

微生物学报
Acta Microbiologica Sinica
ISSN 0001-6209, CN 11-1995/Q

《微生物学报》网络首发论文

题目：复合菌系降解玉米秸秆过程中群落演替与秸秆降解的关系
作者：苏鑫，王敬红，张方政，刘嘉乐，巩光禄，欧阳晓伦，魏丹，赵洪颜，宋福强，晏磊，王伟东
DOI：10.13343/j.cnki.wsx.20190613
收稿日期：2019-12-21
网络首发日期：2020-06-15
引用格式：苏鑫，王敬红，张方政，刘嘉乐，巩光禄，欧阳晓伦，魏丹，赵洪颜，宋福强，晏磊，王伟东. 复合菌系降解玉米秸秆过程中群落演替与秸秆降解的关系. 微生物学报. <https://doi.org/10.13343/j.cnki.wsx.20190613>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.20190613

复合菌系降解玉米秸秆过程中群落演替与秸秆降解的关系

苏鑫¹, 王敬红¹, 张方政¹, 刘嘉乐¹, 巩光禄¹, 欧阳晓伦¹, 魏丹², 赵洪颜³, 宋福强⁴,
晏磊¹, 王伟东^{1*}

¹黑龙江省寒区环境微生物与农业废弃物资源化利用重点实验室; 黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 黑龙江 大庆 163319

²北京市农林科学院植物营养与资源研究所, 北京 100081

³延边大学农学院, 吉林 延吉 133002

⁴黑龙江大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150080

摘要: 【目的】为了获得木质素降解复合菌系 LDC 降解玉米秸秆的适宜条件, 明确秸秆降解过程中可能发挥重要作用的功能微生物类群。【方法】以培养温度、pH、培养基装液量和接菌量等单因素试验结果为依据, 采用响应面法优化复合菌系降解玉米秸秆的培养条件, 利用 Miseq 高通量测序技术, 分析不同降解时期复合菌系的群落结构变化规律。【结果】复合菌系对秸秆最佳降解条件为: 培养温度 32 °C、初始 pH 为 8.2、装液量为 40%, 接菌量为 10%。此条件下木质素最大降解率为 44.5%, 相比未优化处理提高 13.3%。在门水平上, 变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)是复合菌系 LDC 的优势菌门。在玉米秸秆降解过程中, 降解初期的优势菌属为 *Proteiniphilum* (11.9%)、*Sphaerochaeta* (8.4%)、*Ruminofilibacter* (8.4%)、*Pannonibacter* (6.7%)、*Pseudomonas* (6.1%) 和 *Rhizobium* (5.7%); 在降解高峰期时, *Anaerocolumna* (24.0%)、*Caenispirillum* (9.2%) 和 *Thauera* (7.0%) 的丰度显著上升, 分别是其在降解初期的 16.5 倍、3.0 倍和 5.9 倍, 而 *Ruminofilibacter* (10.9%) 的丰度仍然很高并排在第二位。在降解末期的优势菌属为 *Ruminofilibacter* (25.4%)、*Pseudomonas* (9.7%)、*Sphaerochaeta* (8.8%)、*Caenispirillum* (8.4%)、*Pannonibacter* (4.3%)、*Thauera* (4.0%) 以及 *Desulfomicrobium* (3.4%)。【结论】明确了玉米秸秆降解复合菌系的最佳培养条件以及在不同降解时期微生物群落结构变化规律, 在玉米秸秆降解过程中发挥重要作用的微生物类群为 *Pseudomonas*、*Pannonibacter*、*Thauera*、*Ruminofilibacter* 和 *Anaerocolumna*。

关键词: 玉米秸秆, 复合菌系, 木质素降解, 条件优化, 微生物多样性

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0800906-03), 黑龙江省自然科学基金(ZD2018005), 黑龙江农垦总局科技攻关项目(HKKY190404), 黑龙江八一农垦大学科技创新团队项目(TDJH201809), 黑龙江八一农垦大学研究生创新科研项目(YJSCX2018-Y67)

*通信作者。Tel: +86-459-6819298; Fax: +86-459-6819298; E-mail: wwdcyy@126.com

收稿日期: 2019-12-21; 修回日期: 2020-03-09; 网络出版日期:

据 2019 年中国统计年鉴统计,我国秸秆年产量近 8.5 亿 t,其中玉米秸秆产量最大约为 2.8 亿 t^[1-2]。每年约有 30%的秸秆没有得到充分利用被直接丢弃或就地燃烧,导致资源浪费并对生态系统造成不利影响^[3-4]。因此,玉米秸秆的资源化利用具有重要的意义。秸秆中的木质纤维素含量约为 70%–80%^[5],主要由纤维素、半纤维素和木质素组成,木质素以共价键的方式将纤维素和半纤维素牢牢包裹其中,不同种类的秸秆中所含有木质素类型也不同^[6]。在秸秆的高值化精制利用时,主要的思路是首先把木质素、纤维素和半纤维素成分分离开然后对各种成分进一步的深入转化。因此,在开展以纤维素和半纤维为主要资源化利用前体物质时,木质素成为组分分离的主要障碍,中国主导的秸秆“五化”资源化利用模式中木质素也是一个主要的障碍。此时,如何高效去除木质素而尽可能的保留纤维素和半纤维素是秸秆资源化利用的一个不可绕开的关键问题。木质素是具有三维空间结构的生物高分子化合物,是目前公认的难降解芳香族化合物,难以被单一的水解酶分解^[7-8]。相对于物理和化学等方法,微生物法降解木质素具有环保、污染少和成本低等优点,受到了相关领域的高度关注^[9-11]。

