胺素杆菌属	2.3319	2	0.12	S6 = 62.69% S9 = 13.43%
<i>Roseibacillus</i> 玫瑰杆菌属	2.2857	1	0.18	S2 = 62.50%
<i>Geobacillus</i> 地芽孢杆菌属	1.8377	1	0.10	S12 = 72.74%
<i>Desulfuribacillus</i> 解硫芽孢杆菌属	1.7143	1	0.18	S1 = 75.00%
<i>Tuberibacillus</i> 肿块芽孢杆菌属	1.3178	1	0.11	S4 = 86.88%

2.6.2 生态位宽度与垫料营养相关性

结合芽孢杆菌数量与垫料营养条件相关性表 12 和芽孢杆菌生态宽度表 13 进行分析,空间生态位较宽的属,其与垫料营养因子相关性较弱,如 *Bacillus* (10.5159)、*Ornithinibacillus* (8.6094)、*Paenibacillus* (7.8463)、*Oceanobacillus* (6.9927)、*Rummeliibacillus* (5.7417) 等,与垫料营养因子(水份、pH、有机质、全氮、腐殖酸等)之间相关性不显著,即对营养要求不高,适应性更广;空间生态位较窄的属,其与垫料营养因子相关性较强,如 *Gracilibacillus* (2.7893,与水分呈反比)、*Geobacillus* (1.8377,与水分呈反比)、*Ureibacillus* (2.3850,与腐殖酸呈正比)等,与垫料某些营养因子之间相关性显著,即对营养要求较高,适应性窄。

2.7 微生物发酵床芽孢杆菌空间生态位重叠

2.7.1 芽孢杆菌生态位重叠

分析结果见表 15,分析表明空间生态位重叠 Pianka 测度范围为 0.00–0.99。空间生态位重叠>0.90 的属有:*Gracilibacillus* 和 *Ammonibacillus*, *Thermobacillus* 和 *Aneurinibacillus*, *Gracilibacillus* 和 *Geobacillus*, *Lactobacillus* 和 *Geobacillus*, *Lactobacillus* 和 *Gracilibacillus*, *Tuberibacillus* 和 *Halolactibacillus*, 这些属之间生态位重叠很高;空间生态位重叠=0.00 的属有:*Desulfuribacillus* 和 *Aneurinibacillus*, *Tuberibacillus* 和 *Desulfuribacillus*, *Tuberibacillus* 和 *Roseibacillus* *, 它们之间生态位几乎不重叠。

表 15 芽胞杆菌空间生态位重叠
Table 15 Correlation coefficient between space ecological niche overlap for *Bacillus*-like Genus in the litter from the MPB

