

# 外源纤维素诱导明显影响微生物土壤结皮 细菌群落结构

赵吉睿 李晓军 孟建宇 李蘅 王瑞刚 冯福应\*

(内蒙古农业大学 生命科学学院 应用与环境微生物研究所 内蒙古 呼和浩特 010018)

**摘要:** 【目的】微生物土壤结皮(Microbial soil crusts, MSCs)对于遏制土壤荒漠化、恢复荒漠地区生态环境起着重要作用。MSCs 中的微生物,特别是纤维素降解菌,起着稳固、修复生态环境的功能。外源纤维素诱导是全面认识 MSCs 中纤维素降解细菌的多样性及其在 MSCs 形成和发展中的作用的重要途径。【方法】通过对微生物土壤结皮分别添加小麦秸秆(麦秸)、锯末木屑两类纤维素材料进行诱导,以 PCR-DGGE 方法分析细菌群落变化。【结果】外源纤维素,特别是麦秸的添加会迅速提高 MSCs 中细菌丰富度及多样性,将细菌丰富度提高约 66.7%, Shannon-Weiner 指数提高约 15.8%; 相同处理的样品聚类位置较近,说明纤维素对于 MSCs 细菌菌群变化起主导作用; 细菌群落结构组成在添加纤维素诱导后发生了变化,麦秸诱导样品与同时期对照样品差异最大,但各样品中 Firmicutes 和 Alphaproteobacteria 始终为优势类群; 所得 DGGE 条带序列中有 13 条与纤维素降解菌序列同源性相近,他们所代表的细菌很可能具有纤维素降解能力,其中厌氧性的梭菌属(*Clostridium*)所占比例最大,约为 46.1%, 其次为芽孢杆菌属(*Bacillus*), 约占 30%; 纤维素降解过程中,诱导增加了 MSCs 发育有重要作用的一些类群如 *Microcoleus vaginatus* 和一些 Alphaproteobacteria 类群细菌等的丰度和多样性,它们中有的可通过分泌多糖物质等增强土壤颗粒黏结、有的可以其固碳或固氮等能力提高土壤营养水平。【结论】为认识外源纤维素诱导 MSCs 细菌群落结构的变化规律, MSCs 中纤维素降解细菌的多样性及纤维素降解细菌对 MSCs 形成和发展的作用提供了基础,同时也为恢复荒漠生态系统实践方法提供了理论依据。

**关键词:** 纤维素降解细菌, 多样性, PCR-DGGE, 小麦秸秆, 木屑

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 30860015); 内蒙古自治区自然科学基金项目(No. 2010BS0506); 内蒙古自治区高等学校科学研究项目(No. NJ10054); 内蒙古农业大学创新团队项目(No. NDPYTD2010-3)

\*通讯作者: Tel: 86-471-4309240; 信箱: forefeng@hotmail.com

收稿日期: 2012-12-31; 接受日期: 2013-03-04

# Induction effect of exogenous cellulose on bacterial community of microbial soil crust

ZHAO Ji-Rui LI Xiao-Jun MENG Jian-Yu LI Heng

WANG Rui-Gang FENG Fu-Ying\*

(Institute for Applied & Environmental Microbiology, College of Life Sciences,  
Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot, Inner Mongolia 010018, China)

**Abstract:** [Objective] Microbial soil crusts (MSCs) play an important role in the restoration of the ecological environment and the containment of soil desertification. The microbes in MSCs, especially the cellulose degrading bacteria (CDB), can stabilize and repair the related ecological environment. The induction of exogenous cellulose is a major pathway for the full acknowledgment in the CDB's diversity and their contribution to MSCs' development. [Methods] Two cellulose materials (crushed wheat straw and sawdust) were added into MSCs separately, to determine the variation of the bacterial community induced by the exogenous cellulose based on PCR-DGGE. [Results] The exogenous cellulose especially wheat straw, rapidly increased the diversity and richness of bacterial community by approximately 66.7% and 15.8%, respectively. Samples subjected to the same treatment well grouped in together in cluster analysis based on DGGE bands profiles, suggesting that cellulose has a crucial effect on the bacterial community. The exogenous cellulose induced a remarkable variation of the structure of the bacterial community, of which the most variable was caused by wheat straw. Firmicutes and Alphaproteobacteria groups were always the predominant group in all samples. Among the obtained sequences, 13 bands were closely and phylogenetically related to CDB and therefore they may be sourced from CDB. The anaerobic *Clostridium* group predominated these possible CDB (accounted for 46.1%), followed by *Bacillus* (30%). The exogenous cellulose degradation also induced the increase of the abundance or richness of some specific bacteria, like *Microcoleus vaginatus* and some Alphaproteobacteria groups, which had a significant function in MSCs development with the abilities in secreting polysaccharides to enhance the cohesion of soil particles or fixing carbon and/or nitrogen to improve the soil nutrition level. [Conclusion] Results provided a basis for the appreciation of the CDB diversity and the variation of the bacterial community structure induced by exogenous cellulose, and meanwhile lent theory evidence for the practical pathway in desert ecosystem restoration.