有研究者以碱木质素、木质素磺酸盐以及硫酸盐木质素替代天然木质素研究纯培养菌株对木质素降解^[12-14]。在 30 °C 下,欧文氏菌属(*Erwinia billingiae*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、鞘氨醇杆菌属(*Sphingobacterium*)、新鞘氨醇杆菌属(*Novosphingobium*)和丛毛单胞菌属(*Comamonas*)等培养 7 d 后能降解 38%–52%木质素,尽管这些纯培养菌株具有较好的木质素降解能力,但所用底物与天然木质素结构有较大区别,这些木质素替代物的降解并不能完全反应出微生物对天然木质素的降解情况。在 35 °C 下,地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)和解淀粉芽孢杆菌(*B.amyloliquefaciens*)在培养 16–20 d 后能够将玉米秸秆中的木质素降解 20%–24%^[15-16];而嗜热嗜脂肪地芽孢杆菌(*Geobacillus stearothermophilus*)需培养 20 d 才能够将园林废弃物秸秆中的木质素降解 20%^[17]。这些纯培养菌株尽管活性较高,但培养周期长、对秸秆类天然木质素的降解效率不高。在自然环境中,木质素的完全降解需要多种微生物在复杂的环境中发挥协同作用来完成^[18-20]。因此,人们开始关注复合菌系对木质的降解。在已有的研究报告中,高效降解玉米秸秆的问题解决了,但在木质素被降解的同时纤维素和半纤维素也被大量降解,这不利于后续的资源化工作。

本实验室前期筛选了一组高效、稳定降解木质素的复合菌系 LDC (lignin degradation consortium),发现该复合菌系在 30 °C 静置培养 15 d 可将芦苇秸秆中的木质素降解 60.9%,但纤维素和半纤维素确很少被降解。但是,该复合菌系是否可降解玉米秸秆以及在玉米秸秆降解过程中微生物多样性变化规律尚不清楚。本研究目的在于获得复合菌系 LDC 降解玉米秸秆的适宜条件,解析主导微生物类型,为玉米秸秆纤维素高值化利用提供基础数据。

1 材料和方法

1.1 复合菌系的来源

取样地点位于黑龙江省大庆市龙凤湿地，该湿地地理坐标为东经 125°07'-125°15'，北纬 46°28'-46°32'，总面积 5050.39 公顷。取样点为腐烂芦苇秸秆根部土壤，收集表层 0-10 cm 土壤样品，通过限制性富集培养的方法筛选获得的木质素降解复合菌系 LDC^[21]。

1.2 复合菌系的培养

MSM (无机盐)培养基: NaNO_3 2.5 g; KH_2PO_4 1.0 g; NaCl 0.5 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g; CaCl_2 0.1 g; 微量元素混合液 1 mL; 将其混合定容到 1 L, 调节 pH 为 8, 玉米秸秆添加量 2% (W/V), 培养基装液量为 50% (体积比)置于 1 L 锥形瓶中培养(以下不做特殊说明, 试验所用培养体系均为 1 L 锥形瓶), 1×10^5 Pa 灭菌 30 min 后置于超净工作台中, 紫外灭菌 15 min 后按照培养基体积的 10% 接菌, 30 °C 静置培养。

微量元素混合液组成(g/L): $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.16 g; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.5 g; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.16 g; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.15 g; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1.5 g; H_3BO_3 0.3 g; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g。

玉米秸秆: 本试验所选用的玉米秸秆来自黑龙江八一农垦大学农学实验基地秋季玉米成熟后的秸秆。对玉米秸秆进行如下预处理, 将去皮留茎的玉米秸秆放置于 1% 的 NaOH 溶液中, 浸泡 24 h 后用流水冲洗至中性, 80 °C 烘干粉碎后备用。

1.3 木质素测定方法

参照范氏纤维素测定法, 利用 FIVE3/6 纤维素测定仪(意大利 VELP)测定玉米秸秆中木质素的含量, 计算其降解率^[22]。

1.4 复合菌系降解玉米秸秆的单因素试验

1.4.1 最适培养温度: 利用 MSM 培养基, 以玉米秸秆为底物添加量为 2%, 培养基装液量 50%, 接菌量为 10%, 初始 pH 为 8.0, 静置培养 7 d, 培养温度分别为 10、20、30、40、50 °C, 测定玉米秸秆失重和木质素含量变化情况, 确定最适培养温度。

1.4.2 最适初始 pH: 利用 MSM 培养基, 以玉米秸秆为底物添加量为 2%, 培养基装液量 50%, 接菌量为 10%, 静置培养 7 d, 培养温度为 30 °C, 初始 pH 为 6.0、7.0、8.0、9.0、10.0。测定玉米秸秆失重和木质素含量变化情况, 确定最适初始 pH。

1.4.3 最适装液量: 利用 MSM 培养基, 以玉米秸秆为底物添加量为 2%, 接菌量为 10%, 静置培养 7 d, 培养温度为 30 °C, 初始 pH 为 8.0, 培养基装液量(体积比)为 20% (200 mL/1000 mL)、40%、60%、80%、100%。测定玉米秸秆失重和木质素含量变化情况, 确定最适装液量。

1.4.4 最适接菌量: 利用 MSM 培养基, 以玉米秸秆为底物添加量为 2%, 培养基装液量 50%, 静置培养 7 d, 培养温度为 30 °C, 初始 pH 为 8.0, 接菌量为 2.5%、5%、10%、15%、20%。测定玉米秸秆失重和木质素含量变化情况, 确定最适接菌量。

1.5 响应面试验设计

在单因素实验基础上, 利用 Design-Expert 8.0.6 软件中 Box-Behnken 进行三因素三水平试验设计, 选择对木质素降解率影响较大三个因素: 培养温度(A)、初始 pH(B)、装液量(C)为影响因素, 以木质素降解率(Y)为响应值, 对培养条件进行优化, 确定最佳培养条件并验证。

1.6 16S rRNA 扩增子高通量测序

1.6.1 测序样品采集: 在全程无菌条件下, 分别取原菌液(CA)、木质素降解初期(CB)、高峰期(CC)和末期(CD)的菌液, 即培养 0、12、48、120 h 的复合菌系, 每个时期设置 3 个重复, 在 12000 r/min 下离心 10 min, 获得菌体 S1, 即复合菌系培养液中微生物样品。将复合菌系中的秸秆, 置于加入 PBS 缓冲液的三角瓶中, 150 r/min 振荡 15 min, 超声 5 min, 再振荡, 取上清液置于离心管中, 最后经 12000 r/min 离心 10 min 得菌体 S2, 即秸秆表面微生物样品。最终测序样品为 S1 与 S2 的混合物。