属名 Genus	芽胞杆菌相应属的序号 Number of <i>Bacillus</i> -like Genus																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
<i>Annooibacillus</i> 氨芽胞杆菌属	1.00																								
<i>Amphibacillus</i> 兼性芽胞杆菌属	0.16	1.00																							
<i>Aneurinibacillus</i> 解硫胺素杆菌属	0.47	0.14	1.00																						
<i>Bacillus</i> 芽胞杆菌属	0.53	0.57	0.40	1.00																					
<i>Caldatalkalibacillus</i> 热碱芽胞杆菌属	0.85	0.23	0.82	0.55	1.00																				
<i>Desulfuribacillus</i> 解硫芽胞杆菌属	0.01	0.02	0.00	0.07	0.01	1.00																			
<i>Geobacillus</i> 地芽胞杆菌属	0.86	0.25	0.12	0.43	0.61	0.01	1.00																		
<i>Gracilibacillus</i> 纤细芽胞杆菌属	0.90	0.27	0.18	0.51	0.67	0.01	0.99	1.00																	
<i>Halolactobacillus</i> 盐乳杆菌属	0.08	0.80	0.04	0.37	0.07	0.24	0.09	0.10	1.00																
<i>Halothiobacillus</i> 盐硫杆状菌属	0.31	0.50	0.13	0.61	0.22	0.03	0.09	0.20	0.36	1.00															
<i>Lactobacillus</i> 乳杆菌属	0.78	0.45	0.05	0.54	0.52	0.25	0.90	0.90	0.44	0.25	1.00														
<i>Oceanobacillus</i> 海洋芽胞杆菌属	0.76	0.52	0.18	0.73	0.59	0.08	0.74	0.82	0.30	0.64	0.81	1.00													
<i>Ornithinibacillus</i> 鸟氨酸芽胞杆菌属	0.63	0.46	0.70	0.75	0.80	0.09	0.42	0.52	0.25	0.44	0.46	0.72	1.00												
<i>Paenibacillus</i> 类芽胞杆菌属	0.55	0.53	0.33	0.67	0.60	0.07	0.46	0.56	0.30	0.56	0.55	0.83	0.77	1.00											
<i>Paucisaltibacillus</i> 微盐杆菌属	0.39	0.30	0.27	0.62	0.39	0.13	0.34	0.40	0.16	0.32	0.37	0.57	0.72	0.36	1.00										
<i>Roseibacillus</i> 玫瑰杆菌属	0.15	0.03	0.02	0.19	0.12	0.21	0.03	0.06	0.09	0.16	0.12	0.14	0.24	0.37	0.09	1.00									
<i>Rummelibacillus</i> 鲁梅尔芽胞杆菌属	0.28	0.48	0.04	0.49	0.20	0.69	0.27	0.29	0.64	0.35	0.60	0.43	0.36	0.46	0.21	0.52	1.00								
<i>Sinibacillus</i>	0.27	0.26	0.24	0.52	0.24	0.08	0.07	0.18	0.08	0.66	0.13	0.58	0.68	0.47	0.78	0.18	0.14	1.00							
