

基于高通量测序分析豆粕发酵过程中 真菌群落的组成和变化

董胜奇¹ 王 格¹ 张 涛² 葛向阳¹

1. 华中农业大学生命科学技术学院, 武汉 430070; 2. 湖北邦之德牧业科技有限公司, 黄石 435000

摘要 为了揭示豆粕发酵过程真菌群落的变化情况, 为发酵豆粕的稳定性和安全性评价提供依据, 采用 MiSeq 高通量测序技术分别检测 2 批发酵豆粕在 0、24、48 h 时的真菌群落组成。结果表明: 酵母菌属(*Saccharomyces*) 是 2 批发酵豆粕在 24 h 和 48 h 时共有的唯一优势真菌属(相对丰度 $\geq 1\%$), 它在发酵 0 h 时相对丰度均值不足 1%, 但在发酵 24 h 时的相对丰度均值为 98.30%, 48 h 时的相对丰度均值为 89.56%。并且在发酵豆粕中检测不到有害真菌, 证明发酵豆粕具有很好的安全性。2 批发酵豆粕在 3 个时间点的真菌群落变化具有相似性, 酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) 的相对丰度先不断上升, 然后维持在较高水平。在发酵过程中酿酒酵母不断消耗、钝化豆粕中的抗营养因子, 并产生多种有益代谢产物, 提高了发酵豆粕的品质。

关键词 豆粕; 真菌群落; 有害真菌; 发酵; 高通量测序; 豆粕品质; 相对丰度

中图分类号 S 816.42; S 816.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2019)05-0092-06

豆粕是大豆榨油后留下的残渣, 其营养价值高、产量大, 是一种优质蛋白饲料资源^[1]。中国养殖产业庞大, 对饲料的需求量高^[2]。鱼粉、血骨粉等蛋白饲料价格昂贵, 资源有限, 生物安全性较差。而豆粕中蛋白质含量高, 氨基酸比例均衡^[3], 且价格较低, 已经成为中国大宗饲料原料之一^[4]。豆粕含有多种抗营养因子^[5], 容易造成动物过敏和腹泻, 通过微生物发酵和酶解, 不仅能有效去除和钝化各种抗营养因子, 还能产生多种有益代谢产物^[6], 发酵产生的益生菌进入动物肠道后还有利于调节动物肠道菌群平衡, 有益于动物疾病预防^[7]。

目前, 国内有众多厂家生产豆粕发酵产品, 但对该产品的评价缺乏统一的准确标准^[8]。豆粕发酵产物的成分十分复杂, 从代谢产物方面进行全面的分析难以实现^[5], 但微生物的活跃情况可以很好地反映出整个发酵过程的状态, 并从侧面反映出代谢产物的生成情况。现有的发酵豆粕评判标准侧重点在小肽含量、抗原蛋白降解情况、发酵菌种活菌数和物理性质等^[9-11], 但对整个发酵过程中微生物菌群的变化关注较少。虽然王格等^[12]对 2 批豆粕发酵过程中细菌群落的变化进行了报道, 但对真菌的关注

度不高。真菌中的酵母菌、米曲霉和黑曲霉等也是发酵常用菌株, 能有效降解豆粕中部分抗营养因子, 提高发酵豆粕的营养价值和风味^[13-15]。而且部分有害真菌产生的代谢产物会造成动物中毒^[16], 及早发现并遏制这些有害真菌可以避免发酵豆粕对动物产生不利影响。

随着科技的进步, 微生物群落的分析方法已经越来越成熟。早期人们采用可培养微生物分离的方法, 不但工作量庞大, 而且能分离的微生物极少^[17]。20 世纪末, 分子生物学技术发展迅猛, 分子标记、基因克隆与变性凝胶电泳等技术^[18]被应用到微生物群落分析中, 但这些技术仍存在测量不准确、不全面等问题, 具有一定的局限性。于 2005 年问世的高通量测序技术^[19], 以二代测序技术为基础, 经过不断的革新, 已经可以同时产生成百上千万的序列读数, 对单个样品可以产生数千亿的碱基对信息^[20-21]。高通量测序技术能够全面检测样品中微生物的分布^[22]。Maliogka 等^[23]报告了高通量测序技术在果树病毒研究中的应用; Neto 等^[24]利用高通量测序技术对巴西咖啡豆发酵过程中细菌的多样性进行了分析。本研究对 2 批发酵豆粕在 3 个不同时间点进