**Keywords:** Cellulose-degrading microbe, Diversity, PCR-DGGE, Wheat straw, Wood chips

纤维素多以木质纤维素的形式存在, 该类物质较容易被微生物降解为单糖, 作为碳源参

与土壤的碳循环。植物秸秆主要成分为木质纤维素, 而木屑与秸秆组成类似, 但木屑的木质

素含量稍高、更加稳定<sup>[1]</sup>。研究表明秸秆还田具有提高土壤有机质含量, 改善土壤理化性质等功能<sup>[2]</sup>。

土壤荒漠化是指干旱、半干旱地区的土地退化现象, 已成为当今全球极为关注的环境问题。荒漠土壤中的生物多样性较低, 但却广泛分布着生物结皮, 在部分地区微生物土壤结皮 (Microbial soil crusts, MSCs) 覆盖度可达近 70%, 是荒漠土壤生态系统恢复的关键初始过程<sup>[2]</sup>。MSCs 是由土壤颗粒与土壤微生物、地衣等及其它低等植物互做形成的复合土层, 能够遏制土壤的荒漠化, 并为荒漠地区的生态恢复提供良好的基础环境, 现在已逐渐成为土壤生态研究的热点<sup>[3]</sup>。土壤微生物(包括真菌、细菌和放线菌)在 MSCs 的发育过程中起着重要作用。MSCs 中细菌的多样性及数量均占据优势。而纤维素降解细菌(CDB)是土壤微生物中的主要类群之一, 他们能够分泌纤维素酶、降解纤维素成为单糖加以利用, 是一般土壤中 C 源的主要来源之一<sup>[4]</sup>。CDB 是 MSCs 形成的最主要先驱微生物类群之一<sup>[5]</sup>。

但是, 可能主要由 CDB 介导的纤维素降解对 MSCs 中细菌群落结构的影响, 及 CDB 在 MSCs 形成和发展中的作用等尚不清楚。通过分析外源纤维素诱导对 MSCs 细菌群落结构的影响, 可促进认识 CDB 的生物多样性及其在 MSCs 形成和发展中的贡献与作用, 并在荒漠生态环境恢复的实践中加以利用。为此, 本研究采集了浑善达克沙地的 MSCs, 对其分别添加小麦秸秆、木屑两类纤维素诱导, 应用 PCR-DGGE 方法以揭示纤维素降解诱导 MSCs 中细菌群落组成和多样性动态变化, 为明确微生物土壤结皮中纤维素降解细菌多样性, 了解纤维素降解菌对于荒漠生态系统稳定改善机制, 及菌种资源开发奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集与处理

样品于 2011 年 4 月采集于内蒙古浑善达克沙地, 从多处(不同植被下、不同地点)分别采集微生物土壤结皮(0–6 mm)和周围数十米之内的裸沙土(0–10 cm)各 50 份样品, 之后分别混合均匀。所采集结皮呈褐色、无明显的苔藓类植物生长, 应为典型的微生物土壤结皮。小麦秸秆(麦秸)采集于呼和浩特市郊区, 锯末木屑采集于呼和浩特锯木厂。分别将麦秸与锯末木屑粉碎、过 20 目筛, 获得颗粒约 5 mm, 之后用 0.5% 盐酸浸泡过夜后, 用蒸馏水冲洗 5 遍, 高温高压灭菌并烘干后备用。将采集的土壤结皮与灭菌烘干后的沙土按照 150:17 的比例混合均匀, 分成 3 份, 一份作为对照, 另两份分别加入处理后的麦秸及木屑, 分装于小杯内(每小杯含结皮 17 g, 沙土 150 g, 纤维素材料 3.5 g), 各设 20 个重复; 于 28 °C 光照培养, 每周浇灭菌后的蒸馏水, 使之含水量保持在 60%, 分别于 10、30、60、100 d 取样, 不同处理每次取样各取在培养箱中放置位置不同的 5 个重复、混合均匀。样品编号如下: 对照组(D0, D10, D30, D60, D100), 加麦秸组(J10, J30, J60, J100), 加锯末木屑组(M10, M30, M60, M100), 编号中的数字代表相应取样时的培养天数。

### 1.2 基因组 DNA 的提取和 16S rRNA 的 PCR 扩增

土壤基因组 DNA 的提取参照 Miller 等所述方法进行<sup>[6]</sup>。PCR 扩增 16S rDNA: 引物为 341F-GC (5'-CGCCCGCCGCGCGCGGGC GGGCGGGGCACGGGGGCTACGGGAG GCAGCAG-3')和 907R (5'-ATTACCGCGGCTG CTGG-3')<sup>[7]</sup>, 模板为上述土壤基因组; PCR 反应条件为: 94 °C 5 min; 94 °C 1 min, 65 °C 1 min (每个循环降 0.5 °C), 72 °C 1min, 20 个循环; 94 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 1 min, 10 个循环; 72 °C

