

研究报告

类节杆菌 AMU7 在不同碳源发酵条件下的固沙效果

魏浩卓^{#1}, 马佳星^{#1}, 刘君², 刘傲¹, 崔璨¹, 李静泉^{*1}

1 内蒙古大学 生态与环境学院, 内蒙古 呼和浩特 010020

2 内蒙古辰纬环保科技有限公司, 内蒙古 呼和浩特 010020

魏浩卓, 马佳星, 刘君, 刘傲, 崔璨, 李静泉. 类节杆菌 AMU7 在不同碳源发酵条件下的固沙效果[J]. 微生物学通报, 2025, 52(3): 1032-1045.

WEI Haozhuo, MA Jiaxing, LIU Jun, LIU Ao, CUI Can, LI Jingquan. Sand fixation properties of *Paenarthrobacter* sp. under different carbon source fermentation conditions[J]. Microbiology China, 2025, 52(3): 1032-1045.

摘要:【背景】生物土壤结皮对防风固沙起着重要作用, 适应贫瘠营养条件的寡营养型微生物是沙漠中促进结皮形成的主要贡献者。【目的】研究类节杆菌(*Paenarthrobacter* sp.) AMU7 在不同碳源发酵条件下的固沙功能并对其胞外多糖进行分析, 为沙漠生态治理提供优良菌种资源。【方法】从毛乌素沙地苔藓结皮样品中分离得到寡营养型固沙菌株 AMU7, 通过 16S rRNA 基因序列分析、形态学和生理生化试验等, 对菌株 AMU7 进行鉴定; 采用不同碳源培养基培养菌株 AMU7, 分别用游标卡尺和压力计测定结皮厚度和承受压力值获得该菌株促进结皮形成的效果。对不同处理后的发酵菌液过滤样品通过苯酚硫酸法进行胞外多糖测定并同时进行了固沙效果测定, 判断菌株 AMU7 起固沙作用的物质类型及所在位置。【结果】菌株 AMU7 鉴定为类节杆菌(*Paenarthrobacter* sp.) AMU7。在以葡萄糖为碳源的发酵条件下, 类节杆菌 AMU7 发酵菌液形成结皮的厚度保持稳定, 在 1.74 cm 以上; 24 h 承压值比葡萄糖合成培养基对照稳定高出 25 N 以上, 极大地提高了结皮的抗压强度。类节杆菌 AMU7 的固沙活性物质并非在稳定生长期大量分泌的次级代谢物, 而是在对数生长期菌体快速增殖、生长过程中形成的存在于细胞外围黏液层中的多糖成分, 并且在对数生长期靠前的阶段, 该固沙活性物质在黏液层中的含量更高。【结论】类节杆菌 AMU7 具有高效固沙能力, 在沙漠生态治理方面应用潜力巨大。

关键词: 生物土壤结皮; 放线菌; 固沙功能; 碳源; 胞外多糖

资助项目: 内蒙古自治区自然科学基金(2022MS03049); 蒙古高原生态学与资源利用教育部重点实验室开放基金课题

This work was supported by the Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (2022MS03049), and the Open Fund of Ministry of Education Key Laboratory of Ecology and Resource Use of the Mongolian Plateau.

[#]These authors contributed equally to this work.

^{*}Corresponding author. E-mail: lj198327@163.com

Received: 2024-05-18; Accepted: 2024-10-23; Published online: 2024-12-05

Sand fixation properties of *Paenarthrobacter* sp. under different carbon source fermentation conditions

WEI Haozhuo^{#1}, MA Jiaying^{#1}, LIU Jun², LIU Ao¹, CUI Can¹, LI Jingquan^{*1}

1 School of Ecology and Environment, Inner Mongolia University, Hohhot 010020, Inner Mongolia, China

2 Inner Mongolia Chenwei Environmental Protection Technology Limited Company, Hohhot 010020, Inner Mongolia, China

Abstract: [Background] Biological soil crusts play a crucial role in windbreak and sand fixation, and oligotrophic microorganisms adaptive to nutrient-poor conditions are the main contributors to crust formation in deserts. [Objective] To investigate the sand-fixing function of *Paenarthrobacter* sp. AMU7 cultured with different carbon sources and analyze its exopolysaccharides, thus providing elite microbial resources for ecological management of deserts. [Methods] The oligotrophic sand-fixing strain AMU7, isolated and screened from the moss crust sample of Mu Us Sandy Land, was identified by 16S rRNA gene sequencing, morphological observation, and physiological and biochemical tests. Strain AMU7 was cultured in the media with different carbon sources. The crust thickness and pressure-bearing capacity were measured with a vernier caliper and a pressure gauge, respectively, to evaluate the effect of strain AMU7 in promoting crust formation. The exopolysaccharides in fermentation broth samples under different treatments were measured by the phenol-sulfuric acid method and the sand-fixing effects were determined, on the basis of which the types and location of the sand-fixing substances produced by strain AMU7 were determined. [Results] Strain AMU7 was identified as *Paenarthrobacter* sp. AMU7. With glucose as the carbon source, strain AMU7 formed stable crusts with the thickness consistently exceeding 1.74 cm. The 24 h pressure-bearing capacity of the crusts produced by the fermentation broth of strain AMU7 was stably over 25 N higher than that by the glucose synthetic medium (control), which indicated that strain AMU7 significantly enhanced the compressive strength of the crust. The sand-fixing substances of *Paenarthrobacter* sp. AMU7 were not secondary metabolites secreted in large quantities during the stable growth phase, but exopolysaccharides produced in the extracellular mucous layer formed during the rapid proliferation and growth of bacterial cells. Moreover, the content of exopolysaccharides was higher in the mucous layer during the early logarithmic growth phase. [Conclusion] *Paenarthrobacter* sp. AMU7 has an efficient sand-fixing capability, demonstrating significant application potential in the ecological management of deserts.

Keywords: biological soil crusts; actinomycetes; sand-fixing function; carbon source; exopolysaccharides

沙漠化是指干旱、半干旱和具有干旱灾害的湿润半湿润地区因气候变化、风沙活动及土地利用不善导致土地退化、沙漠扩大的现象^[1]。中国的沙漠化土壤面积大分布广且沙漠化速度

快，第六次全国荒漠化和沙化调查结果显示，截至 2019 年我国荒漠化土地面积和沙化土地面积分别占全国土地面积的 26.81%和 17.58%，其中以风蚀为主的沙漠化占沙土化总面积一半

以上^[2],其中以风蚀为主的沙漠化占沙土化总面积一半以上。尽管整体沙漠化程度有大幅度好转,但仍有大范围土地具有明显沙化趋势。沙漠化引起土壤肥力下降、植被丧失以及生物多样性低等众多生态安全问题,掌握沙漠化驱动因素以及未来发展趋势,坚持科学沙漠化治理工作已成为全球范围内亟待解决的紧迫问题。

微生物类固沙技术较物理化学固沙技术更有利于实现沙漠系统的可持续发展,利用微生物产生的胞外多糖等聚合物来固沙是最主要的方法之一。近些年来,研究者利用微生物防沙治沙的方法主要有2种:(1)微生物分泌黏多糖^[3],利用微生物分泌到沙土中的多糖等物质促进结皮形成以增强土壤抗侵蚀能力^[4]。(2)微生物诱导碳酸钙沉淀^[5-6],产尿素酶细菌催化尿素分解在土壤颗粒间形成碳酸钙沉淀来稳固土壤团聚体^[7]。微生物类固沙材料的分离及应用实践中微生物的存活问题是微生物固沙技术中研究的重点与难点,目前国内外仍鲜见利用具有强耐受性的微生物固沙材料进行沙漠化治理的报道^[8]。