收稿日期: 2019-03-22

基金项目: 湖北省科技支撑计划项目(2015BBA186)

董胜奇, 硕士研究生。研究方向: 微生物学与发酵工程。E-mail: 1317717071@qq.com

通信作者: 葛向阳, 副教授。研究方向: 微生物学与发酵工程。E-mail: gxy@mail.hzau.edu.cn

行取样,采用高通量测序技术检测样品中的微生物群落分布,观察豆粕发酵过程中真菌的生长状况,分析真菌繁殖与产品品质之间的关系,并对有害真菌进行检测和预防。

1 材料与方法

1.1 主要实验仪器与试剂

Eppendorf 5424R 高速台式冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司;NanoDrop 2000 型微量分光光度计,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;ABI GeneAmp[®] 9700 型 PCR 仪,美国 ABI 公司;DYY-6C 型电泳仪,中国北京市六一仪器厂;MISEQ 测序仪、HISEQ 测序仪,美国 Illumina 公司;TBS380 微型荧光计,美国 Turner BioSystems 公司。

OMEGA-soil DNA 抽提试剂盒,美国 Omega Bio-Tek 公司;20 g/L 琼脂糖凝胶,西班牙 biowest 公司;FastPfu DNA Polymerase,中国 TransGen 公司;AxyPrep DNA Gel Extracion Kit,美国 Axygen 公司;Illumina MiSeq platform,美国 Illumina 公司;FastDNA SPIN Kit for Soil,美国 MP 公司;引物 ITS1F、2043R,中国上海美吉生物医药科技有限公司。

1.2 工厂取样

样品取自湖北邦之德牧业科技有限公司,采用五点取样法从豆粕发酵池中各取 100 g 产物,混合后作为一个样本。发酵开始后,分别在 0、24、48 h 进行取样。分别在不同的日期取 2 批样,第 1 批样品根据时间顺序标记为 1_0 h、1_24 h、1_48 h,第 2 批样品根据时间顺序标记为 2_0 h、2_24 h、2_48 h。将样品冷冻保存,然后进行高通量测序。

1.3 样品 DNA 抽提

样品总 DNA 采用 OMEGA-soil DNA Kit 试剂盒抽提,抽提后用 Nano-Drop 2000 型微量分光光度计检测样品 DNA 的浓度与纯度,并通过电泳检测抽提得到的 DNA 质量。

1.4 PCR 扩增真菌 ITS1 基因

以抽提得到的 DNA 为模板,用引物 ITS1F(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAA-GTAA-3')和引物 2043R ((5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')扩增 ITS 基因的 ITS1 区,反应体系如下:dNTPs(2.5 mmol/L)2.0 μ L, FastPfu Buffer(5x)4.0 μ L,引物 F(5 μ mol/L)和引物 R(5 μ mol/L)各 0.8 μ L, FastPfu

Polymerase 0.4 μ L,样品 DNA 10 ng,最后加入 ddH₂O 使总反应体系为 20 μ L。反应程序:首先 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min,然后 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s,55 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 下延伸 30 s,在该程序下循环 35 次,最后 72 $^{\circ}$ C 下延伸 10 min。用 20 g/L 的琼脂糖凝胶回收 PCR 产物,再用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit 试剂盒进行纯化,然后用 Tris-HCl 洗脱,最后电泳检测,样品检测合格后送到上海美吉生物进行高通量测序。