10 min。

### 1.3 DGGE 电泳及条带的序列分析

为反映样品群落结构变化,利用基因突变检测仪(Dcode, Bio-Rad, US)对 1.2 中的 PCR 产物进行 DGGE 电泳。所用 PAGE (聚丙烯酰胺)胶浓度为 6% (W/V),变性梯度为 45%–60%。DGGE 程序按文献[7–8]进行。电泳完毕后,将胶于含有 0.2%的硝酸银染色液中染色,将染色后的凝胶用凝胶影像分析系统分析。

用灭菌刀片切割 DGGE 凝胶中的 DNA 条带,将切下的条带分别放入 EP 管中,以灭菌去离子水反复冲洗 3 次,捣碎胶块并加入灭菌去离子水,之后置于 4 °C 过夜、浸提条带中的 DNA<sup>[7]</sup>。然后,将上清液作为模板,用不含 GC 夹的引物 341F 和 907R,按照原扩增程序及体系进行扩增。纯化 PCR 产物并连入 pEASY-T1 载体后,转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态细胞。以菌落 PCR 的方法鉴定阳性克隆。将阳性克隆送北京华大生物技术有限公司(BGI)进行测序。序列已全部提交 GenBank 注册,登录号为 KC245107–KC245134。

将测序所得序列去除载体序列并进行嵌合体排除后,最后获得的有效序列在 NCBI 上进行 BLASTn 比对,选择其中同源性最高的序列为参比菌株,并用 MEGA 5.1 软件,基于 Kimura-2 参数模型计算进化距离,用邻接法(Neighbor-Joining method)构建系统进化树<sup>[9]</sup>。

### 1.4 细菌群落多样性的统计学分析

运用 Quantity One 软件(Bio-Rad, US)对 DGGE 指纹图谱进行分析。依次进行泳道和条带识别,配对后可得出不同泳道间的对比分析结果,并运用 UPGMA (Unweighted pair-group method using arithmetic averages)法进行相似性聚类分析,同时输出各条带位置及光密度值。将各条带光密度值进行标准化处理后,用于计算丰富度(Species richness),物种均匀度(Species evenness)

及多样性指数(Shannon-Weiner index)。

Shannon-wiener's index ( $H'$ ), 丰富度( $S$ )和均匀度( $E_H$ )用于比较各个样品的细菌多样性<sup>[9]</sup>。计算公式如下:

$$H' = -\sum_{i=1}^S P_i \ln P_i$$

$$E_H = H'/H_{\max} = H'/\ln S$$

其中  $P_i$  是某个样品中单一条带的强度在该样品的所有条带总强度中所占比例,  $S$  是某个样品中所有条带数目总和。

## 2 结果与分析

### 2.1 DGGE 图谱和群落多样性指数分析

以含 GC 夹子的引物扩增,所得细菌 16S rDNA 片段长度约为 550 bp,对此产物进行 DGGE 电泳。电泳图谱结果(图 1)显示,13 个样品中共有 43 条不同位置的电泳条带(各样品丰富度见表 1)。空白处理 0、10 及 30 d 样品的丰富度最低,为 21–22。加麦秸处理 100 d 的样品丰富度最高,为 35。空白对照样品在 0–60 d 的处理阶段,丰富度由 22 提升至 29。加锯末木屑样品在 10 d 时丰富度已达到 28,之后随时间延长条带数也逐渐增多,但总体提升比例不大;麦秸诱导样品在 10 d 时丰富度为 33,高于木屑诱导及空白对照所有时期的样品丰富度。相同时期不同处理样品细菌丰度相比:麦秸>锯末>对照。外源纤维素诱导下的提高程度要高于未诱导的,特别是经麦秸诱导、培养 100 d 后,丰富度提升了 66.7%、幅度为最大。

细菌多样性指数( $H'$ )、丰度( $S$ )和均匀度( $E_H$ )等进行了分析结果(表 1)表明,各处理之间的均匀度指数差别并不显著、外源纤维素诱导下的只略有增加;丰富度均随着处理时间的延长而升高,对照在 60 d 时达到最高,其余是在 100 d 时最高;Shannon-Weiner 指数与丰富度指数变化趋势类似:对照在 60 d 时达到最高的 3.36,至 100 d 时