干旱地区生态系统中生物土壤结皮大约占30%,其厚度和胞外多糖等结皮特性常被用来评估结皮性能^[9]。胞外多糖作为结皮的胞外聚合物主要组成结构,可保证土壤团聚体的稳定性^[10]。目前已经开展了很多以生物接种剂对土壤结皮进行修复的研究,但都是以接种藻类或蓝细菌为主,生物菌剂在固沙中的应用目前仍然很少^[11]。接种人工藻结皮3年后形成的土壤结皮和11年自然形成结皮的胞外多糖含量水平相当^[12]。施用微生物菌剂来防治沙漠化被认为是安全和可持续的固沙策略,菌株能适应条件恶劣的沙漠环境并快速生长繁殖覆盖沙漠表面促进结皮初步形成。Zhao等^[13]在野外进行6个月的固沙特性测试试验,结果表明高产胞外多

糖菌株特基拉芽孢杆菌(*Bacillus tequilensis*) CGMCC 17603诱导的结皮有效减少了风蚀。总之由于土壤结皮的存在,沙土表层松散程度得到缓解,同时还提高了土壤有机质元素含量以满足土壤养分供应需求^[14]。

土壤微生物产生的胞外多糖(exopolysaccharides, EPS)和脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是土壤颗粒间的“黏结剂”,藻类和细菌、真菌都可以合成EPS^[15-16],复杂糖脂LPS主要附着于革兰氏阴性菌的细胞膜外^[17]。对沙漠中黏多糖生产者的研究多集中于蓝藻细菌门(Cyanobacteriota)和革兰氏阴性菌中的成员^[18],它们主要产生黏液多糖,而革兰氏阳性菌如放线菌等在黏结沙粒促进结皮形成中的作用和机制知之甚少^[19]。一些革兰氏阳性菌细胞表面生成EPS多聚物,通常被称为荚膜多糖起到保护细胞和黏附等作用^[20]。在20世纪50年代有科学家证明向土壤中添加微生物,其分泌的EPS能够有效促进土壤团聚体形成^[21]。Cheng等^[22]将2株分离自土壤的产EPS菌株添加到土壤中,通过设置接种活细菌、灭菌细菌及EPS溶液等不同处理组,得出这2株细菌及其产生的EPS能够显著提高水稳性土壤大团聚体的形成。分离自沙漠生物土壤结皮的寡营养细菌的固沙机理主要集中在菌体分泌产生的EPS上,此外还有菌丝体的捆绑辅助作用^[23]。目前从沙漠环境中分离出的产黏液菌株几乎都来自土壤结皮,如鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、葡萄孢属(*Botrytis*)、马赛菌属(*Massilia*)、盐水球菌属(*Salinicoccus*)等,实验结果表明喷洒这些分泌EPS的菌株发酵液,全部起到了黏结沙粒和保水作用^[24-29]。本研究通过苯酚硫酸法^[30]测定不同碳源以及不同离心程度处理后的菌株AMU7(本实验室分离保存)胞外多糖含量,对其发挥黏结作用的多糖成分进行分析。

土壤微生物的生长和活动受土壤中养分限制,然而在营养物质匮乏的干旱沙漠环境中栖息着一类寡营养微生物,能利用低浓度碳源正常生长,具有抗旱、耐盐、耐高温等特点^[31-32]。利用寡营养型微生物作为固沙材料,可以克服传统微生物固沙材料在实践中存活困难、固沙效果不持久的缺点^[33]。

微生物固沙是一种经济、环保的沙漠化防治重要手段。目前对于寡营养型微生物促进生物结皮形成作用的研究刚刚起步且尚不成熟,实践应用也较少,寡营养型类节杆菌(*Paenarthrobacter* sp.)的固沙研究报道也仅在本课题组,目前已对 *Paenarthrobacter* sp. OM7 的固沙性能进行了研究^[34]。不同碳源作生长培养基会影响菌株 EPS 等代谢产物的合成途径^[35],本研究探究寡营养型微生物在不同碳源发酵条件下固沙功能差异,以期对以后固沙菌株的固沙应用具有重要指导意义,并为沙漠生态治理提供优良的固沙菌种资源。

1 材料与方 法

1.1 样品

土壤样品采集方法参见张雨虹等^[36]。于陕西省榆林市毛乌素沙地采集苔藓结皮层(0–1.5 cm)土壤样品,选取沿直线分布的 3 块样地,样地间相隔 10–15 m。用铁铲沿样地(0.5 m×0.5 m)对角线取样 3 次均匀混合。采集的土壤样品用低温保温箱保存带回实验室,以进行固沙菌株的分离和筛选。

1.2 主要试剂和仪器

细菌 DNA 提取试剂盒,上海美吉逾华生物医药科技有限公司; *Ex Taq*, TaKaRa 公司; PCR 扩增引物,生工生物工程(上海)股份有限公司。压力蒸汽灭菌锅,致微(厦门)仪器有限公司;数字式推拉力计,东莞三量量具有限公司;紫外

可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司; PCR 仪, Bio-Rad 公司; 扫描电子显微镜, Hitachi 公司; 酶标仪, BioTek 公司。

1.3 培养基

高氏一号培养基、寡营养培养基参照文献^[37]配制; LB 培养基参照文献^[38]配制; 无机盐培养基(g/L): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2.0, NaH_2PO_4 0.5, K_2HPO_4 0.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1, pH 7.2; 木糖合成培养基: 300 g/L 的木糖母液于 121 °C 灭菌 20 min 后,按 1:30 加入到灭菌无机盐培养基中,终浓度 9.68 g/L; 葡萄糖合成培养基: 600 g/L 的葡萄糖母液于 121 °C 灭菌 20 min 后,按 1:30 加入到灭菌无机盐培养基中,终浓度 19.35 g/L。配制固体培养基时,每 100 mL 液体培养基中加入 1.6 g 琼脂粉。

1.4 菌株 AMU7 的分离纯化和筛选

取 1 g 苔藓结皮样品加入到 9 mL 灭菌 0.5% NaCl 溶液中,充分混匀后制成初始浓度为 10^{-1} 的土壤悬液。吸取 1 mL 悬液加入到下一支装有 9 mL 灭菌 0.5% NaCl 溶液的试管中,依次进行梯度稀释,取 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 三个浓度梯度在高氏一号培养基平板上进行涂布,30 °C 恒温培养箱中培养 3 d。挑取菌落形态不同的单菌落,纯化后将发酵菌液施加在裸沙中,待菌液自然蒸发后通过测定形成结皮的厚度及抗压力程度来验证固沙功能,并在寡营养培养基固体平板上验证其在寡营养条件下的生存能力。

1.5 菌株生长曲线的测定

挑取纯化后的单菌落到试管中制备种子液,按 3% 接种量将种子液接种到锥形瓶里灭菌的木糖合成培养基和葡萄糖合成培养基(占锥形瓶 2/5 的体积)中,30 °C、150 r/min 振荡培养。每隔 12 h 取样,用紫外分光光度计测定样品 OD_{600} 值,每组处理设置 3 个重复,以 OD_{600} 为纵坐标、时间为横坐标,绘制菌株的生长曲线。

1.6 菌株的鉴定

1.6.1 分子生物学鉴定

采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取菌株总 DNA, 以其为 PCR 模板选用细菌 16S rRNA 基因序列通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') 进行 PCR。PCR 反应体系: 10×*Ex Taq* buffer 2.0 μL, 5 U/μL *Ex Taq* 0.2 μL, 2.5 mmol/L dNTP Mix 1.6 μL, 10 μmol/L 引物 27F 1 μL, 10 μmol/L 引物 1492R 1 μL, 13 ng/μL 模板 DNA 0.5 μL, 补充 ddH₂O 至 20 μL。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 56 °C 30 s, 72 °C 90 s, 25 个循环; 72 °C 10 min。PCR 产物经胶回收后由美吉生物公司进行测序。将拼接好的 16S rRNA 基因序列递交至 NCBI。在 NCBI 和数据库中比对分析, 通过软件 MEGA 11.0 中的邻接法 (neighbor-joining method) 构建系统发育树。