1.5 数据处理

使用 Trimmomatic 软件对测序得到的序列进行质控,去除长度低于 50 bp 的序列和模糊序列,然后根据序列的重叠部分进行拼接;拼接后的序列用 UPARSE 软件进行聚类分析,相似度不低于 97% 的归为一类,用 UCHIME 软件处理后进行信息统计,得到 OTU (operational taxonomic units) 丰度表;然后采用 Mothur 软件计算 Shannon 指数、Ace 指数和覆盖率(coverage),分析物种多样性;最后利用 RDP classifier 软件对序列分类注释,参照 Silva 数据库(SSU123)以 70% 为阈值进行比对,统计分析后绘制菌群分布图、热图等。

2 结果与分析

2.1 真菌多样性分析

真菌测序结果见表 1,其中 Tag number 代表筛选后的合格序列数;Sobs 指数表示物种丰富度的实际观测数;Shannon 指数用于描述样品的多样性程度,数值越高表明样品多样性越高;Ace 指数用于估计物种总数;Coverage 数值越高表明样本中序列被测出的概率越高,数据的可靠性越高。

从表 1 可以看出,6 个样品的合格序列较多,可以进行序列分析。2 批样品在 24 h 和 48 h 时 Sobs、Shannon、Ace 这 3 个指数均比 0 h 时低,发酵 48 h 时 3 个指数与 24 h 时相比均有一定程度的升高。从整体上来看,发酵进行到中后期(24~48 h)时样品中真菌的多样性和丰富度均比发酵开始时高,表明随着发酵进行,个别优势物种具有明显的生长趋势,而其他真菌的生长受到抑制。由于发酵处于开放状态,容易受到外界环境的干扰,发酵中后期的样品中真菌丰富度和多样性指数存在一定的波动,但这种波动在可控范围内,并未对整体的结果造成影响。

表 1 各样本的多样性指数

Table 1 The diversity index of each sample

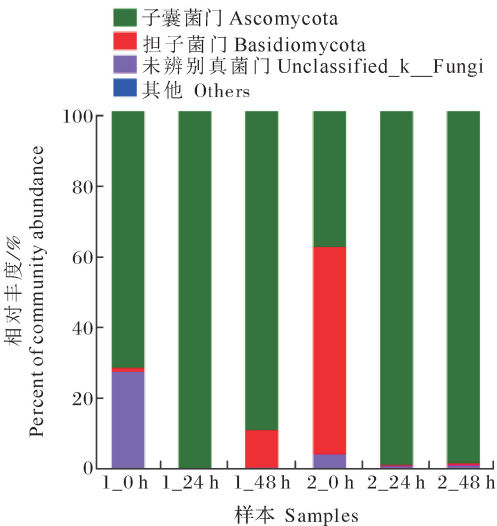
样本 Samples	Tag 数量 Tag number	Sobs 数量 Sobs number	Shannon 指数 Shannon	Ace 指数 Ace	覆盖率/% Coverage
1_0 h	74 258	132	2.25	178.47	99.99
1_24 h	31 472	32	0.06	61.45	99.99
1_48 h	30 247	119	1.05	126.36	99.99
2_0 h	42 991	167	1.85	186.23	99.99
2_24 h	35 780	59	0.19	100.82	99.99
2_48 h	40 169	62	0.22	114.67	99.99

2.2 物种组成分析

1)门水平分析。以相对丰度 1%为下限,2 批样品均在门水平上检测到了 2 个真菌门,分别为担子菌门(Basidiomycota)和子囊菌门(Ascomycota)。从图 1 可以看出,2 批样品中子囊菌门在中后期(24~48 h)均占有绝对优势。第 1 批样品中,子囊菌门在 24 h 和 48 h 时的相对丰度分别为 99.93%和 88.94%,与 0 h 时的 71.45%相比均有了显著性提升;担子菌门相对丰度在 0 h 时为 1.07%,24 h 时趋近于 0,48 h 时受环境的影响又升高到 10.43%。第 2 批样品中,子囊菌门相对丰度在 0 h 时为 37.78%,24 h 与 48 h 时的相对丰度均在 98%以上;担子菌门一直存在于样品中,初期相对丰度为 57.96%,中后期相对丰度均不足 1%。2 批样品的检测结果表明,子囊菌门是豆粕发酵过程中的优势真菌门,对整个发酵中后期真菌群落的变化产生了主要影响。