<i>Solibacillus</i> 土芽胞杆菌属	0.17	0.38	0.12	0.25	0.24	0.75	0.24	0.27	0.21	0.27	0.36	0.37	0.30	0.40	0.15	0.17	0.62	0.17	1.00						
<i>Sulfobacillus</i> 硫芽胞杆菌属	0.27	0.28	0.76	0.45	0.56	0.00	0.12	0.18	0.07	0.13	0.06	0.23	0.64	0.40	0.24	0.13	0.10	0.32	0.23	1.00					
<i>Thermobacillus</i> 热芽胞杆菌属	0.48	0.14	0.98	0.43	0.82	0.01	0.14	0.21	0.05	0.12	0.08	0.24	0.77	0.40	0.35	0.08	0.06	0.32	0.11	0.80	1.00				
<i>Tuberibacillus</i> 肿块芽胞杆菌属	0.01	0.78	0.02	0.30	0.02	0.00	0.04	0.03	0.96	0.32	0.34	0.22	0.19	0.22	0.11	0.00	0.48	0.03	0.00	0.05	0.03	1.00			
<i>Ureibacillus</i> 脲芽胞杆菌属	0.07	0.14	0.11	0.36	0.06	0.13	0.06	0.11	0.05	0.19	0.09	0.31	0.51	0.11	0.88	0.04	0.05	0.80	0.04	0.28	0.21	0.02	1.00		
<i>Vulcanibacillus</i> 武尔坎努斯杆菌属	0.07	0.31	0.04	0.29	0.11	0.41	0.06	0.08	0.39	0.17	0.25	0.23	0.19	0.22	0.25	0.16	0.31	0.18	0.29	0.07	0.05	0.20	0.19	1.00	

2.7.2 种群数量与生态位重叠关系

结合芽胞杆菌数量(表 6)和生态位重叠(表 15)进行分析,芽胞杆菌含量与其生态位重叠分为 3 种形式,即非极端重叠型(生态位重叠介于 0.20—0.80 之间)、全程重叠型(0.00—1.00 之间)、极端重叠型(<0.20 或>0.80);高含量的芽胞杆菌属(*Bacillus*)(reads = 8020)除了与 *Desulfuribacillus* 生态位重叠在 0.07 之外,与其他属生态位重叠范围在 0.19—0.75 之间,生态位重叠没有超过 0.75,低于 0.20 的也少,属于非极端重叠型;高含量的乳杆菌属(*Lactobacillus*)(reads = 4565)与其他属生态位重叠超过 0.8 的有 *Geobacillus* 和 *Gracilibacillus*;低于 0.20 的有 *Aneurinibacillus*(0.05)、*Roseibacillus*(0.12)、*Sinibacillus*(0.13)、*Sulfobacillus*(0.06)、*Thermobacillus*(0.08)、*Ureibacillus*(0.09),大部分在 0.20—0.80 之间,属于全程重叠型;高含量的肿块芽胞杆菌属(*Tuberibacillus*)(reads = 1418)与其他属生态位重叠在 0.320—0.80 之间的只有 2 个属,即 *Amphibacillus*(0.78)、*Rummeliibacillus*(0.48),大部分生态位重叠<0.20 或>0.80,属于极端重叠型。

2.7.3 生态位宽度与生态位重叠关系

结合表 14 和表 15 进行分析,芽胞杆菌空间生态位宽度与生态位重叠存在着相互关系,生态位较宽的属,如芽胞杆菌属(*Bacillus*)与鸟氨酸芽胞杆菌属(*Ornithinibacillus*)、与类芽胞杆菌属(*Paenibacillus*),它们与其他属之间的空间生态位重叠集中在 0.30—0.70 之间,较少出现<0.20 或>0.80 极端重叠;空间生态位较窄的属,如 *Roseibacillus*、*Geobacillus*、*Desulfuribacillus*、*Tuberibacillus* 与其他属之间的空间生态位重叠经常出现极端重叠状况,即生态位重叠主要分布在<0.20 或>0.80。