1.6.2 形态特征

将菌株 AMU7 分别涂布于高氏一号、LB 和寡营养固体培养基, 30 °C 倒置培养。在培养基上观察菌落形状、大小、颜色及黏稠度等情况, 通过扫描电子显微镜观察菌体表面形态。

1.6.3 生理生化特征

根据东秀珠等编写的《常见细菌系统鉴定手册》^[39] 中的生理生化检测方法对菌株进行生理生化鉴定。

1.7 菌株 AMU7 的固沙特性

制备大小一致的沙罐, 沙子体积为沙罐的一半, 设置 4 个处理组: 葡萄糖合成培养基发酵菌液和木糖合成培养基发酵菌液(试验组)以及 2 种碳源的无菌培养基处理组(对照组), 每组处理设置 3 个重复。同时设置一组只加纯水的绝对空白对照组。将菌株 AMU7 种子液按 3% 接种量分别接种到 2 种碳源的灭菌液体培养基中, 30 °C、150 r/min 振荡培养。根据不同的生

长曲线, 葡萄糖合成培养基发酵菌液的获取时间分别设定为 24、36 和 60 h; 木糖合成培养基发酵菌液的获取时间分别设定为 36、60 和 96 h。将富集培养的菌液用量筒量取 20 mL 倒于烧杯中, 摇匀后将其均匀洒在塑料罐中的裸沙表面, 对照组仅用等量的无菌培养基。在室内自然通风条件下进行固沙试验, 设置 10、20 和 30 d 这 3 个时间点观察结皮形成情况, 进行结皮厚度和承受压力值测定。沿形成结皮的直径方向等距选择 5 个点用电子数显卡尺测量结皮厚度, 用数字式推拉力计在结皮的不同部位测 4 个承受压力值。

1.8 菌株 AMU7 产胞外多糖特性

制备 AMU7 种子液, 按 3% 接种量接种至木糖合成培养基和葡萄糖合成培养基中, 在 30 °C、150 r/min 条件下振荡培养。对木糖合成培养基, 发酵培养至 36 h 获取菌液; 对葡萄糖合成培养基, 发酵培养至 24 h 时获取菌液。随后对发酵菌液进行处理, 测定样品中胞外多糖含量。每组菌液按是否离心分为 2 个处理, 等量分装于 50 mL 离心管中。离心组在 4 °C、8 000 r/min 离心 20 min, 取上清液通过 0.22 μm 的细菌滤膜过滤, 制备离心过滤样品。另一组不经离心, 直接用 0.22 μm 滤膜进行过滤, 获得直接过滤样品。每组处理设置 3 个重复。

分别取 5 mL 离心过滤样品和直接过滤样品于 50 mL 离心管中, 加入 4 倍体积 95% 乙醇, 放置于 4 °C 冰箱中进行过夜沉淀。将过夜沉淀的液体在 7 000 r/min 的条件下离心 10 min, 弃上清保留沉淀。用 95% 乙醇洗涤 3 次, 每次洗涤后 7 000 r/min 离心 10 min, 最后弃上清, 所得沉淀即为含胞外多糖样品。用苯酚-硫酸法测定胞外多糖的含量, 以葡萄糖为标准品, 制作标准曲线。收集上述沉淀物用蒸馏水溶解, 取 2 mL 胞外多糖水溶液于干燥的具塞试管内, 加

入 6% 苯酚溶液 1 mL, 再加入 5 mL 浓硫酸混匀, 100 °C 水浴加热 10 min 显色。流水冷却至室温, 吸取 200 μ L 于 490 nm 波长处通过酶标仪测其吸光度值。根据葡萄糖标准曲线, 计算胞外多糖浓度。

取上述剩余的离心过滤样品和直接过滤样品进行固沙试验, 均匀施加 20 mL 过滤样品于塑料罐中的裸沙表面, 以施加等量无菌培养基为对照。10 d 时观察并记录结皮形成情况, 测定方法同 1.7。每组处理设置 3 个重复。

1.9 数据分析

采用软件 SPSS Statistics 25.0、Excel 2021 对数据进行单因素方差分析, 用 Duncan 法进行多重比较 ($P < 0.05$); 两组数据之间采用 t 检验比较差异; 采用 Origin2022 进行相关绘图。

2 结果与分析

2.1 菌株 AMU7 的鉴定结果

2.1.1 菌株 AMU7 的形态特征

通过稀释涂布和平板划线法一共分离纯化得到 17 株菌。与施加高氏一号培养基对照相

比, 各菌发酵液洒沙后有 2 株菌具有提高结皮抗压强度的能力, 其中菌株 AMU7 的提升效果更好。菌株 AMU7 属于寡营养型微生物, 既能够适应有机碳源极度缺乏的环境, 在营养丰富的条件下也能保持良好的生长状态, 其在不同种类固体培养基上的菌落形态如图 1 所示。在 3 种培养基条件下, 菌落表面均呈现湿润、光滑的状态。不同的是, 在高氏一号固体培养基上菌落显淡黄色, 不透明, 表面隆起接近圆形, 边缘整齐; 在 LB 固体平板上菌落显黄色, 不透明、呈圆形, 边缘整齐; 在寡营养固体平板上菌落显白色, 半透明, 呈椭圆形, 边缘较整齐。菌株 AMU7 经革兰氏染色后显微镜观察, 反应结果为阳性。在扫描电子显微镜下, 高氏一号固体培养基中生长的菌株 AMU7 呈杆状, 长 1.1–3.1 μ m, 宽 0.5–0.7 μ m, 细胞外围有黏液层包裹(图 2)。

2.1.2 菌株 AMU7 的生理生化鉴定结果

生理生化试验结果如表 1, 在碳源利用试验中, 该菌能够利用 D-葡萄糖、D-木糖、D-半乳糖、L-天冬氨酸和 L-组氨酸; 不能利用 4-氨基丁酸、L-精氨酸、L-鼠李糖和 L-异亮氨酸。



图 1 菌株 AMU7 在不同种类固体培养上的菌落形态 A: 高氏一号固体培养基; B: LB 固体培养基; C: 寡营养固体培养基。

Figure 1 Colony morphology of strain AMU7 on different types of solid cultures medium. A: Gause's synthetic solid medium; B: LB solid medium; C: Oligotrophic solid medium.

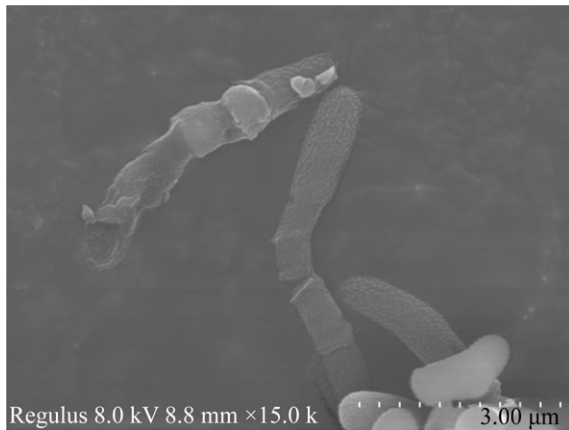


图2 菌株 AMU7 在高氏一号培养基中的扫描电子显微镜图像

Figure 2 The scanning electron microscopic result of the strain AMU7.

表1 菌株 AMU7 生理生化特征

Table 1 Physiological and biochemical characteristics of the strain AMU7

指标 Item	结果 Result
接触酶 Catalase	+
明胶液化 Gelatin liquefaction	-
硝酸盐还原 Nitrate reduction	-
淀粉水解 Starch hydrolysis	+
氧化酶 Oxidase	-
D-葡萄糖 Glucose	+
D-木糖 D-xylose	+
D-半乳糖 D-galactose	+
4-氨基丁酸 4-aminobutyrate	-
L-精氨酸 L-arginine	-
L-鼠李糖 L-rhamnose	-
L-异亮氨酸 L-isoleucine	-
L-天冬氨酸 L-asparagine	+
L-组氨酸 L-histidine	+
甲基红 Methyl red	-

+: 阳性; -: 阴性。

+: Positive; -: Negative.