2)属水平分析。以相对丰度 1%为下限,2 批样品共检测到 12 个真菌属,其中有 5 个未辨别的真菌属。从图 2 可以看出,2 批样品中酵母菌属(*Saccharomyces*)在中后期均占有绝对优势,酵母菌属在发酵 0 h 时相对丰度均不足 1%,但到了 24 h 相对丰度分别为 99.26%和 97.34%。发酵 48 h 时,第 1 批样品中酵母菌属相对丰度由 24 h 时的 99.27%下降为 82.27%,此时样品中还包含有 2.4%的曲霉菌属(*Aspergillus*)、2.14%的散囊菌纲(*Eurotiomycetes*)未知属、5.3%的红菇菌属(*Russula*)、2.24%的革菌科(*Thelephoraceae*)未知属和 1.36%的红菇科(*Russulaceae*)未知属;第 2 批样品中酵母菌属相对丰度为 96.84%,依旧维持在较高水平。2 批样品的检测结果表明,酵母菌属在发酵中后期的真菌群落中占有极高的比例,是主导发酵过程中样品品质变化的主要真菌属。

3)种水平聚类分析。采用 R 语言 *vegan* 算法对 2 批样品中的 6 个样本进行种水平的聚类分析,



不同颜色的柱子代表不同的真菌门,柱子的长短代表该真菌门的相对丰度大小。下图同。The columns of different colors represent different eumycota. The length of the pillars represents the relative abundance of the eumycota. The same as below.

图 1 真菌门水平上的相对丰度比较
Fig.1 Comparison of relative abundance at level of phylum in fungi

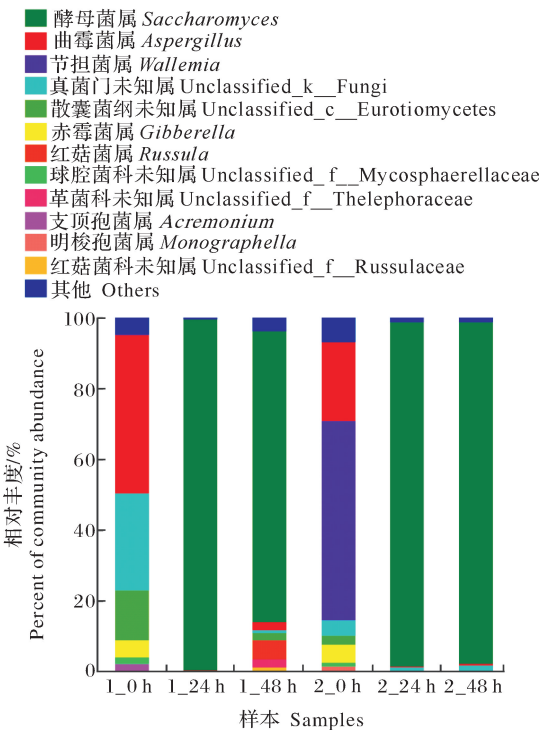


图 2 真菌属水平上的相对丰度比较
Fig.2 Comparison of relative abundance at level of genus in fungi

统计相对丰度从大到小排名前 30 的物种并绘制群落热图,通过颜色变化分析各样本在种水平上群落组成的相似性和差异性,结果见图 3。图中颜色梯

度代表相对丰度的高低,相对丰度较高的属颜色偏向红色,相对丰度较低的属颜色偏向蓝色。从图 3 可以清晰看出,2 批样品中 1_24 h、1_48 h、2_24 h、2_48 h 这 4 个样本在种水平上的差异较小、相似性较高,被聚为一类;1_0 h 与 2_0 h 这 2 个样本被聚