3 讨论

芽胞杆菌能够产生芽胞,是一类能在多种环境尤其是极端环境下生存的微生物,具有很强的抗逆性^[58]。芽胞杆菌在养殖废弃物处理方面具有重要作用,如臭味分解、有机质降解等。本研究采用活菌分离培养及宏基因组技术,从养猪微生物发酵床垫料中分析到芽胞杆菌 24 个属(其中 2 个属具有芽胞杆菌种名特性,不属于芽胞杆菌),相对含量最高的前 3 个属为 *Bacillus*(芽胞杆菌属,芽胞杆菌科)(reads = 8020)、*Lactobacillus*(乳杆菌属,芽胞杆菌纲)(reads = 4565)、*Tuberibacillus*(肿块芽胞杆菌属,芽胞乳杆菌科)(reads = 1418),成为优势属。尽管未见在微生物发酵床类似研究报道,但有报道表明这 3 个芽胞杆菌纲的属也是某些环境中的优势属,Hatayama 等报道了 *Tuberibacillus*(肿块芽胞杆菌属)为堆肥过程的优势属^[59];Mowlick 等报道了肿块芽胞杆菌属具有耐酸和耐高温的特性,在温室栽培经过三氯甲烷消毒的土壤中成为优势属^[60];乳杆菌属是猪肠道微生物的优势属^[61]。微生物发酵床空间生态位中芽胞杆菌优势属保持着较高的种群数量,对猪粪降解和除臭消除起着重要作用,这一结果与徐庆贤等报道的芽胞杆菌属对于发酵猪粪和分解臭味起到重要作用一致^[62]。研究发现微生物发酵床中 *Ammonibacillus*(氨芽胞杆菌属,类芽胞杆菌科)、*Desulfuribacillus*(脱硫芽胞杆菌属,待建立新科)、*Tuberibacillus*(肿块芽胞杆菌属,芽胞乳杆菌科),在国内未见报道,为中国新记录属,微生物发酵床中分布着如此多的芽胞杆菌属及其近缘属,未见相关研究报道。采用活菌计数和宏基因组两种方法研究发现,将微生物发酵床整体作为一个生态位考察,不同空间采样的芽胞杆菌分布的数量差异较大,活菌计数空间样本芽胞杆菌含量范围 4.3—26.7×10⁶ cfu/mL 之间,相差 6.2 倍;宏基因组含量(reads)范围在 424—4130 之间,相差 9.7 倍;活菌计数无法统计不可培养的芽胞杆菌,两种方法检测出的芽胞杆菌差异在同一个数量级;王香君等利用实时荧光定量 PCR 法和活菌计数定量鱼露和虾细菌,两种方法相差 1—2 个数量级^[63];屠腾等利用细胞计数手段和 DGGE 技术分析松花江干流部分地区的细菌种群多样性^[64];活菌计数和宏基因组测定芽胞杆菌数量与之异曲同工,检测精度更高。

将微生物发酵床上层(0—20 cm)和下层(40—60 cm)不同深度的作为生态位考察,尽管微生物发酵床上下层垫料空间生态位营养特性差异显著,上层垫料的水分、pH 值、全氮、腐殖酸低于下层,而好氧条件(上层 2 天翻耕 1 次,下层不翻耕)、有机质(猪粪增加在上层)、粗纤维(补充垫料在上层)含量高于下层,两种检测方法的芽胞杆菌总量上下层差异不显著;这种生态位差异要保持芽胞杆菌总数的平衡,是以发酵床上、下层生态