2.1.3 菌株 AMU7 分子生物学鉴定结果

通过 PCR 扩增获得菌株 AMU7 的 16S rRNA 基因序列(1 405 bp), 上传至 NCBI 获得登录号 PP528764, 所得序列通过 GenBank 和 EzBioCloud

数据库中进行比对并构建系统发育树(图 3)。相似性比对结果显示菌株 AMU7 与变金黄类节杆菌(*P. aurescens*) NBRC 12136 相似性达到 99.72%。结合菌株形态学和生理生化指标测定结果, 将其鉴定为类节杆菌(*Paenarthrobacter* sp.) AMU7。

2.2 菌株 AMU7 在不同培养基中的生长特性

碳源不仅为微生物生长提供碳素和能量, 根据文献[40]报道, 培养基中不同碳源对微生物 EPS 产量和组成的变化有着显著影响。以木糖、葡萄糖为单一碳源对 AMU7 进行摇瓶发酵, 并对细胞生长和 EPS 产量进行测定。

菌株 AMU7 在以木糖为单一碳源的合成培养基中菌体生长量明显高于葡萄糖单一碳源培养基(图 4)。在以木糖为单一碳源的合成培养基中, 从 96 h 开始进入稳定生长期; 144 h 的 OD_{600} 均值为 1.045, 达到最高; 192 h 进入衰亡期(图 4A)。相比之下, 在以葡萄糖为碳源的合成培养基中, 菌株 AMU7 的菌体生长量较低。从 60 h 开始进入稳定生长期; 72 h 的 OD_{600} 均值为 0.403, 达到最大; 84 h 进入衰亡期(图 4B)。

2.3 菌株 AMU7 在不同碳源生长条件下的固沙效果

只进行加水处理的绝对空白对照组处理完全没有结皮形成。由于培养基中的木糖、葡萄糖具有黏性, 使得对照组处理(沙表面撒新鲜培养基)也能够固沙, 因此为了体现真正由 AMU7 菌液带来的固沙效果, 用所形成结皮的“承压差”, 即“试验组(洒菌液)结皮的承压均值减去对照组结皮的承压均值”, 选择处于对数期前期、中期及末期的发酵液来展示菌株 AMU7 的固沙能力。

如图 5 所示, 在对数生长期和稳定期沙罐中均有稳定结皮形成, 同时空白对照组也会有一定厚度的结皮形成。以木糖为碳源的液体发

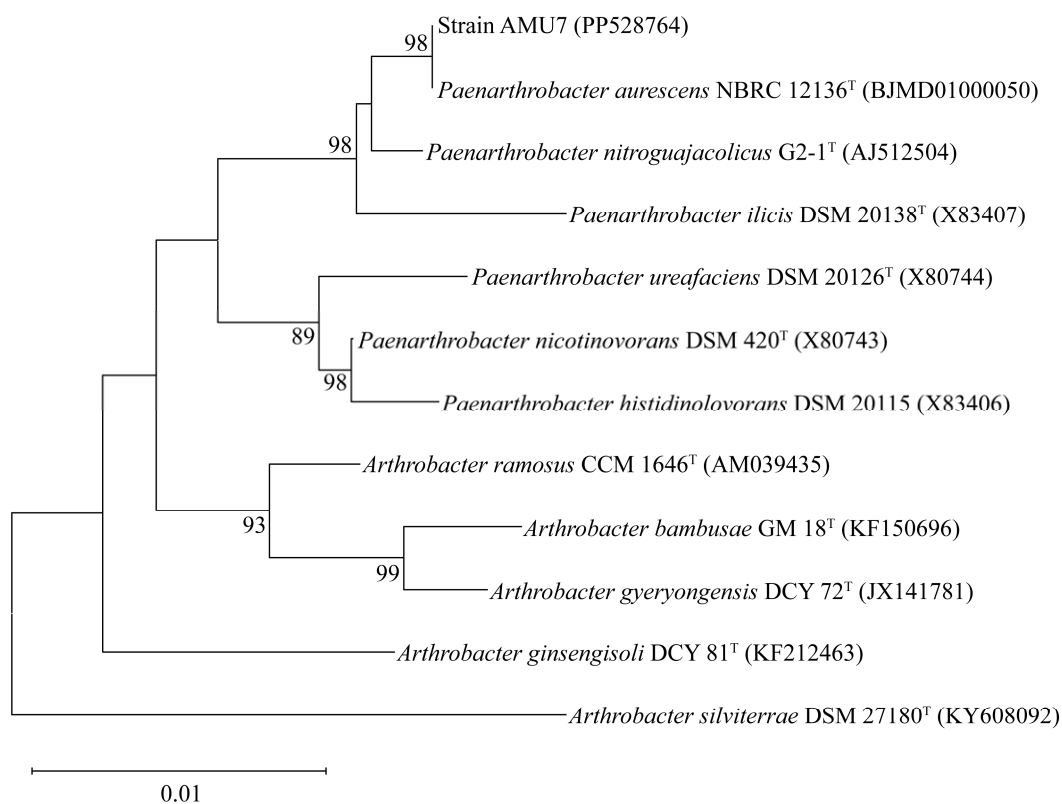


图3 菌株 AMU7 及其近缘模式菌株基于 16S rRNA 基因的系统发育树 分支处数值表示 bootstrap 值；括号内数值为 GenBank 登录号；标尺 0.01 代表序列的进化差异。

Figure 3 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences showing the relationship between strain AMU7 and the related species. Numbers at branch nodes present bootstrap value; Numbers in parentheses are GenBank accession numbers; The scale bar 0.01 represents sequence variance.

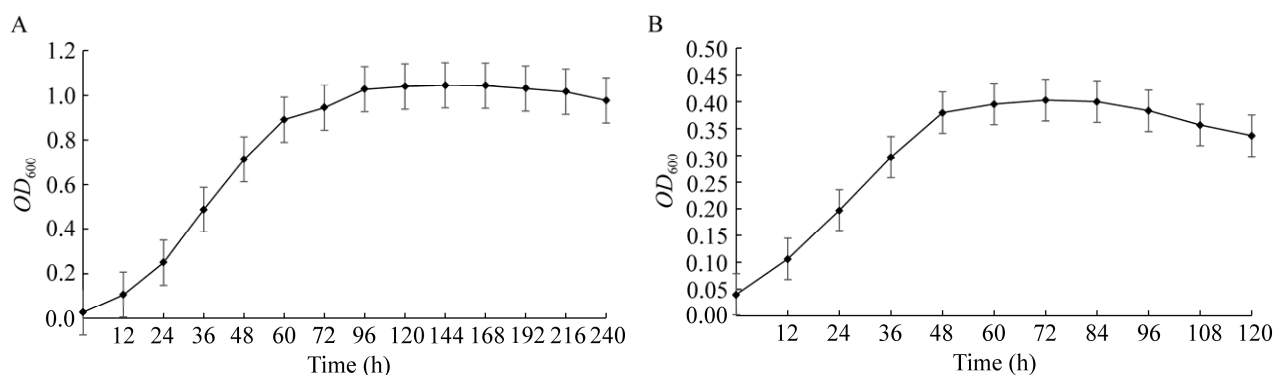


图4 菌株 AMU7 的生长曲线 A: 在以木糖为碳源的培养基中；B: 在以葡萄糖为碳源的培养基中。

Figure 4 Growth curves of strain AMU7. A: In culture medium using xylose as carbon source; B: In culture medium using glucose as carbon source.