为另一类,并与其他 4 个样本存在巨大差异。表明 0 h 时样品的真菌群落组成主要受到发酵环境的影响,2 个样本的真菌群落比较相似且复杂多样。而发酵中后期酿酒酵母大量繁殖,其他真菌的生长受到抑制,样品的物种多样性和丰富度降低,真菌群落

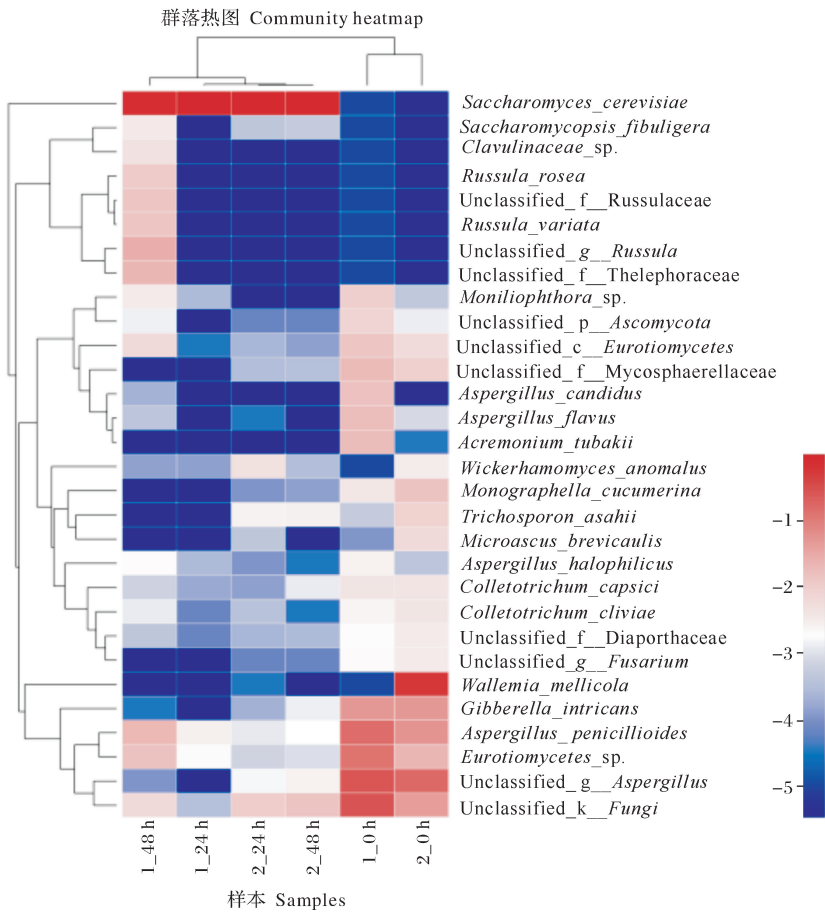


图 3 真菌种水平上的聚类分析热图

Fig.3 Heatmap of cluster analysis at level of specis in fungi

组成趋向于单一化,所以 4 个样本高度相似。

4)真菌群落主成分分析。采用 R 语言 PCA 统计分析方法,在 OTU 水平上对各样本进行成分相似性分析,结果见图 4。图 4 中 2 个样本的空间位置越接近,可见物种组成相似度越高。PC1 在样本总 OTU 中所占比例达到 87.66%,所以样本点在横轴的距离很大程度上代表了样本之间的组成差异。PC2 所占比例为 12.12%,PC1 和 PC2 的比例总和超过 99%,所以对二者的分析即可表明各样本整体组成情况。依据样本点之间的距离归类,6 个样本可以归为 2 类,1_0 h 和 2_0 h 横向距离较短可归为一类,1_24 h、1_48 h、2_24 h 和 2_48 h 空间位置十分接近被归为另一类。2 批样品的 PCA 分析结果表明,豆粕发酵中后期的样品在真菌组成上具有一