位中芽胞杆菌种类分布变化差异为依据,上层生态位前 5 位高含量芽胞杆菌优势属(数量平均值)分别为 *Bacillus* (532.86)、*Lactobacillus* (480.43)、*Geobacillus* (88.86)、*Gracilibacillus* (70.00)、*Paenibacillus* (40.86),而下层为 *Bacillus* (612.86)、*Tuberibacillus* (188.57)、*Lactobacillus* (171.71)、*Paucislibacillus* (60.00)、*Ureibacillus* (46.71),表明上下层不同芽胞杆菌优势种类选择不同营养特性的垫料生态位,维持着数量平衡;从而导致垫料上下层生态位中芽胞杆菌亚群落分化,构建了发酵床生态位中特异性芽胞杆菌亚群落。微生物发酵床芽胞杆菌空间生态位宽度是由发酵床营养和环境条件与芽胞杆菌生物学特性相互作用的结果。那些对发酵床环境条件适应范围较宽、对营养条件要求较低的种类,其空间生态位宽度较宽,可利用的资源数较多,反之亦然;芽胞杆菌空间生态位较宽的属,其与垫料营养和环境因子相关性较弱,如 *Bacillus* (生态位宽度 = 10.5159)、*Ornithinibacillus* (8.6094)、*Paenibacillus* (7.8463)、*Oceanobacillus* (6.9927)、*Rummeliibacillus* (5.7417) 等,与垫料营养和环境因子(水份、pH、有机质、全氮、腐殖酸等)之间相关性不显著 ($P > 0.05$),即对营养要求不高,适应性更广;空间生态位较窄的属,其与垫料营养和环境因子相关性较强,如 *Gracilibacillus* (生态位宽度 = 2.7893, 相关系数 = -0.6804, 与水份呈反比)、*Geobacillus* (1.8377, -0.6825, 与水份呈反比)、*Ureibacillus* (2.3850, 0.6898, 与腐殖酸呈正比) 等,这种与垫料某些营养和环境因子之间相关性显著,表明对营养和环境要求较高,适应性窄;由芽胞杆菌生物学特性适应环境条件形成的生态位特征,决定了其生境选择性;如芽胞杆菌属 (*Bacillus*) 能很好地适应许多不同类型生境,生态位宽度很广,成为生境内的优势种。芽胞杆菌属这种营养和环境适应性在其他的研究报告中有过报道,张福特等自佳西热带雨林土壤中分离到 147 株芽胞杆菌,其中芽胞杆菌属 (*Bacillus*) 是优势属,形成热带雨林土壤生态位芽胞杆菌特征种群^[65];朱碧春等自南极土壤中分离到 23 株芽胞杆菌,主要为芽胞杆菌属 (*Bacillus*),形成南极土壤生态位芽胞杆菌特征种群^[66]。另一些种类如地芽胞杆菌属 (*Geobacillus*) 要求生存条件比较苛刻,生态位宽度较窄,只能在特定生境下生存,Sung 等自堆肥系统中分离到一株 *Geobacillus toebii*,此后多种耐热的地芽胞杆菌属细菌被分离鉴定,此属细菌在 45℃ 以上温度下生存,最适生长温度为 60℃,对生长环境要求高,是高温生态位的优势属^[67]。

微生物发酵床芽胞杆菌空间生态位重叠研究发现,有些属之间的空间生态位重叠度很高 (>0.90),如: *Gracilibacillus* 和 *Ammonibacillus*, *Thermobacillus* 和 *Aneurinibacillus*, 这些属之间生态位重叠超过 0.90,享有共同的资源,存在竞争关系;有些属之间的空间生态位重叠度很低 (0.00),如 *Desulfuribacillus* 和 *Aneurinibacillus*, *Tuberibacillus* 和 *Desulfuribacillus*, 它们之间生态位几乎不重叠,对资源的要求不同,不存在竞争关系。芽胞杆菌生态位重叠与其生态位宽度存在着相关关系,生态位较宽的属,如芽胞杆菌属 (*Bacillus*),与鸟氨酸芽胞杆菌属 (*Ornithinibacillus*)、类芽胞杆菌属 (*Paenibacillus*) 之间的空间生态位重叠集中在 0.20—0.80 之间,为常规重叠,较少出现 <0.20 或 >0.80 的极端重叠;空间生态位较窄的属,如 *Roseibacillus*、*Geobacillus*、*Desulfuribacillus*、*Tuberibacillus*, 与其他属之间的空间生态位重叠经常出现极端状况,即生态位重叠主要分布在 <0.20 或 >0.80,要么重叠度很低(竞争关系弱),要么重叠度很高(竞争关系强),相关的研究未见报道,这一特性的研究对于了解芽胞杆菌在生态位中的资源利用具有重要意义。

微生物发酵床中芽胞杆菌种类根据生态位特性天然地形成了多菌株共存的微生物体系,共同完成猪粪消纳和臭味降解过程,这与 EM 菌群人工培养的复合微生物菌剂系统的功能具有相似性^[68]。微生物有各自特定的生活环境,微生物分解功能在其适合的生长环境中得到发挥,因此,菌群生长环境的营养条件和生存条件形成的生态位特征选择了微生物;范瑞娟等发现受混合烃污染的土壤选择了由芽胞杆菌属、嗜氢菌属及鞘脂菌属等组成的复合微生物菌群,其能显著降低土壤中混合烃的含量^[69]。李丹红等揭示了白蚁肠道环境适合于包含沙雷氏菌属 (*Serratia*) 和类芽胞杆菌属 (*Paenibacillus*) 的降解纤维素的混合菌群生存,对纤维素实施协同降解^[70-71]。芽胞杆菌是环境中重要的有机物降解菌,王小英等自青海可可西里土壤特定生态位中分离嗜碱芽胞杆菌,环境胁迫和驯化使之能够产生蛋白酶、纤维素酶及木聚糖酶等多种酶系,在满足自身生长的同时发挥着生态功能^[72]。对微生物发酵床生猪粪污降解系统中的芽胞杆菌生态位的研究,有助于理解养殖粪污形成的生态位环境,选择特定的芽胞杆菌种类,发挥特定的生态功能,为阐明微生物发酵床猪粪降解、臭味消