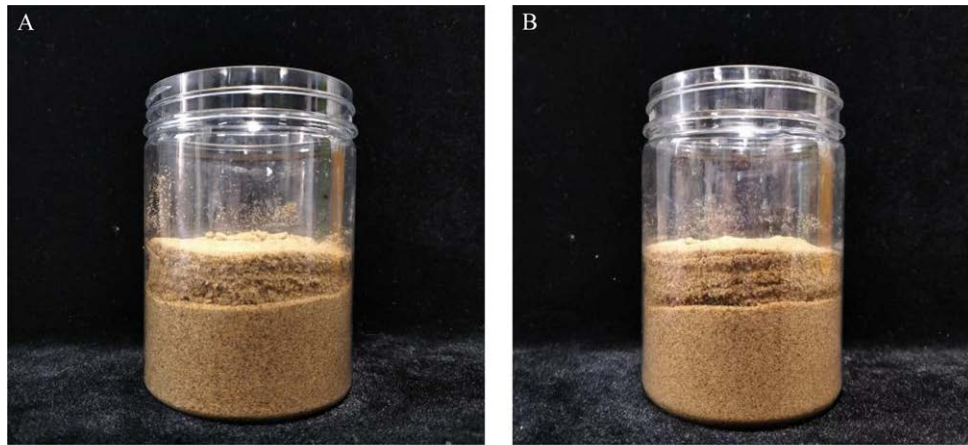


图 5 菌株 AMU7 在木糖合成培养基中培养发酵液的促进结皮效果 A: 空白对照组; B: 施加菌液 AMU7 实验组。

Figure 5 Effect of strain AMU7 on promoting crusting in fermentation broth in xylose synthetic media. A: Blank control group; B: AMU7 experimental group.

酵液中 AMU7 生物量虽呈上升趋势, 但结皮的承压差却呈明显下降趋势。36、60、96 h 发酵菌液所形成结皮的厚度都保持在 1.71 cm 以上, 洒菌 10 d 后结皮厚度整体偏高, 最厚为 2.25 cm。36 h 发酵液洒菌 10、20、30 d 后, 形成结皮的承压差保持稳定, 30 d 时差值最大, 达到 7.92 N。施加 60 h 发酵菌液第 30 天所形成的结皮承压差明显高于第 10 天和第 20 天, 承压差为 5.58 N。96 h 发酵菌液在 10、20、30 d 的结皮承压差有增加的趋势, 最大值为 2.25 N (图 6)。

如图 7 所示, 施加在葡萄糖合成培养基中处于对数生长期及稳定期的 AMU7 菌液, 实验组沙罐有稳定结皮形成, 同时空白对照组也会有一定厚度的结皮形成。相较于木糖碳源, 以葡萄糖为碳源的液体发酵液中 AMU7 生物量虽呈上升趋势, 但结皮的承压差却呈下降趋势 (图 8)。24、36、60 h 发酵菌液所形成结皮的厚度保持稳定, 均在 1.74 cm 以上。24 h 发酵菌液在 10 d 的结皮承压差最大, 达到 31.75 N; 20 d 和 30 d 的结皮承压差分别为 25.92 N 和 26.67 N。36 h 发酵菌液在 10、20 和 30 d 的结

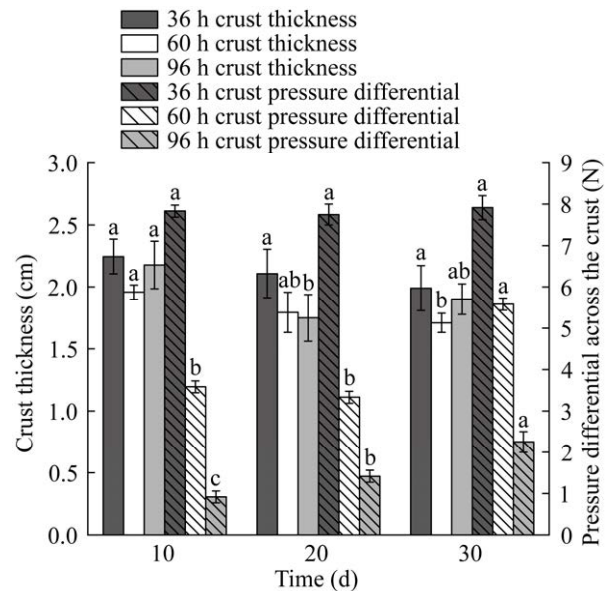


图 6 菌株 AMU7 在木糖合成培养基发酵菌液的固沙效果 不同小写字母表示同一发酵液在施加菌液后不同时间处理间显著差异($P < 0.05$)。

Figure 6 Sand fixation effect of strain AMU7 on xylose fermentation broth. Different lowercase letters indicate significant differences between treatments at different times after the application of bacterial liquid to the same fermentation broth ($P < 0.05$).

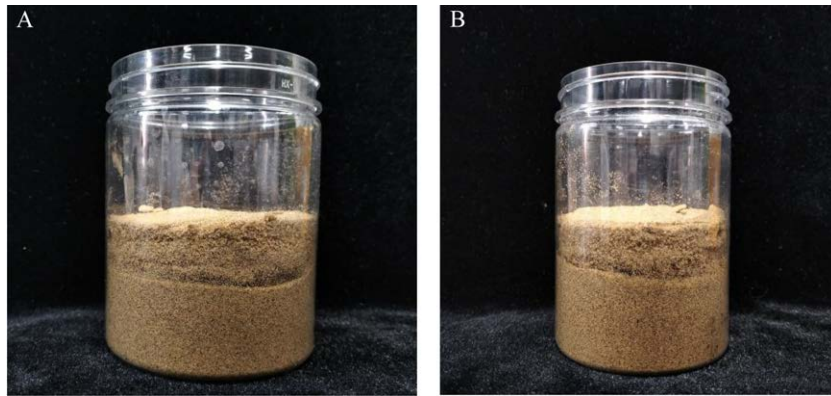


图 7 菌株 AMU7 在葡萄糖合成培养基中培养发酵液的促进结皮效果 A: 空白对照组; B: 施加菌液 AMU7 实验组。

Figure 7 Effect of strain AMU7 on promoting crusting in fermentation broth in glucose synthetic media. A: Blank control group; B: AMU7 experimental group.

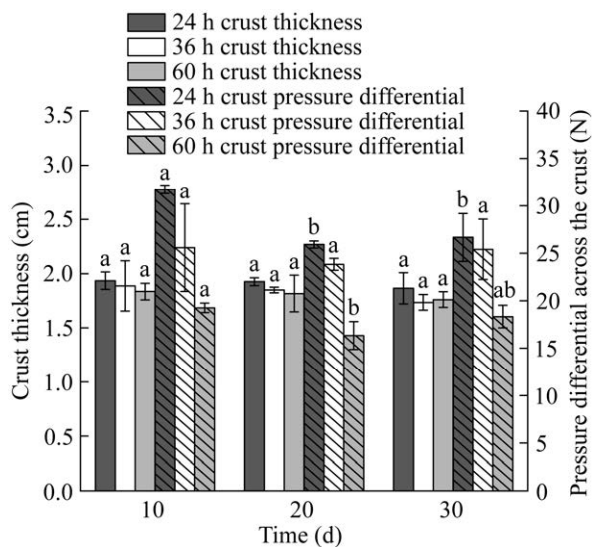


图 8 菌株 AMU7 在葡萄糖合成培养基发酵菌液的固沙效果

Figure 8 Sand fixation effect of strain AMU7 on glucose fermentation broth.