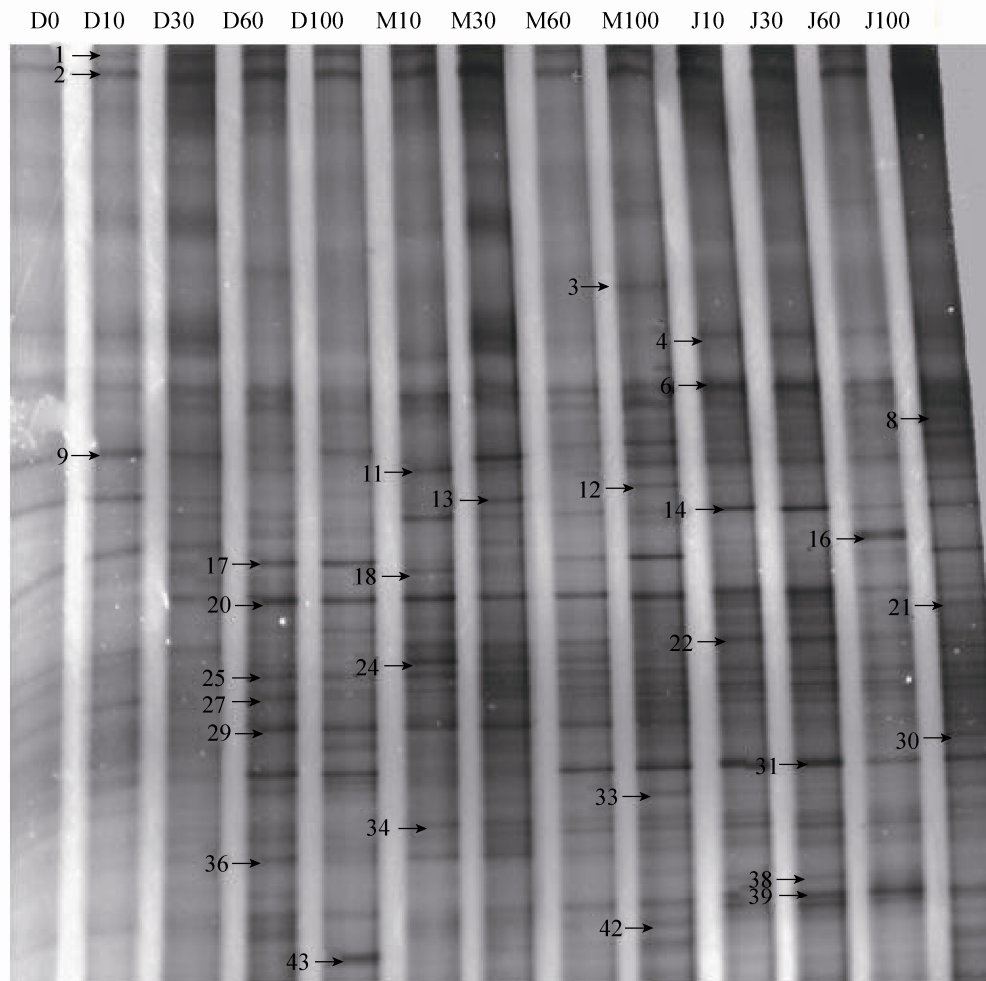


图 1 细菌 16S rDNA 的 DGGE 分析图谱

Fig. 1 DGGE profile of the bacterial 16S rDNA

Note: Some weak bands (band 3, 5, 7, 10, 19, 23, 26, 28, 32, 35, 37, 40, 41) couldn't sequence successfully, other bands were all sequenced.

稍有下降; 加木屑组样品和加麦秸组样品多样性指数随处理时间均呈现递增, 最大值分别为 3.46 和 3.55, 纤维素诱导最多将细菌群落多样性指数提升了 15.8%。

## 2.2 微生物土壤结皮样品菌群相似性分析

基于群落相似性系数的聚类树分析结果(图 2)表明, 13 个样品可分为两大类群: D0、D10 和 D30 聚为一大簇, 其他样品聚为另一大簇。两大簇之间的相似性为 59%。在较多样品的类群中, D60 与 D100 和其他样品分开聚为一簇, 相似性

为 67%; M10 与 M30 聚为一簇, 相似性为 69%; 而 J60、M100、J100、M60、J10 和 J30 归为一簇, 聚类位置较为相近。总之, 经纤维素诱导后的样品与对照样品在聚类位置上相距较远, 而同种处理的聚类位置相近。

## 2.3 条带序列同源性和系统发育分析

测序共得到 29 条条带序列(表 2), 与 GenBank 中已存序列相似性为 90%–100%。其中, 与纯培养种同源性最近的有 21 条, Band 1、2、34 和 42 与 *Bacteroides cellulosilyticus*、*Clostridium*

表 1 微生物土壤结皮样品细菌菌群丰富度、多样性及均匀度分析

Table 1 Richness ( $S$ ), Shannon-Weiner index ( $H'$ ) and Evenness ( $E_H$ ) of each sample estimated from soil crusts by DGGE bands patterns

样品 Samples	丰富度 Richness ( $S$ )	香农指数 Shannon-Weiner index ( $H'$ )	均匀度指数 Evenness ( $E_H$ )
D0	22	3.063	0.991
D10	21	3.030	0.995
D30	21	3.037	0.997
D60	29	3.360	0.998
D100	27	3.287	0.997
M10	28	3.322	0.997
M30	28	3.324	0.998
M60	29	3.359	0.998
M100	32	3.459	0.998
J10	33	3.482	0.996
J30	34	3.518	0.998
J60	34	3.516	0.997
J100	35	3.548	0.998

*populeti*、*Bacillus subtilis* 和 *Clostridium* sp. AN-AS6C 的一致性分别为 90%、98%、95%和 93%，其余的与来自 9 种类群的相应序列一致性  $\geq 99\%$ ；另外的 9 条带(Band 8、20、21、22、25、33、36、39、43)均为环境中的不可培养细菌，都来自于土壤环境中。16S rDNA 系统发育进化