除、猪病防控、资源化利用等提供科学数据。

参考文献(References):

- [1] 刘波, 郑雪芳, 朱昌雄, 蓝江林, 林营志, 林斌, 叶耀辉. 脂肪酸生物标记法研究零排放猪舍基质垫层微生物群落多样性. 生态学报, 2008, 28(11): 5488-5498.
- [2] 侯福银, 时凯, 陈长宽, 丁海荣, 金崇富, 陈应江, 杨智青. 发酵床在猪健康养殖中的应用研究进展. 现代农业科技, 2016, (9): 266-266, 268-268.
- [3] 朱庆亚, 潘晶晶. 对发酵床养猪技术的认识与应用前景分析. 农技服务, 2016, 33(1): 171-171.
- [4] 毛景东. 发酵床养猪技术的应用. 中国畜牧兽医文摘, 2015, 31(9): 89-91.
- [5] 徐小明, 白建勇, 宦海琳, 闫俊书, 周维仁. 地衣芽孢杆菌对发酵床饲养仔猪生长性能、消化酶活性及肠道主要菌群数量的影响. 中国畜牧兽医, 2015, 42(4): 923-928.
- [6] 董书昌, 冯强, 张凡华, 段祺斌. 甘肃省生物发酵床养猪技术调查简报. 猪业观察, 2014, (10): 82-84.
- [7] 崔艳霞, 潘晓亮, 徐亚楠. 发酵床养猪的研究现况与展望. 中国畜牧兽医, 2011, 38(6): 211-214.
- [8] 杨锦辉, 尹克能, 刘富长. 发酵床养猪技术的引进与探讨. 云南畜牧兽医, 2011, (2): 10-12.
- [9] 武英, 赵德云, 盛清凯, 王诚, 张印. 发酵床养猪模式是改善环境、提高猪群健康和产品安全的有效途径. 中国动物保健, 2009, 11(5): 89-92.
- [10] 胡秀双. 微生态发酵床养猪技术的应用. 养殖技术顾问, 2008, (4): 14-15.
- [11] Kaufmann R, Heller W, Bieri M. Nutrient balance in the biobed system for fattening pigs. Agrarforschung, 1997, 4(1): 25-28.
- [12] Bonneau M, Dourmad J Y, Lebert B, Meunier-Salaün M C, Espagnol S, Salaün Y, Leterme P, Van Der Werf H. Evaluation globale des systèmes de production porcine et leur optimisation au niveau de l'exploitation. Productions Animales, 2008, 21(4): 367-386.
- [13] 陈倩倩, 刘波, 王阶平, 刘国红, 车建美, 陈峥, 唐建阳. 微生物发酵床猪舍不同发酵等级垫料中大肠杆菌的分离鉴定. 中国畜牧兽医, 2017, 44(1): 268-274.
- [14] 郑雪芳, 刘波, 蓝江林, 苏明星, 卢舒娴, 朱昌雄. 微生物发酵床对猪舍大肠杆菌病原生物防治作用的研究. 中国农业科学, 2011, 44(22): 4728-4739.
- [15] 赵国华, 方雅恒, 陈贵. 生物发酵床养猪垫料中营养成分和微生物群落研究. 安徽农业科学, 2015, 43(8): 98-99, 101-101.
- [16] 王震, 许丽娟, 刘标, 杜东霞, 尹红梅, 贺月林. 发酵床垫料中高效纤维素降解菌的分离与筛选. 农业资源与环境学报, 2015, 32(4): 383-387.
- [17] 宦海琳, 闫俊书, 周维仁, 白建勇, 徐小明, 冯国兴, 顾洪如. 不同垫料组成对猪用发酵床细菌群落的影响. 农业环境科学学报, 2014, 33(9): 1843-1848.
- [18] 尹红梅, 吴迎奔, 张德元, 王震, 陈薇, 贺月林. 发酵床中耐高温地衣芽孢的分离鉴定及产酶分析. 家畜生态学报, 2012, 33(6): 97-102.
- [19] 李珊珊, 郭晓军, 张爱民, 贾慧, 朱宝成. 发酵床除臭微生物的筛选与 Z-22 菌株的鉴定. 河北农业大学学报, 2012, 35(4): 65-69.
- [20] 王潇娣, 廖春燕, 朱玲. 发酵床养猪模式中垫料的主要菌群分析. 养猪, 2012, (3): 69-72.
- [21] 张庆宁, 胡明, 朱荣生, 任相全, 武英, 王怀忠, 刘玉庆, 王述柏. 生态养猪模式中发酵床优势细菌的微生物学性质及其应用研究. 山东农业科学, 2009, (4): 99-105.
- [22] Grinnel J. The niche-relationships of the California thrasher. The Auk, 1917, 34(4): 427-433.
- [23] 贺纪正, 李晶, 郑袁明. 土壤生态系统微生物多样性——稳定性关系的思考. 生物多样性, 2013, 21(4): 411-420.
- [24] 王子迎, 吴芳芳, 檀根甲. 生态位理论及其在植物病害研究中的应用前景(综述). 安徽农业大学学报, 2000, 27(3): 250-253.
- [25] Fazion F, Perchat S, Buisson C, Vilas - Bôas G, Lereclus D. A plasmid-borne Rap-Phr system regulates sporulation of *Bacillus thuringiensis* in insect larvae. Environmental Microbiology, 2017, 20(1): 145-155.
- [26] Zhang Y Y, Chen J C, Feng C Y, Zhan L, Zhang J Y, Li Y, Yang Y, Chen H H, Zhang Z, Zhang Y J, Mei L L, Li H F. Quantitative prevalence, phenotypic and genotypic characteristics of *Bacillus cereus* isolated from retail infant foods in China. Foodborne Pathogens and Disease, 2017, 14(10): 564-572.
- [27] Blackburn J K, Matakirimov S, Kozhokeeva S, Tagaeva Z, Bell L K, Kracalik L T, Zhunushov A. Modeling the ecological niche of *Bacillus anthracis* to map anthrax risk in Kyrgyzstan. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2017, 96(3): 550-556.
- [28] Morton J T, Sanders J, Quinn R A, McDonald D, Gonzalez A, Vázquez-Baeza Y, Navas-Molina J A, Song S L, Metcalf J L, Hyde E R, Lladser M, Dorrestein P C, Knight R. Balance trees reveal microbial niche differentiation. mSystems, 2017, 2(1): e00162-16.
- [29] Piché-Choquette S, Tremblay J, Tringe SG, Constant P. H₂-saturation of high affinity H₂-oxidizing bacteria alters the ecological niche of soil microorganisms unevenly among taxonomic groups. PeerJ, 2016, 4: e1782.