皮承压差保持稳定, 均在 23.83 N 以上。60 h 发酵菌液在 10、20 和 30 d 的结皮承压差也保持稳定, 均在 16.33 N 以上。

2.4 菌株 AMU7 在不同碳源生长条件下胞外多糖的分泌情况

用苯酚硫酸法测定多糖含量。对于以木糖

为碳源的 AMU7 发酵菌液, 直接过滤(0 r/min)样品中胞外多糖浓度为 42.45 $\mu\text{g/mL}$, 而离心过滤(8 000 r/min)样品中胞外多糖浓度为 9.85 $\mu\text{g/mL}$, 前者是后者的 4.31 倍(图 9)。此外, 直接过滤样品所形成结皮的承受压力和厚度分别为 7.00 N 和 2.03 cm, 离心过滤样品所形成结皮的承受压力和厚度分别为 4.08 N 和 1.96 cm。

对于以葡萄糖为碳源的 AMU7 发酵菌液, 直接过滤(0 r/min)样品中胞外多糖浓度为 67.27 $\mu\text{g/mL}$, 而离心过滤(8 000 r/min)样品中胞外多糖浓度为 15.23 $\mu\text{g/mL}$, 前者是后者的 4.42 倍(图 9)。此外, 直接过滤样品所形成结皮的承受压力和厚度分别为 19.33 N 和 2.31 cm, 离心过滤样品所形成结皮的承受压力和厚度分别为 8.33 N 和 2.19 cm。

3 讨论

生物土壤结皮是干旱环境中微生物与细小土壤颗粒形成的特殊集合体, 对于干旱地区的沙漠化防治至关重要^[41]。土壤发育过程中, 微生物分泌的 EPS 在土壤结构稳定化过程中发挥着关键作用^[3]。Colica 等^[42]通过在沙面接种产 EPS 的蓝藻混合培养物, 首次证明了 EPS 对促

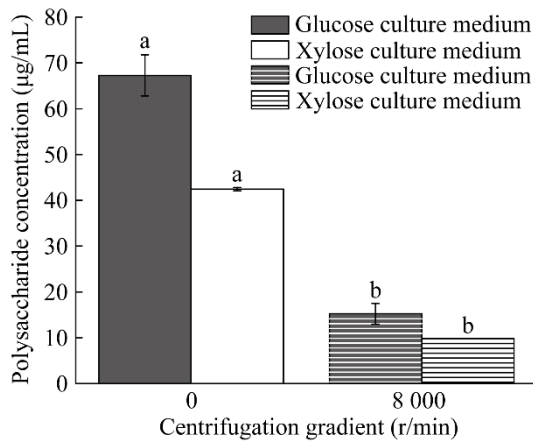


图9 菌株 AMU7 在不同离心和不同发酵碳源条件下过滤液中胞外多糖浓度。不同小写字母表示同一发酵液在不同处理间显著差异($P < 0.05$)。

Figure 9 Exopolysaccharide concentration in the filtrate of strain AMU7 under different centrifugation and fermentation carbon source conditions. Different lowercase letters indicate significant differences in the same fermentation broth between different treatments.

进生物土壤结皮形成的贡献。筛选具有促进结皮形成的固沙菌株,分泌黏多糖是筛选条件中最关键的指标。Sandhya 等^[43]发现从向日葵根际土中分离出的恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*) GAP-P45 在干旱、50 °C 高温和盐胁迫条件下的 EPS 生产量显著增加,鼠李糖是主要的多糖成分。Sadeghi 等^[44]通过在试验地土壤接种分离自本土的蓝藻和细菌表明它们分泌的多糖促进了土壤团聚体形成,形成的结皮有效减少了土壤流失。EPS 在沙粒团聚和沙丘稳定中起到了重要作用,但菌株的生存及 EPS 活性受土壤环境影响,在水分和养分有限的情况下,抗旱的寡营养型微生物对生物结皮的形成至关重要。

微生物诱导形成的土壤结皮能够有效控制土壤侵蚀,而结皮的厚度、硬度及孔隙度等都是评估土壤恢复和稳定性的重要指标。已有的研究中对微生物固沙效果的描述主要集中于结皮厚度

的测定,如 Pan 等^[4]制备固氮菌(*Azotobacter* sp.) SGB-5 寡营养型菌液在实验室进行沙接种,盘中沙表面形成约 0.6 cm 的结皮。Wu 等^[45]在野外流沙表面施加产 EPS 的类芽孢杆菌(*Paenibacillus* sp.) KLBB0001,一年后形成的结皮具有最佳性能,厚度约为 0.3 cm。经特基拉芽孢杆菌(*Bacillus tequilensis*) CGMCC 17603 发酵液喷洒处理的野外沙地菌液含量为 0.1 mL/cm²,6 个月后观察到的结皮厚度范围为(5.84±0.54) cm^[13]。结皮形成的厚度固然重要,但在固沙的实际应用中结皮硬度能很好地反映出土壤抗风蚀的潜力。更应该重点关注结皮的承压能力。类节杆菌 AMU7 的 24 h 发酵菌液形成结皮的承压值比葡萄糖合成培养基对照稳定高出 25 N 以上,极大地提高了结皮的抗压强度。Zhang 等^[46]报道称,被移除结皮的自然沙漠表面,一年后依靠细菌形成的初期结皮抗压强度为(13.42±1.38) Pa,4 年后主要被蓝藻占据的藻结皮抗压强度增加到(32.53±3.08) Pa。类节杆菌 AMU7 菌液在沙罐内促进形成的结皮强度均在 187 969.92 Pa 以上。通过对结皮承压差的测定,可以有效评估菌株的结皮效应。结皮厚度以及抗压力效果证明类节杆菌 AMU7 是有利沙漠形成结皮的优良菌种,在沙漠生态治理方面应用潜力巨大。

已有研究表明培养基组成尤其是碳源的改变不仅影响 EPS 生产者的生长速率,还可能改变其糖代谢途径、酶表达水平,导致 EPS 产量、组分等也不尽相同^[47]。本试验分别以葡萄糖和木糖作为唯一碳源,测得各时间段木糖合成培养基菌液中的生物量显著高于葡萄糖合成培养基。然而,以木糖作为碳源的胞外多糖的产量较使用葡萄糖为碳源时低,固沙效果也显著低于葡萄糖合成培养基菌液。与 López 等^[48]用木糖和葡萄糖为碳源培养节杆菌(*Arthrobacter*)所得结果有差异,他们观察到黏节杆菌(*Arthrobacter viscosus*) 在木

糖作为碳源条件下胞外多糖产量更高。AMU7 葡萄糖合成培养基 24 h 发酵液诱导形成的结皮承压差高达 25.92–31.75 N，厚度均在 1.74 cm 以上。类节杆菌 AMU7 在不同碳源发酵条件下固沙性能差异的分子机理值得深入研究。目前，关于固沙菌株在不同培养基中产生的固沙活性物质产量和组成存在差异的相关研究尚属空白。后续进一步研究可为微生物固沙提供高效活性物质和优良基因资源。

对类节杆菌 AMU7 而言，无论是在以木糖或者葡萄糖为碳源的发酵条件下，对数生长期发酵菌液所形成结皮的承压差均高于稳定生长期发酵菌液的值，说明类节杆菌 AMU7 的固沙活性物质并非在稳定生长期大量分泌的次级代谢物，而是在对数生长期菌体快速增殖、生长过程中形成的存在于细胞外围黏液层中的多糖成分，并且在对数生长期靠前的阶段，该固沙活性物质在黏液层中的含量更多。类节杆菌 AMU7 发酵菌液的固沙能力与生长状态密切相关。因此对发酵菌液采用 2 种不同的处理方式，以进行多糖含量的测定和分析，随后对获得的 2 种滤液进行多糖测定和固沙试验，以验证之前的分析。相较于胞外多糖化学提取法，过滤获得含有固沙活性物质的无细胞发酵液，能够尽可能避免在化学提取过程中对物质活性的影响，有助于后续固沙试验的进行。菌株 AMU7 在 2 种碳源培养基中，直接过滤样品中的胞外多糖浓度都显著高于离心过滤样品。印证了之前对类节杆菌 AMU7 的固沙活性物质是存在于细胞外围黏液层中多糖成分的推测。而且，以葡萄糖为发酵碳源的过滤样品的胞外多糖浓度和固沙效果，整体高于以木糖为发酵碳源的过滤样品。该结果与类节杆菌 AMU7 在不同碳源发酵条件下菌液的固沙效果相吻合。类节杆菌 AMU7 具有高效结皮固沙能力，其生物固沙机