分析结果(图 3)表明这些序列来自于 6 个门，即 Acidobacteria、Cyanobacteria、Chloroflexi、Firmicutes、Bacteroidetes 和 Proteobacteria。Proteobacteria 下的只发现了 Alphaproteobacteria、Betaproteobacteria、Gammaproteobacteria 三个纲。

## 2.4 群落结构组成的动态变化分析

细菌群落比较分析结果(图 4)表明，各处理下的细菌菌群结构存在差异、但并不显著，他们的优势类群均为 Firmicutes 和 Alphaproteobacteria。其它类群如  $\beta$ -蛋白菌纲(Betaproteobacteria)，拟杆菌门(Bacteroidetes)和蓝细菌(Cyanobacteria)在各样品中均有出现，但所占比例在个别处理之间差异较大。

## 3 讨论

### 3.1 纤维素诱导后微生物土壤结皮中细菌群落多样性指数的影响

温度和湿度是影响一般土壤微生物群落结构的重要因素<sup>[10]</sup>，也可能极大地影响着 MSCs 细菌群落组成。本研究中加外源纤维素诱导和未诱导的空白对照在室内较高培养温度和湿度条件下，细菌群落丰富度和多数细菌的丰度随着培

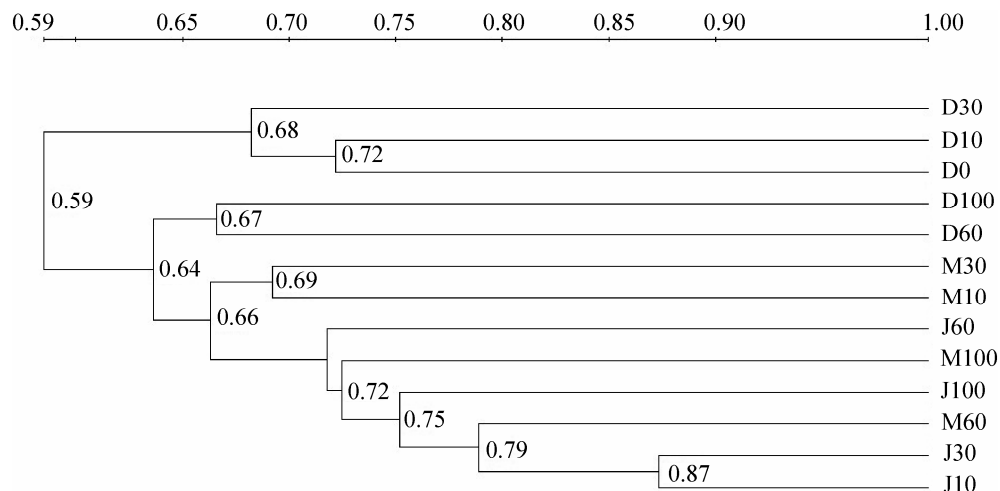


图 2 细菌群落结构相似性分析

Fig. 2 Cluster analysis of bacterial community structure similarity

表 2 DGGE 条带序列同源性

Table 2 Similarities of DGGE band sequences with those deposited in GenBank

条带 Bands	GenBank 登录号 GenBank accession No.	最相似序列(GenBank 登录号) Most-similar sequence (GenBank accession No.)	序列相似性 Similarity (%)
Band 1	KC245105	<i>Bacteroides cellulosilyticus</i> (AB510698)	90
Band 2	KC245106	<i>Clostridium populeti</i> (NR026103)	98
Band 4	KC245108	<i>Clostridium acetobutylicum</i> NCIMB8052 (U16165)	99
Band 6	KC245109	<i>Clostridium</i> sp. BL-26 (DQ196630)	99
Band 8	KC245110	Uncultured bacterium clone sbrh 178 (FJ175133)	99
Band 9	KC245111	<i>Sporolactobacillus nakayamae</i> subsp. Racemicus (AB374519)	99
Band 11	KC245112	<i>Bacillus</i> sp. OS-ac-18 (U46747)	100
Band 12	KC245113	<i>Sporolactobacillus laevolacticus</i> (AB681813)	99
Band 13	KC245114	<i>Bacillus racemilacticus</i> (AB362651)	99
Band 14	KC245115	<i>Herbaspirillum</i> sp. INM-18 (JQ429450)	99
Band 16	KC245116	<i>Clostridium</i> sp. URNW (HM801879)	99
Band 17	KC245117	<i>Microcoleus vaginatus</i> CSU-U-KK1 (EF667962)	99
Band 18	KC245118	<i>Burkholderia</i> sp. SAP53_1 (JN872507)	100
Band 20	KC245119	Uncultured bacterium (HQ119661)	99
Band 21	KC245120	Uncultured bacterium clone HH2_e3 (FN401229)	99
Band 22	KC245121	Uncultured bacterium clone Sh_F10 (JQ356959)	100
Band 24	KC245122	<i>Sphingomonas</i> sp. BRW2 (AF025350)	99
Band 25	KC245123	Uncultured bacterium clone TP-SL-B-273 (HQ864211)	99
Band 27	KC245124	<i>Gluconobacter oxydans</i> strain VC-1 (EU034639)	100
Band 29	KC245125	<i>Methylobacterium</i> sp. PB231 (AB220101)	99
Band 30	KC245126	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> strain DCB10 (JN650549)	100
Band 31	KC245127	<i>Bacillus</i> sp. A3S3 (FJ851436)	99
Band 33	KC245128	Uncultured Alphaproteobacterium clone APe2_70 (AB074649)	100
Band 34	KC245129	<i>Bacillus subtilis</i> strain BP11(HM585370)	95
Band 36	KC245130	Uncultured bacterium clone nbw774f12c1 (GQ016556)	99
Band 38	KC245131	<i>Ochrobacterium anthropi</i> strain KH-7 (JQ612513)	99
Band 39	KC245132	Uncultured <i>Hyphomicrobiaceae</i> bacterium (EF664459)	99
Band 42	KC245133	<i>Clostridium</i> sp. AN-AS6C (FR872932)	93
Band 43	KC245134	Uncultured bacterium clone B16-XJrs-3-25 (FR849456)	90