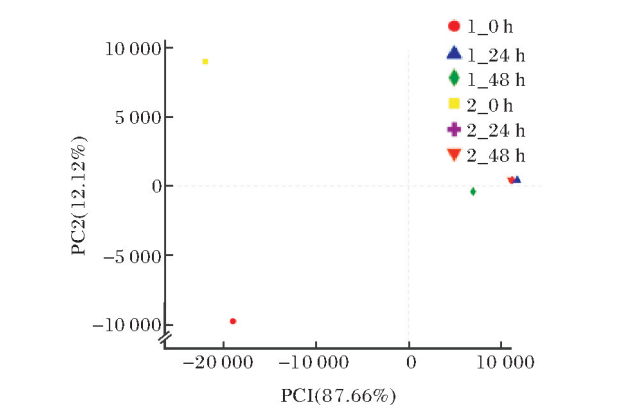


图 4 OTU 水平上的真菌主成分分析

Fig.4 Principal component analysis of fungi at OTU level
定的规律,而且 24 h 与 48 h 时的真菌群落结构高度相似,这与种水平聚类分析结果完全吻合。根据

6个样本的真菌主要成分,可以把豆粕发酵分为2个阶段,即0~X h的酿酒酵母生长期和X~48 h的酿酒酵母稳定期($0 < X \leq 24$)。结合门水平、属水平和种水平的分析结果,可见豆粕固态发酵环境比较适合酿酒酵母生长,酿酒酵母是豆粕发酵体系中的绝对优势真菌种,在良好的发酵条件下,酿酒酵母的真实生长曲线符合其理想的生长曲线。

3 讨论

2017年度国内豆粕总消费量在7 000万t以上^[25],而发酵豆粕的产量不足100万t,主要原因之一就是发酵的稳定性和安全性问题,而有害真菌的侵害往往是导致豆粕不稳定、不安全的主要原因。随着国家对抗生素滥用的监管力度的加大,发酵饲料在总饲料中所占的比例将逐步上升。近年来,虽然发酵豆粕方法和产物特性相关的研究已经屡见不鲜,但研究人员对发酵过程中真菌群落的变化却关注极少。测序技术的兴起使得人们对小环境中微生物群落的组成分析逐渐成为可能,由于高通量测序技术检测量大、灵敏度高、成本低,能够准确反映出环境中各种微生物的相对丰度,其已经在土壤、动物肠道等研究领域得到广泛应用。

本研究利用高通量测序技术探究豆粕发酵过程中真菌群落的变化,为发酵豆粕的稳定性和安全性评价提供依据。研究发现发酵0 h时,受水、空气、豆粕原料等所含有的真菌影响,整个发酵环境中真菌的多样性较高,2批样品中酿酒酵母相对丰度均不足1%;发酵24 h时2批样品中酿酒酵母的平均相对丰度达到98%以上,成为豆粕发酵的主导菌种,其他能辨别真菌种相对丰度均不足1%;发酵48 h时,酿酒酵母的相对丰度依旧维持在较高水平,2批样品中酿酒酵母的相对丰度均值在89%以上,虽然第一批样品出现了曲霉菌属和红菇菌属等的干扰,但考虑到开放式固态发酵的不稳定性,这种干扰并不影响2个样本的聚类。2批样品检测结果对比表明,豆粕发酵是一个有规律可循的过程,虽然原料豆粕、水都未经灭菌处理,发酵环境也相对较为开放,但酿酒酵母的相对丰度变化趋势与其理想的生长曲线(不包括衰亡期)大致同步。

豆粕发酵方式为浅盘式,发酵体系具有一定厚度,所以表面以外的发酵体系呈缺氧状态,而王格等^[12]的试验发现乳酸菌是豆粕发酵过程中的绝对优势细菌,它的大量繁殖使整个发酵体系偏向酸性。这种条件使得大量好氧、不耐酸的真菌无法繁殖,却