理值得深入研究。

4 结论

本研究从毛乌素沙地苔藓结皮层中分离筛选出一株寡营养型类节杆菌 AMU7，可产生大量多糖成分存在于胞外黏液层，具有高效固沙能力，并且类节杆菌 AMU7 发酵液的固沙能力与生长状态密切相关。类节杆菌 AMU7 可以适应低营养条件下的沙漠环境，并在裸沙中生长繁殖和分泌多糖促进结皮形成增强土壤稳定性。本研究可为沙漠生态治理提供优良固沙菌种资源，并为生物结皮固沙等微生物固沙技术的推广和应用提供了参考依据。

REFERENCES

- [1] QI K, ZHU JJ, ZHENG X, WANG GG, LI MC. Impacts of the world's largest afforestation program (Three-North Afforestation Program) on desertification control in sandy land of China[J]. *GIScience & Remote Sensing*, 2023, 60(1): 2167574.
- [2] 笄国盛, 王翠萍, 李锋, 刘政, 孙涛. 第六次全国荒漠化和沙化调查主要结果及分析[J]. *林业资源管理*, 2023(1): 1-7.
ZAN GS, WANG CP, LI F, LIU Z, SUN T. Key data results and trend analysis of the sixth national survey on desertification and sandification[J]. *Forest Resources Management*, 2023(1): 1-7 (in Chinese).
- [3] QIAN L, YE XW, XIAO JS, LIN SM, WANG HY, LIU Z, MA YF, YANG L, ZHANG ZL, WU L. Nitrogen concentration acting as an environmental signal regulates cyanobacterial EPS excretion[J]. *Chemosphere*, 2022, 291: 132878.
- [4] PAN HX, CHENG ZM, ZHANG XM, MU SY, QI XL, WANG F. A study on an oligotrophic bacteria and its ecological characteristics in an arid desert area[J]. *Science in China Series D: Earth Sciences*, 2007, 50(1): 128-134.
- [5] WANG Y, SUN XH, MIAO LC, WANG HX, WU LY, SHI WB, KAWASAKI S. State-of-the-art review of soil erosion control by MICP and EICP techniques: Problems, applications, and prospects[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 912: 169016.
- [6] GAO Y, YAO D, WANG CY, WANG YX, LI C. *Staphylococcus* derived from desert and its solidified ability on aeolian sandy soil[J]. *Advances in Civil Engineering*, 2020, 2020(1): 8877039.
- [7] ALI ZOMORODIAN SM, GHAFARI H, O'KELLY BC. Stabilisation of crustal sand layer using biocementation technique for wind erosion control[J]. *Aeolian Research*, 2019, 40: 34-41.
- [8] 任廷婕, 袁立敏, 高永, 王春颖, 徐艳艳. 环保型固

- 沙材料的研究进展[J]. 中国沙漠, 2023, 43(3): 160-168.
- REN TJ, YUAN LM, GAO Y, WANG CY, XU YY. Research progress of environmental friendly sand fixation materials[J]. Journal of Desert Research, 2023, 43(3): 160-168 (in Chinese).
- [9] RODRIGUEZ-CABALLERO E, BELNAP J, BÜDEL B, CRUTZEN PJ, ANDREA MO, PÖSCHL U, WEBER B. Dryland photoautotrophic soil surface communities endangered by global change[J]. Nature Geoscience, 2018, 11(3): 185-189.
- [10] SIX J, BOSSUYT H, DEGRYZE S, DENEK K. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics[J]. Soil and Tillage Research, 2004, 79(1): 7-31.
- [11] ZHAO YG, BOWKER MA, ZHANG YM, ZAADY E. Enhanced recovery of biological soil crusts after disturbance[M]//Biological Soil Crusts: An Organizing Principle in Drylands. Cham: Springer International Publishing, 2016: 499-523.
- [12] XU WW, ZHAO YQ, LIAN YC, ZHAO Y, ZHANG ZS. Co-development of biocrust and herbaceous plant communities in sandy areas after cyanobacterial inoculation[J]. Plant and Soil, 2024. <https://doi.org/10.1007/s11104-024-06794-5>.
- [13] ZHAO LN, LI XR, WANG ZR, QI JH, ZHANG WL, WANG YS, LIU YB. A new strain of *Bacillus tequilensis* CGMCC 17603 isolated from biological soil crusts: a promising sand-fixation agent for desertification control[J]. Sustainability, 2019, 11(22): 6501.
- [14] CHENG L, YUE YP, ZHOU H, FEI BQ, XIU XM, SUN YT, ZHANG LG, WU B, LI YS, ZHAO XB, YANG XB, JIA XH. Biological soil crusts enhance the role of non-rainfall water in the water input in alpine sandy land ecosystems[J]. Journal of Hydrology, 2022, 610: 127966.
- [15] ROSSI F, MUGNAI G, de PHILIPPIS R. Complex role of the polymeric matrix in biological soil crusts[J]. Plant and Soil, 2018, 429(1): 19-34.
- [16] MUGNAI G, ROSSI F, Vincent John Martin Noah Linus Felde, COLESIE C, BÜDEL B, PETH S, KAPLAN A, de PHILIPPIS R. Development of the polysaccharidic matrix in biocrusts induced by a *Cyanobacterium* inoculated in sand microcosms[J]. Biology and Fertility of Soils, 2018, 54(1): 27-40.
- [17] CANIA B, VESTERGAARD G, SUHADOLC M, MIHELIĆ R, KRAUSS M, FLIESSBACH A, MÄDER P, SZUMELDA A, SCHLOTTER M, SCHULZ S. Site-specific conditions change the response of bacterial producers of soil structure-stabilizing agents such as exopolysaccharides and lipopolysaccharides to tillage intensity[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 568.
- [18] HSU CM, HUANG YH, NIMJE VR, LEE WC, CHEN HJ, KUO YH, HUANG CH, CHEN CC, CHEN CY. Comparative study on the sand bioconsolidation through calcium carbonate precipitation by *Sporosarcina pasteurii* and *Bacillus subtilis*[J]. Crystals, 2018, 8(5): 189.
- [19] SUELA SILVA M, NAVES SALES A, TEIXEIRA MAGALHÃES-GUEDES K, RIBEIRO DIAS D, SCHWAN RF. Brazilian Cerrado soil *Actinobacteria* ecology[J]. BioMed Research International, 2013, 2013: 503805.
- [20] 郑婕, 吴昊, 乔建军, 朱宏吉. 革兰氏阳性菌荚膜多糖研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2021, 41(7): 91-98.
- ZHENG J, WU H, QIAO JJ, ZHU HJ. Research progress of capsular polysaccharides in gram-positive bacteria[J]. China Biotechnology, 2021, 41(7): 91-98 (in Chinese).
- [21] MARTIN JP, ALDRICH DG. Influence of soil exchangeable cation ratios on the aggregating effects of natural and synthetic soil conditioners[J]. Soil Science Society of America Journal, 1955, 19(1): 50-54.
- [22] CHENG C, SHANG-GUAN WL, HE LY, SHENG XF. Effect of exopolysaccharide-producing bacteria on water-stable macro-aggregate formation in soil[J]. Geomicrobiology Journal, 2020, 37(8): 738-745.
- [23] 艾雪, 陈周杰, 窦筱艳, 杨永顺. 沙漠土壤结皮中寡营养细菌及其在固沙中的应用研究进展[J]. 环境工程, 2019, 37(S1): 295-300.
- AI X, CHEN ZJ, DOU XY, YANG YS. Advances in oligotrophic bacteria of desert soil crusts and its applications in sand stabilizing[J]. Environmental Engineering, 2019, 37(S1): 295-300 (in Chinese).
- [24] REDDY GN, GARCIA-PICHEL F. *Sphingomonas mucosissima* sp. nov. and *Sphingomonas desiccabilis* sp. nov., from biological soil crusts in the Colorado Plateau, USA[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2007, 57(Pt 5): 1028-1034.
- [25] 周明明, 任梦楠, 李晓雁, 沈洋, 黄海东. 三赞鞘氨醇单胞菌生物结皮对土壤水肥保持的影响[J]. 北方园艺, 2016(20): 171-174.
- ZHOU MM, REN MN, LI XY, SHEN Y, HUANG HD. Effect of *Sphingomonas sanxanigenens* biological soil crusts on soil moisture and nutrient holding capacity[J]. Northern Horticulture, 2016(20): 171-174 (in Chinese).
- [26] 王正荣, 生吉萍, 田小磊, 武婷婷, 刘万振, 程凡升, 矫玉翠, 申琳. 沙漠生物结皮高产胞外多糖菌株的筛选与鉴定[J]. 食品科学, 2011, 32(21): 207-209.
- WANG ZR, SHENG JP, TIAN XL, WU TT, LIU WZ, CHENG FS, JIAO YC, SHEN L. Isolation and identification of a high exopolysaccharide-producing strain from biological soil crusts on sand dunes[J]. Food Science, 2011, 32(21): 207-209 (in Chinese).
- [27] 邓振山, 赵佳福, 雷超, 李军, 韦革宏. 一株葡萄孢属(*Botrytis*)真菌结皮效果的研究[J]. 干旱地区农业研究, 2012, 30(5): 200-204.
- DENG ZS, ZHAO JF, LEI C, LI J, WEI GH. A fungus strain of *Botrytis* and its crust effect[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2012, 30(5): 200-204 (in Chinese).
- [28] 任梦楠, 金玉, 李晓雁, 李思琪, 王艳梅, 黄海东. 荒漠化土壤中菌株 ZMN-3 的分离鉴定及其保水效果[J]. 北方园艺, 2018(8): 23-28.
- REN MN, JIN Y, LI XY, LI SQ, WANG YM, HUANG HD. Isolation, identification and water-retaining effect of ZMN-3 from desertified soil[J]. Northern Horticulture, 2018(8): 23-28 (in Chinese).
- [29] 艾雪, 王艺霖, 张威, 李师翁. 柴达木沙漠结皮中耐盐碱细菌的分离及其固沙作用研究[J]. 干旱区资源与环境, 2015, 29(10): 145-151.
- AI X, WANG YL, ZHANG W, LI SW. Screening of halotolerant and alkali-tolerant bacteria from the desert