- [30] Hong J K, Cho J C. Environmental variables shaping the ecological niche of *Thaumarchaeota* in soil; direct and indirect causal effects. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0133763.
- [31] Chikerema S M, Murwira A, Matope G, Pfukenyi D M. Spatial modelling of *Bacillus anthracis* ecological niche in Zimbabwe. *Preventive Veterinary Medicine*, 2013, 111(1/2): 25-30.
- [32] 刘国红, 刘波, 王阶平, 朱育菁, 车建美, 陈倩倩, 陈峥. 养猪微生物发酵床芽胞杆菌空间分布多样性. *生态学报*, 2017, 37(20): 6914-6932.
- [33] Liu B, Liu G H, Hu G P, Chen M C. *Bacillus mesonae* sp. nov., isolated from the root of *Mesona chinensis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, 64(10): 3346-3352.
- [34] 苗莉云, 程朝霞. 运城盐湖主要植物种的生态位研究. *农业与技术*, 2008, 28(6): 77-79.
- [35] Sakai M, Deguchi D, Hosoda A, Kawauchi T and Ikenaga M. *Ammonibacillus agariperforans* gen. nov. sp. nov. a thermophilic, agar-degrading bacterium isolated from compost. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2015, 65(2): 570-577.
- [36] Shida O, Takagi H, Kadowaki K and Komagata, K. Proposal for two new genera, *Brevibacillus* gen. nov. and *Aneurinibacillus* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1996, 46(4): 939-946.
- [37] Ash C, Farrow JA E., Wallbanks S, Collins MD. Phylogenetic heterogeneity of the genus *Bacillus* revealed by comparative analysis of small-subunit-ribosomal RNA sequences. *Letters in Applied Microbiology*, 1991, 13, 202-206.
- [38] Touzel JP, O'Donohue M, Debeire P, Samain E and Breton C. *Thermobacillus xylanilyticus* gen. nov. sp. nov. a new aerobic thermophilic xylan-degrading bacterium isolated from farm soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2000, 50 Pt 1(1): 315-320.
- [39] Niimura Y, Koh E, Yanagida F, Suzuki KI, Komagata K, and Kozaki M. *Amphibacillus xylanus* gen. nov. sp. nov. a facultatively anaerobic sporeforming xylan-digesting bacterium which lacks cytochrome, quinone, and catalase. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1990, 40(3): 297-301.
- [40] Cohn F. 1872. Untersuchungen über Bacterien. *Beitrage zur Biologie der Pflanzen*, 1, 127-224.
- [41] Xue YF, Zhang XQ, Zhou C. *Caldalkalibacillus thermarum* gen. nov., sp. nov., a novel alkalithermophilic bacterium from a hot spring in China. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 2006, 40(3): 297-301.
- [42] Nazina TN, Dsh S, Grigoryan AA, Shestakova NM, Mikhailova EM, and Poltarau AB. *Geobacillus jurasicus* sp. nov. a new thermophilic bacterium isolated from a high-temperature petroleum reservoir, and the validation of the geobacillus species. *Systematic and Applied Microbiology*, 2005, 28(1): 43-53.
- [43] Waino M, Tindall BJ, Schumann P, Ingvorsen K. "Gracilibacillus gen. nov., with description of *Gracilibacillus halotolerans* gen. nov., sp. nov.; transfer of *Bacillus dipsosauri* to *Gracilibacillus dipsosauri* comb. nov., and *Bacillus salexigens* to the genus *Salibacillus* gen. nov., as *Salibacillus salexigens* comb. nov". *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1999, 49(2): 821-831.
- [44] Ishikawa M, Nakajima K, Itamiya Y, Furukawa S, Yamamoto Y, and Yamasato K. *Halolactibacillus halophilus* gen. nov. sp. nov. and *halolactibacillus miurensis* sp. nov. halophilic and alkaliphilic marine lactic acid bacteria constituting a phylogenetic lineage in bacillus rna group 1. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55(Pt 6): 2427-2432.
- [45] Nam JH, Bae W, and Lee DH. *Oceanobacillus caeni* sp. nov. isolated from a bacillus-dominated wastewater treatment system in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2008, 58(Pt 5): 1109-1123.
- [46] Mayr R, Busse HJ, Worliczek HL, Ehling-Schulz M, and Scherer S. *Ornithinibacillus* gen. nov. with the species *Ornithinibacillus bavariensis* sp. nov. and *Ornithinibacillus californiensis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, 56(6): 1383-1389.
- [47] Nunes I, Tiago I, Pires AL, Da CM, and Veríssimo A. *Paucisalibacillus globulus* gen. nov. sp. nov. a gram-positive bacterium isolated from potting soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, 56(Pt 8): 1841-1846.
- [48] Yang G, Zhou S. *Sinibacillus soli* gen. nov. sp. nov. a moderately thermotolerant member of the family Bacillaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, 64(5): 1647-1653.
- [49] L'Haridon S, Miroshnichenko ML, Kostrikina NA, Tindall BJ, Spring S, and Schumann P. *Vulcanibacillus modesticaldus* gen. nov. sp. nov. a strictly anaerobic, nitrate-reducing bacterium from deep-sea hydrothermal vents. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, 56(Pt 5): 1047-1052.
- [50] Vaishampayan P, Miyashita M, Ohnishi A, Satomi M, Rooney A, and La Duc M T. (2009). Description of *rummelibacillus stabekisii* gen. nov. sp. nov. and reclassification of *Bacillus pycnus* Nakamura et al. 2002 as *rummelibacillus pycnus* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, 59(Pt 5): 1094-1099.
- [51] Krishnamurthi S, Chakrabarti T, and Stackebrandt E. (2009). Re-examination of the taxonomic position of *Bacillus silvestris* Reims et al. 1999 and proposal to transfer it to *Solibacillus* gen. nov. as *Solibacillus silvestris* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, 59(Pt 5): 1054-1060.