1.6.2 总 DNA 提取及微生物多样性分析: 利用改良的氯苯法提取总 DNA^[23]。经 Nanodrop 及琼脂糖凝胶电泳检测, 选择浓度大于 10 ng/ μ L、总量超过 500 ng、 $OD_{260/230}$ 超过 1、 $OD_{260/280}$ 在 1.8–2.2 之间、琼脂糖凝胶电泳主带清晰的 DNA。利用标准细菌 16S V3-V4 区引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')^[24]进行 PCR 扩增, 对其产物进行纯化、定量。利用 Illumina MiSeq 测序仪对构建合格的文库进行测序, 测序工作在上海派森诺生物科技有限公司完成。根据测序结果对微生物多样性进行生物信息学分析。

2 结果和分析

2.1 复合菌系降解玉米秸秆培养条件优化

2.1.1 培养温度对复合菌系 LDC 降解木质素的影响: 如图 1-A 所示, 当培养温度由 10 °C 上升到 30 °C 时, 随着培养温度的升高, 复合菌系 LDC 对木质素降解率呈现逐渐升高的趋势。当培养温度继续升高, 木质素降解率逐渐降低。说明培养温度过高或过低, 都不利于复合菌系生长, 在培养温度为 30 °C 时达到最大值为 44.4%。因此将响应面优化试验的培养温度设置为 20–40 °C。

2.1.2 培养基的初始 pH 对复合菌系 LDC 降解木质素的影响: 如图 1-B 所示, 当初始 pH 由 5 上升到 8 时, 随着初始 pH 的增大, 木质素降解率呈现逐渐升高的趋势, 随着 pH 的继续增大, 木质素降解率逐渐降低。说明在 pH 过高的培养条件下不利于复合菌系 LDC 生长, 当 pH 为 10 时, 木质素几乎不被降解。在 pH 为 8 时木质素降解率达到最高, 为 44.3%。因此将响应面优化试验的培养初始 pH 设置为 7–9。

2.1.3 培养基装液量对复合菌系 LDC 降解木质素的影响: 如图 1-C 所示。随着装液量的不

断增加，体系中的溶氧不断降低，复合菌系 LDC 对木质素的降解率呈现先上升后下降的变化趋势。当培养基装液量为 40% 时，复合菌系 LDC 对木质素降解率最高为 44.7%。当装液量为 100% 时，木质素几乎不被降解。说明较低的溶氧不利于复合菌系 LDC 的生长。因此将响应面优化试验的培养基装液量设置为 20%–60%。

2.1.4 培养基的接菌量对复合菌系 LDC 降解木质素的影响：如图 1-D 所示。当接菌量由 5% 上升到 10% 时，木质素降解率呈现逐渐升高的趋势。随着接菌量的继续增大，木质素降解率逐渐降低后维持不变。当培养体系中所含营养物质一定，仅供相应数量微生物的生长，即使继续添加微生物，整个体系所能发挥的功能也不会显著提升。因此木质素降解率并没有随着接菌量的增加而升高，综上所述，选择接菌量为 10% 进行后续实验。

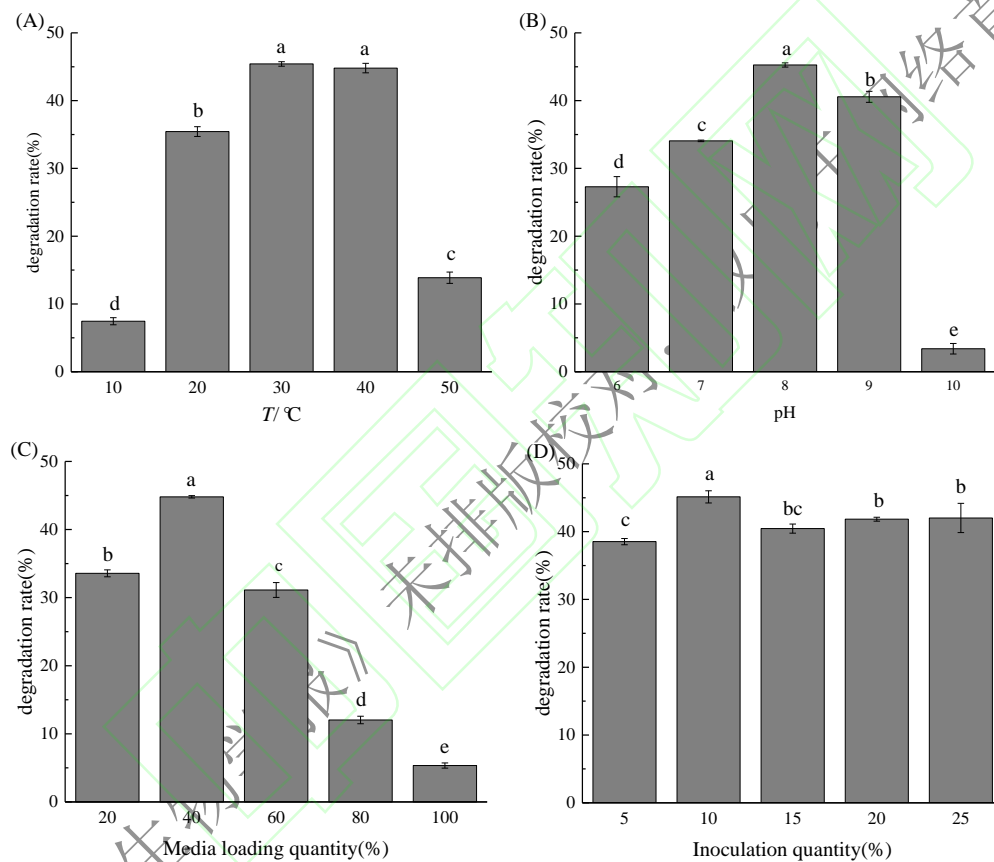


图 1. 培养温度(A)、培养基初始 pH(B)、培养基装液量(C)和接菌量(D)对木质素降解率的影响

Figure 1. Effect of temperature (A), pH (B), media loading quantity (C) and inoculation concentration (D) on lignin degradation rate.