为酿酒酵母提供了良好的生长环境。酿酒酵母是全世界发酵产业广泛应用的安全菌种,它能产生多种有益代谢产物,改善发酵底物的营养成分,并产生一些香味物质,可提升发酵豆粕品质^[26]。2批样品中均检测不到黄曲霉菌属和镰刀菌属等有害真菌,表明发酵豆粕具有较高安全性,可用于禽畜饲料。本研究与王格等^[12]的研究成果对比可以得出结论:采用微生物发酵的方式处理豆粕,保证所接的菌种在发酵中后期占极高的相对丰度,以及整个发酵过程中无有害真菌和有害细菌干扰,最终得到的产物的稳定性和安全性较高。

参考文献

- [1] XIE Y, LIANG X, WEI M, et al. Optimization of glutamine peptide production from soybean meal and analysis of molecular weight distribution of hydrolysates[J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(6): 7483-7495.
- [2] 张连慧, 熊小辉, 惠菊, 等. 发酵豆粕及其在动物养殖行业中的应用研究[J]. 中国油脂, 2017, 42(3): 108-112.
- [3] FRIAS J, SONG Y S, MARTÍNEZ-VILLALUENGA C. Immunoreactivity and amino acid content of fermented soybean products[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2008, 56(1): 99-105.
- [4] 国家粮油信息中心. 2018年8月国内外大宗饲料原料市场分析[J]. 中国饲料, 2018(18): 9-12.
- [5] MEDEIROS S, XIE J J, DYCE P W, et al. Isolation of bacteria from fermented food and grass carp intestine and their efficiencies in improving nutrient value of soybean meal in solid state fermentation[J/OL]. J Anim Sci Biotechnol, 2018, 9: 664-673 [2019-03-22]. <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0245-1>.
- [6] SHI C, ZHANG Y, LU Z, et al. Solid-state fermentation of corn-soybean meal mixed feed with *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecium* for degrading antinutritional factors and enhancing nutritional value[J/OL]. J Anim Sci Biotechnol, 2017, 8: 50 [2019-03-22]. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0184-2>.
- [7] PAMER E G. Resurrecting the intestinal microbiota to combat antibiotic resistant pathogens[J]. Science, 2016, 352(6285): 535-538.
- [8] 葛向阳. 发酵豆粕评判标准、测定程序和鉴别方法[J]. 饲料与畜牧, 2010(2): 16-17.
- [9] ZHENG L, LI D, KANG L N, et al. Effect of *Bacillus* fermentation on the protein microstructure and anti-nutritional factors of soyabean meal[J]. Letters in applied microbiology, 2017, 65(6): 520-526.
- [10] 吝常华, 刘国华, 常文环, 等. 豆粕微生物固态发酵工艺优化及其营养物质含量变化[J]. 动物营养学报, 2018, 30(7): 2749-2762.
- [11] 殷海成, 黄进, 马芬芳. 凝结芽孢杆菌固态发酵对豆粕营养组成影响[J]. 饲料研究, 2018(2): 58-60.