- crust in the Qaidam and their effects of sand aggregation[J]. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2015, 29(10): 145-151 (in Chinese).
- [30] SREE S. A study on isolation and identification of exopolysaccharide (EPS) producing bacteria from soil[J]. *International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology*, 2021, 9(12): 650-671.
- [31] AKITA H, ITOIRI Y, TAKEDA N, MATSUSHIKA A, KIMURA ZI. *Paenibacillus glycanilyticus* subsp. *hiroshimensis* subsp. nov., isolated from leaf soil collected in Japan[J]. *Archives of Microbiology*, 2021, 203(4): 1787-1793.
- [32] 邱东, 程争鸣, 张元明, 吴楠, 牟书勇, 齐晓玲, 潘惠霞. 寡营养细菌对古尔班通古特沙漠土壤环境的影响[J]. *干旱区研究*, 2012, 29(1): 148-154.
- QIU D, CHENG ZM, ZHANG YM, WU N, MOU SY, QI XL, PAN HX. Effect of oligotrophic bacteria on soil environment in the Gurbantunggut Desert, Xinjiang, China[J]. *Arid Zone Research*, 2012, 29(1): 148-154 (in Chinese).
- [33] ISICHEI AO. The role of algae and cyanobacteria in arid lands: a review[J]. *Arid Soil Research and Rehabilitation*, 1990, 4(1): 1-17.
- [34] 魏浩卓. 类节杆菌 OM7 的固沙特性及代谢组和全基因组分析[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学硕士学位论文, 2023.
- WEI HZ. Sand-fixing characteristics and metabonomic and genome-wide analysis of *Paenarthrobacter* sp. OM7[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia University, 2023 (in Chinese).
- [35] SONG J, JIA YX, SU Y, ZHANG XY, TU LN, NIE ZQ, ZHENG Y, WANG M. Initial analysis on the characteristics and synthesis of exopolysaccharides from *Sclerotium rolfsii* with different sugars as carbon sources[J]. *Polymers*, 2020, 12(2): 348.
- [36] 张雨虹, 张韶阳, 张树辉, 柳宇鑫, 赵吉, 李静泉. 毛乌素沙地苔藓结皮对沙化土壤性质和细菌群落的影响[J]. *土壤学报*, 2021, 58(6): 1585-1597.
- ZHANG YH, ZHANG SY, ZHANG SH, LIU YX, ZHAO J, LI JQ. Effect of moss crust on sandy soil properties and bacterial community in mu us sandy land[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58(6): 1585-1597 (in Chinese).
- [37] 魏浩卓, 马佳星, 刘傲, 李静泉. 寡营养型类节杆菌 OM7 的分离鉴定及固沙特性[J]. *内蒙古大学学报(自然科学版)*, 2023, 54(3): 293-300.
- WEI HZ, MA JX, LIU A, LI JQ. Isolation, identification and sand-fixing characteristics of oligotrophic *Paenarthrobacter* sp. OM7[J]. *Journal of Inner Mongolia University (Natural Science Edition)*, 2023, 54(3): 293-300 (in Chinese).
- [38] HAMAKI T, SUZUKI M, FUDOU R, JOJIMA Y, KAJIURA T, TABUCHI A, SEN K, SHIBAI H. Isolation of novel bacteria and actinomycetes using soil-extract agar medium[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005, 99(5): 485-492.
- [39] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- DONG XZ, CAI MY. Handbook of Identification of Common Bacterial Systems[M]. Beijing: Science Press, 2001 (in Chinese).
- [40] CHENG X, HUANG L, LI KT. Antioxidant activity changes of exopolysaccharides with different carbon sources from *Lactobacillus plantarum* LPC-1 and its metabolomic analysis[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2019, 35(5): 68.
- [41] XU L, ZHU BJ, LI CN, YAO MJ, ZHANG BC, LI XZ. Development of biological soil crust prompts convergent succession of prokaryotic communities[J]. *Catena*, 2020, 187: 104360.
- [42] COLICA G, LI H, ROSSI F, LI DH, LIU YD, de PHILIPPIS R. Microbial secreted exopolysaccharides affect the hydrological behavior of induced biological soil crusts in desert sandy soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 68: 62-70.
- [43] SANDHYA V, ALI SZ. The production of exopolysaccharide by *Pseudomonas putida* GAP-P45 under various abiotic stress conditions and its role in soil aggregation[J]. *Microbiology*, 2015, 84(4): 512-519.
- [44] SADEGHI SH, NAJAFINEJAD A, GHAREMAHMUDLI S, ZAREI DARKI B, MOHAMMADIAN BEHBAHANI A, KHEIRFAM H. Reduction in soil loss caused by a freeze-thaw cycle through inoculation of endemic soil microorganisms[J]. *Applied Soil Ecology*, 2021, 157: 103770.
- [45] WU N, PAN HX, QIU D, ZHANG YM. Feasibility of EPS-producing bacterial inoculation to speed up the sand aggregation in the Gurbantunggut Desert, Northwestern China[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2014, 54(12): 1378-1386.
- [46] ZHANG YM. The microstructure and formation of biological soil crusts in their early developmental stage[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2005, 50(2): 117-121.
- [47] van den BERG D, ROBIJN GW, JANSSEN AC, GIUSEPPIN M, VREEKER R, KAMERLING JP, VLIEGENTHART J, LEDEBOER AM, VERRIPS CT. Production of a novel extracellular polysaccharide by *Lactobacillus sake* 0-1 and characterization of the polysaccharide[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61(8): 2840-2844.
- [48] LÓPEZ E, RAMOS I, SANROMÁN MA. Extracellular polysaccharides production by *Arthrobacter viscosus*[J]. *Journal of Food Engineering*, 2003, 60(4): 463-467.