2.1.5 复合菌系降解条件优化结果：选择对木质素降解率影响较大 3 个因素即 A：培养温度 (20、30、40 °C)；B：初始 pH (7、8、9)；C：装液量(20%、40%、60%)，根据木质素降解率(Y)的响应值，对降解条件进行优化。采用 Design-Expert 8.0 软件对试验数据进行回归分析，建立数学模型，得到二次回归方程：

$$\text{降解率 (\%)} = 44.16 + 1.27A - 0.024B + 1.07C + 0.92AB - 0.38AC + 0.94BC - 2.71 \times A^2 - 1.09 \times B^2 - 3.80 \times C^2$$

如表 1 所示，通过对二次响应面回归模型方差分析可知，模型 $F=29.05$ ， $P<0.0001$ ，表

明该二次多项模型显著性极好，试验方法可靠；失拟项 $F=1.78$ ， $P=0.2894>0.05$ ，表示差异不显著，说明试验结果较准确。一次项 A、C，交互项 AB、BC，平方项 A^2 、 B^2 、 C^2 对试验响应值的影响均显著 ($P<0.05$)；一次项 B、交互项 AC 对试验响应值的影响为不显著 ($P<0.05$)。表明各因素之间的交互作用不是简单的线性关系。对模型可信度分析可知，决定系数 $R^2=0.9739$ ，说明回归方差模型拟合度较好，因为 R^2 越接近于 1，该模型就越能更好地体现出试验结果；Adeq Precision (精密度)=16.745>4，表明模型可用，足以拟合试验结果；c.v.% (变异系数)=1.77<10%，则说明试验具有较好的稳定性，结果精确可靠。

表 1. 回归模型方差分析

Table 1. Variance analysis of regression model.

| Source | Sum of mean square | Free degree | Mean square | F value | Pr>F | Significant level |
|-------------|--------------------|-------------|-------------|---------|---------|-------------------|
| Model | 135.21 | 9 | 15.02 | 29.05 | <0.0001 | ** |
| A-A | 12.98 | 1 | 12.98 | 25.10 | 0.0015 | ** |
| B-B | 0.004 | 1 | 0.004 | 0.008 | 0.9282 | N |
| C-C | 9.20 | 1 | 9.20 | 17.79 | 0.0039 | ** |
| AB | 3.42 | 1 | 3.42 | 6.62 | 0.0369 | * |
| AC | 0.59 | 1 | 0.59 | 1.13 | 0.3228 | N |
| BC | 3.52 | 1 | 3.52 | 6.80 | 0.0351 | * |
| A^2 | 30.81 | 1 | 30.81 | 59.57 | 0.0001 | ** |
| B^2 | 5.05 | 1 | 5.05 | 9.76 | 0.0167 | ** |
| C^2 | 60.88 | 1 | 60.88 | 1117.71 | <0.0001 | ** |
| Residual | 3.62 | 7 | 0.52 | | | |
| Lack of Fit | 2.07 | 3 | 0.69 | 1.78 | 0.2894 | N |
| Pure Error | 1.55 | 4 | 0.39 | | | |
| Cor Total | 138.83 | 16 | | | | |

**represents extremely significant level of 1% ($P<0.01$); *represent significant level of 2% ($P<0.05$).

响应面的等高线和 3D 图可以对各个因素之间的作用进行直观的表现，从图中可以看到预测的最大响应值以及此时的最佳条件。等高线的形状可以看出两个因素间的交互作用，当等高线为椭圆形时，因素间的交互作用较大，圆形反之。而 3D 图的趋势则可以看出相同问题，图形越陡峭，说明交互作用越强，颜色越深说明数值间变化越大。

在图 2 中，交互作用项培养温度和初始 pH 的等高线呈椭圆形，说明培养温度和初始 pH 之间的交互作用对木质素降解率的影响显著 ($P<0.05$)。根据响应面图可以看出，木质素的降解率随着初始 pH 和培养温度的升高而升高，但是培养体系的 pH 或者培养温度过高都会造成木质素降解率的下降。最终可确定在培养温度为 30 °C、初始 pH 为 8 时，木质素降解效果更好。

在图 3 中，交互作用项培养温度和装液量的等高线呈椭圆形，说明培养温度和装液量之间的交互作用对木质素降解率的影响显著 ($P<0.05$)。根据响应面图可以看出，木质素的降解率随着装液量和培养温度的升高皆呈现先上升后下降的趋势，说明过低的溶氧和过高的培养

温度都不利于微生物的生长。最终可确定在培养温度为 30 ℃、装液量为 40%时，木质素降解效果更好。

在图 4 中，交互作用项初始 pH 和装液量的等高线呈椭圆形，说明初始 pH 和装液量之间的交互作用对木质素降解率的影响显著($P<0.05$)。根据响应面图可以看出，在初始 pH 一定时，木质素的降解率随着装液量的升高呈现先上升后下降的趋势；在装液量一定时，木质素的降解率随着初始 pH 的升高也呈现先上升后下降的趋势。最终可确定在初始 pH 为 8、装液量为 40%时，木质素降解效果更好。

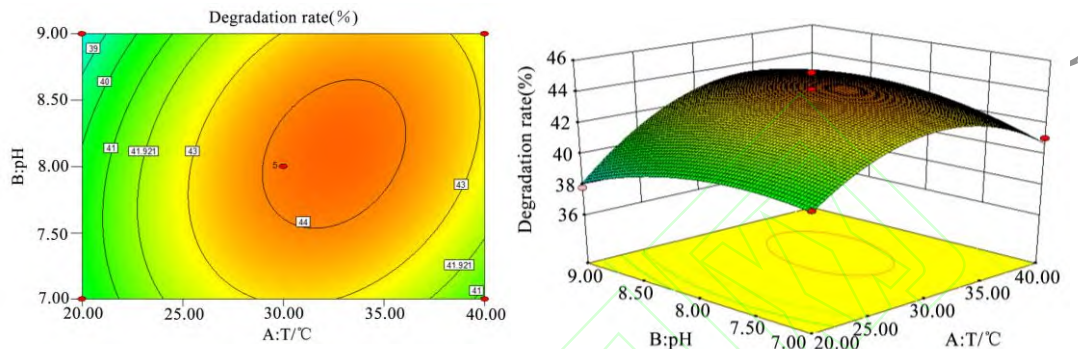


图 2. 培养温度和初始 pH 交互作用对木质素降解率影响的等高线图和响应面图

Figure 2. Response surface and contour map of the effect of temperature and pH on lignin degradation rate.