养时间的延长都有所提高。强学彩等<sup>[11]</sup>指出, 麦秸还田后会显著提升土壤肥力及土壤微生物总量。Štursová 等<sup>[12]</sup>发现, 富含纤维素的森林土壤菌群对于纤维素材料的降解速度是普通土壤菌群降解速度的 10 倍, 且纤维素的诱导能够显著提高森林环境土壤内微生物群落多样性。本研究也发现, 纤维素诱导使得 MSCs 中细菌群落丰富

度和均匀度指数都有了明显的提高; 并且很多重要细菌类群, 如产胞外多糖、丝状的 *Microcoleus vaginatus* 和一些可能具有固定碳或氮能力的 Alphaproteobacteria 类群, 他们的丰度有了很大程度的增加, 尤其是经过麦秸纤维素诱导后这些方面变化最大。原因可能是麦秸纤维素比木质素含量更高的木屑更容易降解<sup>[13]</sup>, 可为其他类群微

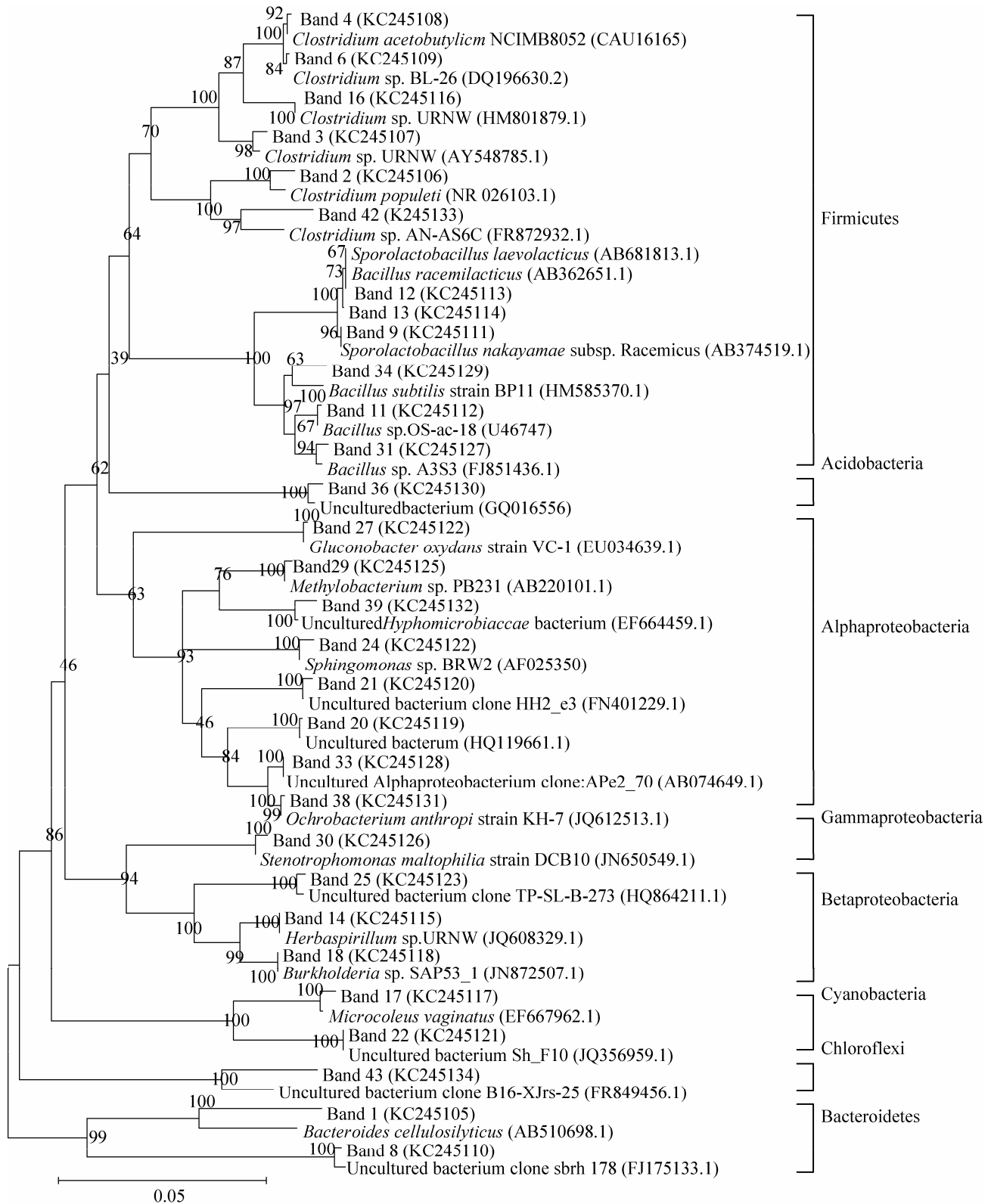


图3 DGGE 条带序列的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of sequences from DGGE bands