- [52] Fortina MG, Pukall R, Schumann P, Mora D, Parini C, and Manachini PL. *Ureibacillus* gen. nov. a new genus to accommodate bacillus thermosphaericus (andersson et al. 1995), emendation of *ureibacillus thermosphaericus* and description of *ureibacillus terrenus* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2001, 51(Pt 2): 447-453.
- [53] Hatayama K, Shoun H, Ueda Y, Nakamura A. *Tuberibacillus calidus* gen. nov., sp. nov., isolated from a compost pile and reclassification of *Bacillus naganensis* Tomimura et al. 1990 as *Pullulanibacillus naganensis* gen. nov., comb. nov. and *Bacillus laevolacticus* Andersch et al. 1994 as *Sporolactobacillus laevolacticus* comb. Nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2006, 56(Pt 11): 2545-2551.
- [54] Bogdanova TI, Tsaplina IA, Kondrat'eva TF, Duda VI, Suzina NE, and Melamud VS. *Sulfobacillus thermotolerans* sp. nov. a thermotolerant, chemolithotrophic bacterium. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2006, 56(Pt 5): 1039-1045.
- [55] Abin CA, and Hollibaugh JT. *Desulfuribacillus stibiarsenatis* sp. nov. an obligately anaerobic, dissimilatory antimonate- and arsenate-reducing bacterium isolated from anoxic sediments, and emended description of the genus *desulfuribacillus*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2016, 67(5): 1011-1017.
- [56] Sievert SM, Heidorn T, and Kuever J. *Halothiobacillus kellyi* sp. nov. a mesophilic, obligately chemolithoautotrophic, sulfur-oxidizing bacterium isolated from a shallow-water hydrothermal vent in the aegean sea, and emended description of the genus *halothiobacillus*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000, 50 Pt 3(3): 1229-1236.
- [57] Yoon J, Matsuo Y, Adachi K, Nozawa M, Matsuda S, Kasai H and Yokota A. Description of *Persicirhabdus sediminis* gen. nov., sp. nov., *Roseibacillus ishigakijimensis* gen. nov., sp. nov., *Roseibacillus ponti* sp. nov., *Roseibacillus persicicus* sp. nov., *Luteolibacter pohnei* gen. nov., sp. nov. and *Luteolibacter algae* sp. nov., six marine members of the phylum 'Verrucomicrobia', and emended descriptions of the class Verrucomicrobiae, the order Verrucomicrobiales and the family Verrucomicrobiaceae. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology., 2008, 58(7): 998-1007.
- [58] Maughan H, Van der Auwera G. *Bacillus* taxonomy in the genomic era finds phenotypes to be essential though often misleading. Infection, Genetics and Evolution, 2011, 11(5): 789-797.
- [59] Hatayama K, Shoun H, Ueda Y, Nakamura A. *Tuberibacillus calidus* gen. nov., sp. nov., isolated from a compost pile and reclassification of *Bacillus naganensis* Tomimura et al. 1990 as *Pullulanibacillus naganensis* gen. nov., comb. nov. and *Bacillus laevolacticus* Andersch et al. 1994 as *Sporolactobacillus laevolacticus* comb. nov.. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2006, 56: 2545-2551.
- [60] Mowlick S, Takehara T, Kaku N, Ueki K, Ueki A. Proliferation of diversified clostridial species during biological soil disinfection incorporated with plant biomass under various conditions. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(18): 8365-8379.
- [61] 刘宇. 齐齐哈尔周边地区仔猪肠道乳酸杆菌的分离与鉴定. 猪业科学, 2011, 28(7): 94-95.
- [62] 徐庆贤, 官雪芳, 林碧芬, 钱蕾, 林斌. 几株猪粪堆肥发酵菌对堆肥发酵的促进作用. 生态与农村环境学报, 2013, 29(2): 253-259.
- [63] 王香君, 李梦茹, 段杉. 实时荧光定量 PCR 法定量微生物的条件及在鱼露和虾油微生物检测中的应用研究. 食品与发酵工业, 2018, 44(2): 194-201.
- [64] 屠腾, 李蕾, 毛冠男, 王莹莹. 利用细胞计数手段和 DGGE 技术分析松花江干流部分地区的细菌种群多样性. 生态学报, 2012, 32(11): 3505-3515.
- [65] 张福特, 黄惠琴, 崔莹, 孙前光, 朱军, 刘敏, 鲍时翔. 佳西热带雨林土壤芽孢杆菌分离与多样性分析. 微生物学杂志, 2014, 34(4): 42-46.
- [66] 朱碧春, 顾丽, 李正, 伍辉军, 顾沁, 吴黎明, 高学文. 南极土壤芽孢杆菌的分离鉴定及其防治玉米细菌性褐腐病的研究. 南京农业大学学报, 2017, 40(4): 641-648.
- [67] Sung M H, Kim H, Bae J W, Rhee S K, Jeon C O, Kim K, Kim J J, Hong S P, Lee S G, Yoon J H, Park Y H, Baek D H. *Geobacillus toebii* sp. nov., a novel thermophilic bacterium isolated from hay compost. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2002, 52(6): 2251-2255.
- [68] 鲁艳英, 金亮, 王瑾, 李文丹. EM 菌组成鉴定及其消除垃圾渗滤液恶臭研究. 环境科学与技术, 2009, 32(8): 62-63.
- [69] 范瑞娟, 郭书海, 李凤梅. 石油降解菌群的构建及其对混合烃的降解特性. 农业环境科学学报, 2017, 36(3): 522-530.
- [70] 李丹红, 徐荣, 张坤迪, 朱崇梅, 李福利, 杨红. 象白蚁肠道中一个纤维素降解菌群的分离和特性研究. 生物资源, 2017, 39(4): 272-278.
- [71] 何楠, 令利军, 冯蕾, 苏敏, 姚彦敏, 宋雪梅. 1 株产纤维素酶细菌的筛选、鉴定及生长特性. 微生物学杂志, 2017, 37(1): 43-49.
- [72] 王小英, 刘国红, 刘波, 阮传清, 陈峥. 青海可可西里嗜碱芽孢杆菌资源调查. 微生物学通报, 2017, 44(8): 1847-1857.