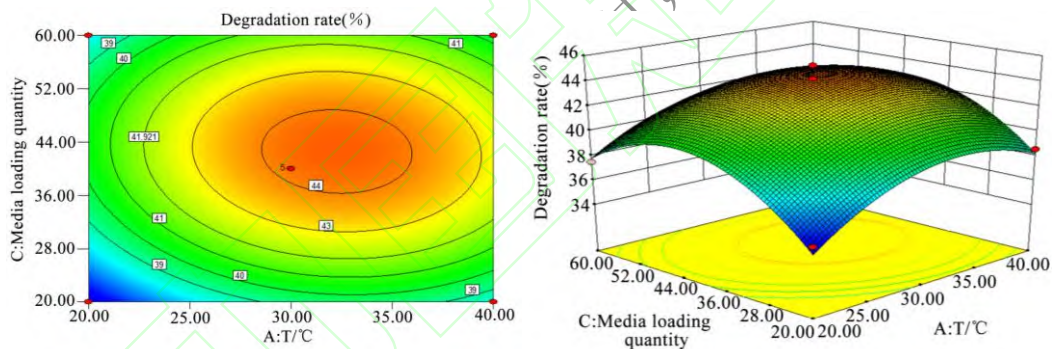


图 3. 培养温度和装液量交互作用对木质素降解率影响的等高线图和响应面图

Figure 3. Response surface and contour map of the effect of temperature and media loading quantity on lignin degradation rate.

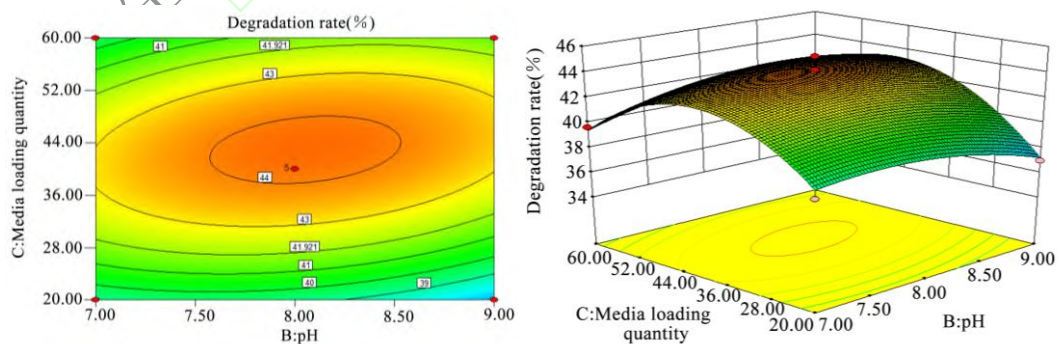


图 4. 初始 pH 和装液量交互作用对木质素降解率影响的等高线图和响应面图

Figure 4. Response surface and contour map of the effect of pH and media loading quantity on lignin degradation rate.

通过软件分析，对木质素降解率的影响由大到小依次为培养温度>装液量>初始 pH，最终优化出的培养条件为：温度 32.5 °C、初始 pH 8.2、装液量 42.9%，此条件下木质素降解率的预测值为 44.5%。考虑到实际情况，将上述最佳条件修正为温度 32 °C、初始 pH 8.2、装液量 40%，并按照此条件进行 3 次重复性实验，得到的木质素降解率为 44.5% (RSD=0.22%)，此时纤维素和半纤维素降解率分别为 5.0%和 35.9%，木质素降解率与理论预测值相差不大，说明该方程和实际情况拟合很好，充分证明了优化工艺的可靠性。

2.2 木质素降解复合菌系微生物群落结构变化

对原菌液、降解初期、降解高峰期以及降解末期 4 个典型时期样品进行 16S rRNA 基因高通量测序，在测序深度达到 5000 条序列时，各个时期的样品所观察到的物种数已经开始有差异，随着测序深度的不断增加，各个时期的样品所观察到的物种数的差异逐渐扩大。在微生物群落结构中，针对各个时期的样品所观察到的物种数从大到小依次是 CC>CD>CB>CA。

2.2.1 不同时期复合菌系的 Alpha 多样性：如表 2 所示，基于 Simpson 指数和 Shannon 指数显示，复合菌系在降解初期和高峰期的微生物多样性与原菌液和降解末期具有显著性差异；基于 Chao1 指数和 ACE 指数显示，复合菌系在降解高峰期的丰富度与其他各个时期均具有显著性差异。说明在不同时期，复合菌系中微生物的多样性和丰富度不尽相同。

表 2. 不同降解时期复合菌系的 Alpha 多样性指数
Table 2. The alpha diversity indexes of consortium in different stages of degradation.

| Sample | Simpson | Shannon | Chao1 | ACE |
|--------|-------------|-------------|-----------------|-----------------|
| CA | 0.92±0.009b | 5.66±0.12b | 1129.36±182.84c | 1120.90±174.16c |
| CB | 0.96±0.004a | 6.02±0.18ab | 1200.5±142.62b | 1216.22±117.91b |
| CC | 0.95±0.002a | 6.21±0.11a | 1261.86±71.91a | 1280.04±76.74a |
| CD | 0.92±0.02b | 5.70±0.34b | 1123.32±292.90d | 1135.51±296.52d |

2.2.2 不同时期复合菌系的 Beta 多样性：分别进行了基于加权 Unifrac 距离的主成分分析 (Principal component analysis, PCoA) 和非参数多元方差分析 (permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA)。如图 5 所示，各个样本距离较远，第一主坐标解释了 58.9% 的群落差异，第二主坐标解释了 28.1% 的群落差异；非参数多元方差分析结果表明不同时期的样本均具有显著性差异 ($P<0.05$; $N=999$ permutations)。两种分析结果均说明不同时期的样本在物种组成、相对丰度和系统发育上具有差异。

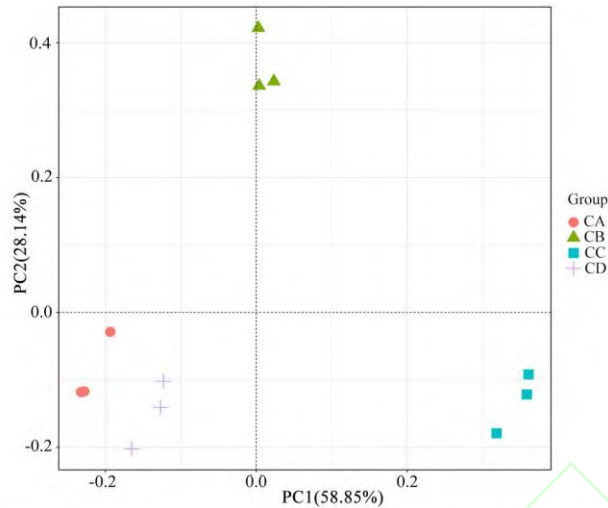


图 5. 不同降解时期复合菌系的 PCoA 图
Figure 5. The PCoA map of consortium in different stages of degradation.