Note: The scale bar represents 5% sequence divergence. Bootstrap is 1 000 trials.



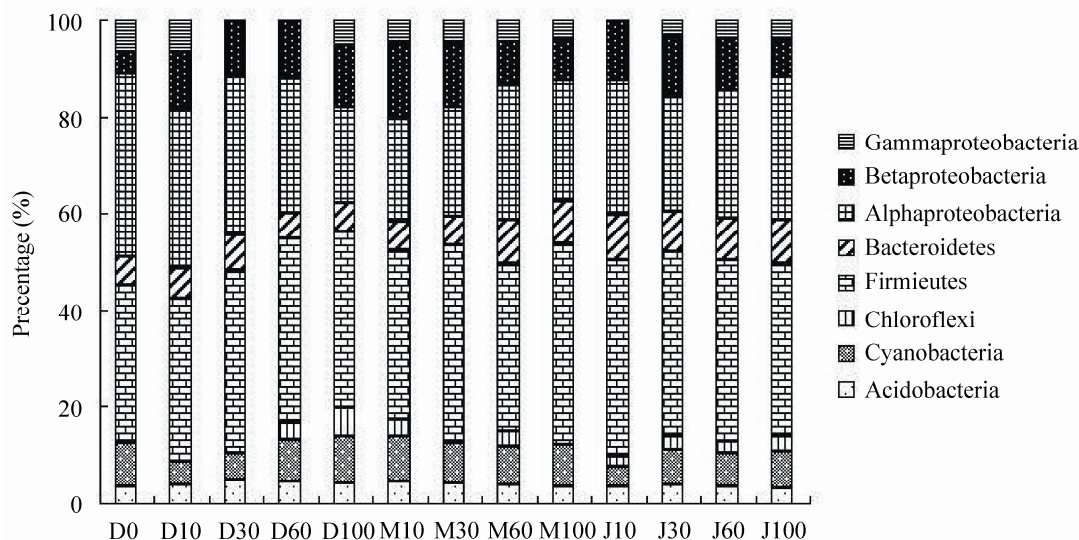


图 4 细菌类群群落组成比较分析

Fig. 4 Comparison of the bacterial community composition

生物更迅速提供碳源和能源,以致在相同培养时间内麦秸纤维素诱导下的微生物土壤结皮细菌多样性指数最高。根据“生态保险理论”<sup>[14]</sup>及其后来的争论,高多样性和高均匀度的群落结构预示着生态系统更加平衡和健康。因此,麦秸经由纤维素降解微生物的降解作用能迅速引起微生物土壤结皮细菌群落变化,具有更迅速改善荒漠生态系统的潜力。

另外,有趣的是,聚类相似性分析揭示出同种处理的样品能够很好的聚在一起,聚类位置十分相近。此现象表明,在其他培养条件相同的情况下,加麦秸诱导处理的样品与空白对照的相似性最低,麦秸诱导后结皮细菌群落变化最大。并且这一结果也暗示,在纤维素诱导下,温度和湿度对微生物土壤结皮细菌群落结构组成的影响不是起决定作用的,而纤维素降解诱导恰恰可能是起这样的作用的;否则,纤维素诱导的处理不会这样规律的聚类在一起。