- [12] 王格,董胜奇,葛向阳,等.基于高通量测序分析豆粕发酵过程中细菌群落结构及多样性[J].华中农业大学学报,2018,37(5):89-94.
- [13] HONG K J, LEE C H, KIM S W. *Aspergillus oryzae* GB-107 fermentation improves nutritional quality of food, soybeans and feed soybean meals[J]. J Med Food, 2004, 7(4): 430-434.
- [14] MUKHERJEE R, CHAKRABORTY R, DUTTA A. Role of fermentation in improving nutritional quality of soybean meal: a review[J]. Asian-Australas J Anim Sci, 2015, 29(11): 1523-1529.
- [15] CERVANTES-PAHMS K, STEIN H H. Ileal digestibility of amino acids in conventional, fermented, and enzyme-treated soybean meal and in soy protein isolate, fish meal, and casein fed to weanling pigs[J]. J Anim Sci, 2010, 88(8): 2674-2683.
- [16] EGBUTA M A, MWANZA M, BABALOLA O O. Health risks associated with exposure to filamentous fungi[J/OL]. Int J Environ Res Public Health, 2017, 14(7): 719 [2019-03-22]. <https://www.mdpi.com/1660-4601/14/7/719>.
- [17] LOK C. Mining the microbial dark matter[J]. Nature, 2015, 522(7556): 270-273.
- [18] ZHOU J, HE Z, YANG Y, et al. High-throughput metagenomic technologies for complex microbial community analysis: open and closed formats[J/OL]. mBio, 2015, 6(1): 02288-14 [2019-03-22]. <http://mbio.asm.org/lookup/doi/10.1128/mBio.02288-14>.
- [19] MARGULIES M, EGHOLM M, ALTMAN W E, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors[J]. Nature, 2005, 437(7057): 376-380.
- [20] SEKSE C, HOLST-JENSEN A, DOBRINDT U, et al. High throughput sequencing for detection of foodborne pathogens[J/OL]. Front Microbiol, 2017, 8: 2029 [2019-03-22]. <https://doi.org/10.1002/mas.21548>.
- [21] D'ARGENIO V. The high-throughput analyses era: are we ready for the data struggle? [J/OL]. High throughput, 2018, 7(1): 8 [2019-03-22]. <https://doi.org/10.3390/ht7010008>.
- [22] 袁学刚,叶羊,赵甲元,等.基于高通量测序分析连翘砵溶液发酵炮制过程中真菌菌群多样性变化[J].中草药,2018,49(18): 4259-4268.
- [23] MALIOGKA V I, MINAFRA A, SALDARELLI P, et al. Recent advances on detection and characterization of fruit tree viruses using high-throughput sequencing technologies[J/OL]. Viruses, 2018, 10(8): 436 [2019-03-22]. <https://doi.org/10.3390/v10080436>.
- [24] NETO D P C, VINICIUS D M G, PEREIRA A, et al. High-throughput rRNA gene sequencing reveals high and complex bacterial diversity associated with Brazilian coffee bean fermentation[J]. Food technology & biotechnology, 2018, 56(1): 90-95.
- [25] 国家粮油信息中心. 2018年1月国内外大宗饲料原料市场分析[J]. 中国饲料, 2018(4): 9-12.
- [26] 赵欠,王巧碧,周才琼.酿酒酵母相关营养成分的研究及应用进展[J]. 中国酿造, 2015, 34(6): 15-18.

Analysis of composition and changes of fungal community during fermentation of soybean meal based on high-throughput sequencing

DONG Shengqi¹ WANG Ge¹ ZHANG Tao² GE Xiangyang¹

1.College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2.Bangzhide Company Limited, Hubei Province, Huangshi 435000, China

Abstract To reveal the changes of fungal community during fermentation of soybean meal and provide basis for the stability and safety evaluation of fermented soybean meal, MiSeq high-throughput sequencing technique was used to detect the fungal community composition of two batches of fermented soybean meal at 0 h, 24 h and 48 h, respectively. The results showed that *Saccharomyces* was the only dominant fungal genus($\geq 1\%$) shared by two batches of fermented soybean meal at 24 h and 48 h. The average relative abundance was less than 1% at 0 h, but 98.30% at 24 h and 89.56% at 48 h. And no noxious fungi were detected in the fermented soybean meals, which proved that the fermented soybean meal had good safety. The changes of fungal community in the two batches of fermented soybean meal were similar at the three time-points. The relative abundance of *Saccharomyces cerevisiae* increased continuously firstly, and then maintained at a high level. During the fermentation process, *Saccharomyces cerevisiae* continuously consumed and inactivated anti-nutritional factors in soybean meal, and produced various beneficial metabolites which improved the quality of fermented soybean meal.

Keywords soybean meal; fungal community; noxious fungi; fermentation; high-throughput sequencing; quality of soybean meal; relative abundance

(责任编辑:赵琳琳)