2.2.3 不同时期复合菌系的组成及相对丰度变化: 对不同降解时期的复合菌系的总 DNA 进行 16S rRNA 基因扩增子高通量测序, 基于测序结果, 对丰度占比大于 1% 的菌门进行统计, 为了更方便的分析不同降解时期微生物群落结构, 比较他们之间的差异, 以 3 个重复为一组来进行可视化百分比柱状图展示分析。如图 6 所示, 在微生物门分类水平上, 共检测出 6 个细菌门。在 CA 中, 拟杆菌门(Bacteroidetes)的丰度最高为 49.6%, 其次是变形菌门(Proteobacteria)丰度为 38.0%, 排在第三位的为厚壁菌门(Firmicutes), 丰度仅为 5.8%。变形菌门的丰度在整个降解过程中变化不显著, 最终变形菌门的丰度为 42.5%。拟杆菌门的丰度呈现先下降后上升的趋势, 降解初期的 36.3%和末期的 42.4%的丰度没有显著差异, 但都与原菌液的 49.6%的和高峰期的 25.2%的丰度具有显著差异($P < 0.05$)。厚壁菌门的丰度变化趋势与拟杆菌门相反呈现先升高后下降的趋势, 原菌液的 5.8%和降解末期的 5.4%均与降解初期的 12.6%和高峰期的 29.8%的丰度具有显著性差异($P < 0.05$)。最终, 该复合菌系中变形菌门的丰度为 42.5%, 拟杆菌门为 42.4%, 螺旋菌门为 8.8%, 最后是厚壁菌门为 5.4%。

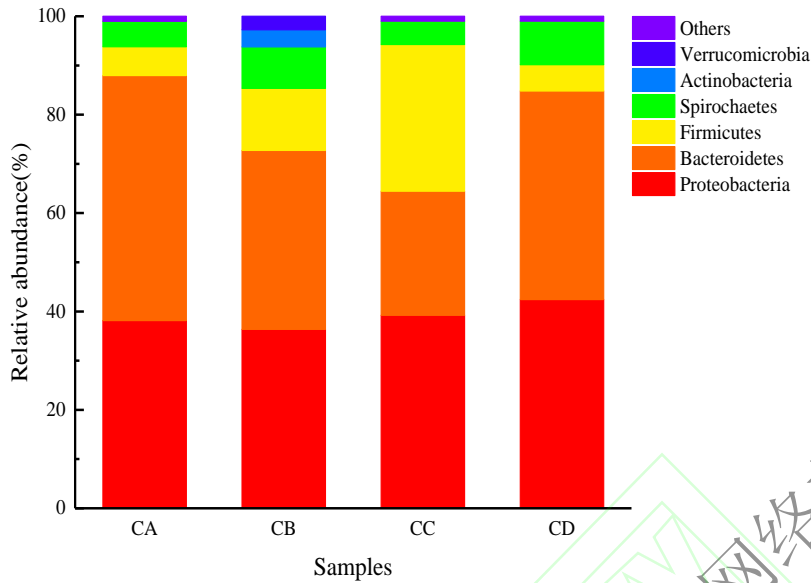


图 6. 不同降解时期的复合菌系在门分类水平上的细菌群落组成

Figure 6. Bacterial composition of consortium in different stages of degradation at the phylum taxon. Others represented bacteria which relative abundance were less than 1.00% in each sample.

在微生物属分类水平上(图 7), 利用 Circos 对复合菌系中的优势菌属进行分析。种子液中优势细菌为 *Ruminofilibacter* (27.4%)、*Sphingobium* (9.1%)、*Pseudomonas* (6.0%)、和 *Sphaerochaeta* (5.2%); 降解初期为 *Proteiniphilum* (11.9%)、*Sphaerochaeta* (8.4%)、*Ruminofilibacter* (8.6%)、*Pannonibacter* (6.7%)、*Pseudomonas* (6.1%)和 *Rhizobium* (5.7%); 降解高峰期的优势菌属为 *Anaerocolumna* (24.0%)、*Ruminofilibacter* (10.9%)、*Caenispirillum* (9.2%)和 *Thauera* (7.0%)、*Pannonibacter* (5.3%)和 *Pseudomonas* (5.0%); 降解末期的优势细菌为 *Ruminofilibacter* (25.4%)、*Pseudomonas* (9.7%)、*Sphaerochaeta* (8.8%)、*Caenispirillum* (8.4%)、*Pannonibacter* (4.3%)、*Thauera* (4.0%)以及 *Desulfomicrobium* (3.4%)。在整个降解过程中, *Pseudomonas*、*Ruminofilibacter*、*Desulfomicrobium* 的丰度逐渐升高; *Proteiniphilum*、*Pannonibacter* 和 *Rhizobium* 的丰度都呈现逐渐下降的趋势, 且显著低于降解初期($P < 0.05$); *Anaerocolumna*、*Caenispirillum*、*Thauera* 和 *Paenibacillus* 在高峰期时丰度最高且显著高于其他各个时期($P < 0.05$)。