### 3.2 外源纤维素诱导微生物土壤结皮中纤维素降解细菌种群变化

纤维素的降解往往需要多种微生物的联合作

用<sup>[2]</sup>。本研究结果表明,相比未加外源纤维素的对照、经纤维素诱导后 MSCs 中纤维素降解细菌 (CDB) 类群种类和丰度都出现了增加。所得序列中有近 50% 的序列与已知纤维素降解菌的序列有 90%–100% 的相似性。孟杰等<sup>[15]</sup>的研究表明,将秸秆粉碎后作为底物进行富集培养,可明显提高可培养 CDB 和其他细菌的数量,也有利于纤维素降解菌的分离<sup>[16]</sup>。基于分子生物学方法的研究也表明,添加水稻秸秆诱导处理后显著提高了耕作土壤中细菌群落多样性和丰富度<sup>[17]</sup>。我们发现纤维素诱导后厌氧的 *Clostridium* 菌属成为了 MSCs 中最丰富的 CDB,这可能与 MSCs 的形成和发展阻挡了其覆盖下土壤氧扩散有关。Sullivan 等<sup>[18]</sup>曾运用荧光原位杂交技术对土壤样品中纤维素降解菌进行分析,证实在土壤的纤维素降解菌群中,梭菌属是发现最多的类群。本研究中的 Band 16 与 *Clostridium* sp. URNW 的相似性达到 99%, 该菌嗜温厌氧,有着产氢和产乙醇的能力<sup>[19]</sup>,说明 MSCs 可能是 CDB 的重要来源。当然, MSCs 也可能是诸如 Band 18 相关的、具有促进生物生长及生物修复功能的 *Burkholderia* sp. 等细

菌类群的宝库<sup>[20]</sup>。

总之,外源纤维素诱导使得 MSCs 的丰富度和多样性指数等关键细菌群落结构指数显著提高,也使得一些重要功能类群(如 CDB)的丰度增加,预示 CDB 及其介导的纤维素降解对荒漠生态系统恢复可作出重要贡献。

## 参 考 文 献

- [1] 高龙君. 用玉米秸秆代替木屑作为生态厕所反应基质的可行性研究[D]. 长春: 东北师范大学硕士学位论文, 2005.
- [2] Bassin JP, Pronk M, Muijzer G, et al. Effect of elevated salt concentrations on the aerobic granular sludge process: linking microbial activity with microbial community structure[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(22): 7942–7953.
- [3] 徐杰, 白学良, 杨持, 等. 固定沙丘结皮层藓类植物多样性及固沙作用研究[J]. *植物生态学报*, 2003, 27(4): 545–551.
- [4] Lynd RL, Weimer JP, Zyl W, et al. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2002, 66(3): 506–577.
- [5] 邵玉琴, 赵吉. 草原沙地微生物结皮与固沙作用的研究[J]. *农业环境科学学报*, 2004, 23(1): 94–97.
- [6] Miller ND, Bryant EJ, Madson LE, et al. Evaluation and optimization of DNA Extraction and purification procedures for soil and sediment samples[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(11): 4715–4724.
- [7] Muijzer G, deWaal EC, Uitterlinden AG. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59(3): 303–307.
- [8] 刘慧杰, 田蕴林, 光辉, 等. 基于 PCR-DGGE 技术的红树林区微生物群落结构[J]. *微生物学报*, 2010, 50(7): 923–930.
- [9] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum parsimony methods[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2011, 28(10): 2731–2739.
- [10] Sharon A, Werner L, Ralf C. Effects of temperature and fertilizer on activity and community structure of soil ammonia oxidizers[J]. *Environmental Microbiology*, 2003, 5(8): 691–705.
- [11] 强学彩, 袁红莉, 高旺盛. 秸秆还田量对土壤 CO<sub>2</sub> 释放和土壤微生物量的影响[J]. *应用生态学报*, 2004, 15(3): 469–472.
- [12] Štursová M, Žifčáková L, Leigh BM, et al. Cellulose utilization in forest litter and soil: identification of bacterial and fungal decomposers[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, 80(3): 735–746.
- [13] 赵蒙蒙, 姜曼, 周祚万. 几种农作物秸秆的成分分析[J]. *材料导报*, 2011, 15(3): 122–125.
- [14] Yachi S, Loreau M. Biodiversity and ecosystem functioning in a fluctuating environment: the insurance hypothesis[J]. *Proceedings of the National Academy Sciences of USA*, 1999, 96: 1463–1468.
- [15] 孟杰, 王宏燕, 李涛. 生物表面活性剂混合纤维素分解菌分解秸秆的研究[J]. *东北农业大学学报*, 2011, 42(2): 97–103.
- [16] Odenyo A, Mackie R, Stahl D, et al. The use of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes to study competition between ruminal fibrolytic bacteria: pure-culture studies with cellulose and alkaline peroxide-treated wheat straw[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60(10): 3697–3703.
- [17] 李自刚, 李兴道, 蒋媛媛. 水稻秸秆还田对河南沿黄稻区土壤细菌群落分子多态性影响[J]. *河南农业大学学报*, 2008, 42(1): 90–94.
- [18] Sullivan C, Burrell P, Clarke W, et al. A survey of the relative abundance of specific groups of cellulose degrading bacteria in anaerobic environments using fluorescence in situ hybridization[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 103(4): 1332–1343.
- [19] Ramachandran U, Wrana N, Cicek N, et al. Isolation and characterization of a hydrogen- and ethanol-producing *Clostridium* sp. strain URNW[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2011, 57(3): 236–243.
- [20] Pérez SA, Herrera MC, Vega C, et al. Zooming-in on floral nectar: a first exploration of nectar-associated bacteria in wild plant communities[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, 80(5): 591–602.