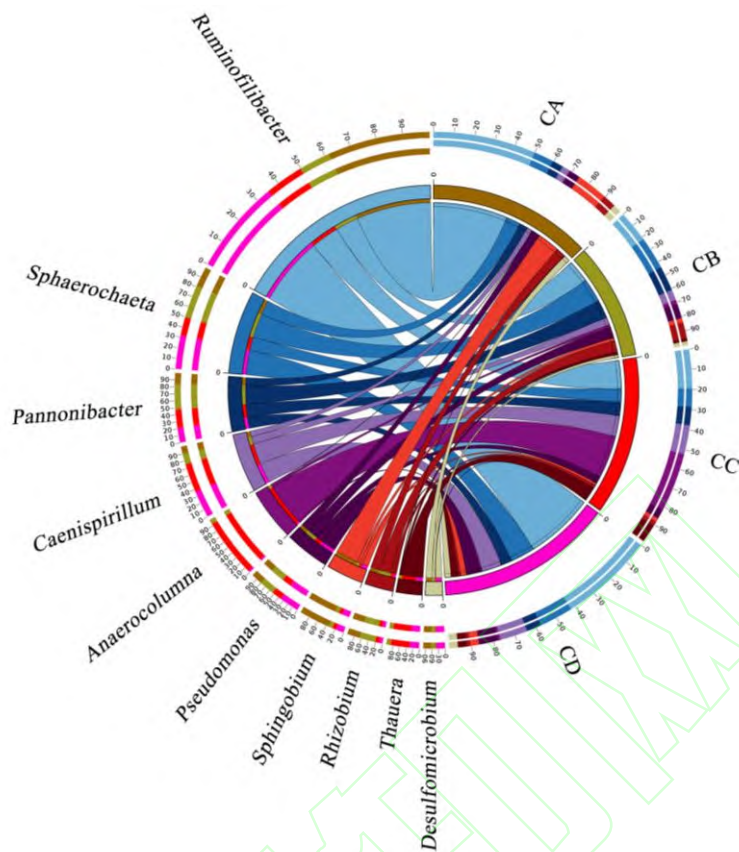


图 7 不同降解时期优势菌属的 Circos 聚类分析图

Figure 7 Circos cluster analysis of dominant genera in different stages of degradation.

3. 讨论

木质素降解复合菌系 LDC 能够在较短的时间内快速高效的降解天然木质素，其中起主要作用的细菌可能为 *Pseudomonas*、*Pannonibacter*、*Thauera*、*Ruminofibacter* 和 *Anaerocolumna*。*Pseudomonas* 是报道最多的并且是最有效的具有降解木质素能力的细菌^[25]，能分泌染料脱色过氧化物酶(DyPs)^[26-27]。DyPs 是一个新发现的含血红素的过氧化物酶家族，具有降解木质素和木质素模型化合物能力。有研究表明假单胞在 28 °C 下可以降解 22.5% 的木质素^[28]；*Thauera* 具有分解多种如苯酚类低聚合芳香族化合物的能力^[29]，因此可能具有分解分子量较小、聚合度较低的木质素或芳香族化合物的作用。其只有在降解高峰期时丰度最高且显著高于其他各个时期($P < 0.05$)，推测其在木素分解过程中代谢木质素降解所产生的中间产物；*Pannonibacter* 属于变形菌门，其近缘种是从制浆造纸厂分离出来，能够利用木质素、单宁酸、木聚糖和纤维素等作为碳源生长，同时可以将体系的 COD 值降低至 86.5%^[30]，具有降解芳香族化合物的能力，其在 30 °C 下培养 5 d 能够降解 5.6% 的木质素。推测 *Pseudomonas*、*Pannonibacter*、*Thauera* 为复合菌系降解木质素的主要关键菌群。

少数厌氧细菌也能够降解木质素，*Desulfomicrobium* 和 *Spingobium* 都是严格的厌氧菌。厌氧微生物降解木质素的意义之一在于能够在含有木质素芳香环类物质的降解过程中起到

协同辅助作用。*Desulfomicrobium* 能够利用硫酸盐、亚硫酸盐和硫代硫酸盐作为电子受体产生硫化氢^[31-32]。硫元素是木质素的组成成分之一，因此木质素的降解必有脱硫作用的介导。目前，*Sphingobium* 是研究芳香族化合物的代谢途径的模式菌株^[33-34]，能够降解多种芳香族化合物^[35]。

厌氧微生物利用体系所产生的营养物质供自身生长，但是在初期这种现象并不明显，当培养体系中氧气的逐渐消耗，尤其是经过高峰期微生物大量繁殖后，这类厌氧微生物的丰度升高趋势开始明显。随着体系氧气的逐渐消耗，*Ruminofilibacter* 的丰度逐渐升高。*Ruminofilibacter* 为厌氧发酵系统中的主要细菌属，具有半纤维素酶活性^[36-37]。属于梭菌目的厌氧菌 *Anaerocolumna* 被证明也可以降解半纤维素，其能够水解木聚糖在内的多种碳水化合物，并能够产生乙酸盐，乙醇和氢气^[38]。二者分别在降解末期、高峰期丰度最高，推测其为复合菌系降解半纤维素的主要关键菌群。

研究已表明 *Sphaerochaeta* 具有降解木质纤维素的能力，但在本研究中其在降解高峰期时丰度显著低于其他时期($P < 0.05$)。赵丽萍等^[39]研究发现硝酸盐能够显著提升 *Sphaerochaeta* 的丰度，因此猜测可能是在降解初期培养基中硝酸盐类物质含量较高，*Sphaerochaeta* 大量生长繁殖，但由于像 *Rhizobium*、*Azospirillum*、*Azoarcus* 等能够利用硝酸盐类物质作为氮源的微生物大量繁殖，硝酸盐被大量利用，导致其在高峰期丰度下降，到末期培养体系中氧气被大量消耗致使 *Sphaerochaeta* 丰度上升。虽然 *Caenispirillum* 还未被报道具有降解木质纤维素的能力，但有研究证明该菌具有能够与反硝化类细菌如 *Alishewanella* 协同共生，从而提高体系的生物酶活性^[40]。

在复合菌系 LDC 在降解玉米秸秆过程中，各个时期微生物的群落结构具有一定差异性。这可能是在复合菌系降解初期，秸秆结构较完整，氧含量也较高，微生物主要是利用培养基中营养物质供自身生长，此时只有 *Ruminofilibacter* 和 *Proteiniphilum* 的丰度有显著增加，他们先将小分子碳源和半纤维素分解为小分子酸和酯，以提供微生物生长所需要的营养物质；随着秸秆逐渐被降解，代谢所产生的营养物质逐渐增多，微生物得以大量繁殖，致使在高峰期微生物多样性增加。此时，*Pseudomonas*、*Pannonibacter*、*Thauera* 这类主要降解木质素芳香族化合物的微生物丰度显著增加，同时具有辅助分解苯酚类低聚合芳香族化合物的微生物丰度也逐渐增加；直到降解末期，体系内的氧气和营养物质被大量消耗，致使 *Anaerocolumna*、*Pannonibacter*、*Thauera*、*Paenibacillus*、*Rhizobium* 等微生物生长受到抑制、丰度降低，此后木质素几乎不被降解；最终培养液中的物质与微生物生长处于平衡状态，复合菌系群落结构趋于稳定。复合菌系 LDC 具有远高于其他复合菌系的木质素降解效率和能力^[41-42]，在整个培养过程中，微生物的种类和丰度随着体系环境改变而变化，多种微生物的协同作用即是木质素高效降解的关键。

4. 结论

自然界中,木质素的完全降解是多种微生物共同作用的结果。通过本研究获得了复合菌系 LDC 降解玉米秸秆的最佳培养条件,使木质素降解效率显著提高。复合菌在降解玉米秸秆过程中微生物的种类和丰度不断变化,主要的优势菌属为 *Pseudomonas*、*Pannonibacter*、*Thauera*、*Ruminofilibacter* 和 *Anaerocolumna*, 与其他具有辅助降解木质素功能的微生物共同发挥协同作用,从而高效降解木质素,这为研究木质素类生物质的转化与利用提供一定的理论指导。

参考文献

- [1] 国家统计局. 中国统计年鉴 2019. 北京: 中国统计出版社, 2019.
- [2] Zhang BB. Assessment of raw material supply capability and energy potential of biomass resources in China. Doctor Dissertation of China Agriculture University, 2018. (in Chinese)
张蓓蓓. 我国生物质原料资源及能源潜力评估. 中国农业大学博士学位论文, 2018.
- [3] Li J, Li M, Gao XX, Fang F. Corn straw mulching affects *Parthenium hysterophorus* and rhizosphere organisms. *Crop Protection*, 2018, 113: 90-96.
- [4] Zhao J, Dong ZH, Li JF, Chen L, Bai YF, Jia YS, Shao T. Ensiling as pretreatment of rice straw: the effect of hemicellulase and *Lactobacillus plantarum* on hemicellulose degradation and cellulose conversion. *Bioresource Technology*, 2018, 266: 158-165.
- [5] Niu WJ. Physicochemical composition and energy potential of main crop straw and stalk. Doctor Dissertation of China Agriculture University, 2015. (in Chinese)
牛文娟. 主要农作物秸秆组成成分和能源利用潜力. 中国农业大学博士学位论文, 2015.
- [6] Zhao MM, Jiang M, Zhou ZW. The components analysis of several kinds of agricultural residues. *Materials Review*, 2011, 25(16): 122-125. (in Chinese)
赵蒙蒙, 姜曼, 周祚万. 几种农作物秸秆的成分分析. 材料导报, 2011, 25(16): 122-125.
- [7] Asgher M, Wahab A, Bilal M, Nasir Iqbal HM. Lignocellulose degradation and production of lignin modifying enzymes by *Schizophyllum commune* IBL-06 in solid-state fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2016, 6: 195-201.
- [8] Bilal M, Asgher M, Iqbal HMN, Hu HB, Zhang XH. Bio-based degradation of emerging endocrine-disrupting and dye-based pollutants using cross-linked enzyme aggregates. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24(8): 7035-7041.
- [9] Zhao YQ, Xu CF, Ai SQ, Wang HP, Gao YM, Yan L, Mei ZL, Wang WD. Biological pretreatment enhances the activity of functional microorganisms and the ability of methanogenesis during anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 2019, 290: 121660.
- [10] Wan CX, Li YB. Fungal pretreatment of lignocellulosic biomass. *Biotechnology Advances*, 2012, 30(6): 1447-1457.
- [11] Yan L, Gao YM, Wang YJ, Liu Q, Sun ZY, Fu BR, Wen X, Cui ZJ, Wang WD. Diversity of a mesophilic lignocellulolytic microbial consortium which is useful for enhancement of biogas production. *Bioresource Technology*, 2012, 111: 49-54.
- [12] Hu XF, Zhang DD, Zhou YH, Wei YH, Chen SL. Identification of a lignin degrading bacterium and its degrading characteristics. *Biotechnology Bulletin*, 2019, 35(9): 172-177. (in Chinese)

胡笑峰, 张朵朵, 周云横, 卫亚红, 陈少林. 一株木质素降解菌的鉴定及其降解特性. 生物技术通报, 2019, 35(9): 172-177.

[13] Wang DQ, Lin YS, Du WJ, Liang JD, Ning YF. Optimization and characterization of lignosulfonate biodegradation process by a bacterial strain, *Sphingobacterium* sp. HY-H. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, 85: 365-371.

[14] Chen YH. Study on the lignin degradation and related genes of *Novosphingobium* sp. B-7 and *Comamonas* sp. B-9. Doctor Dissertation of Central South University, 2013. (in Chinese)

陈跃辉. 细菌 *Novosphingobium* sp. B-7 和 *Comamonas* sp. B-9 降解木质素及其降解基因研究. 中南大学博士学位论文, 2013.

[15] Deng AY, Guan TW, Wang PH, Li ZQ, Xiang HP, Zhao SX, Zhang XC. Screening of lignin degradation strain MZ-9 and optimization of enzyme production conditions in compost. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2017, 44(2): 95-103. (in Chinese)

邓奥宇, 关统伟, 王鹏昊, 李智强, 向慧平, 赵顺先, 张习超. 堆肥中木质素降解细菌 MZ-9 的筛选及产酶条件优化. 广东农业科学, 2017, 44(2): 95-103.

[16] Li HY, Li SN, Wang SX, Wang Q, Zhu BC. Screening, identification of lignin-degradating *Bacillus* MN-8 and its characteristics in degradation of maize straw lignin. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(2): 324-333. (in Chinese)

李红亚, 李术娜, 王树香, 王全, 朱宝成. 产芽孢木质素降解菌 MN-8 的筛选及其对木质素的降解. 中国农业科学, 2014, 47(2): 324-333.

[17] Zhang PF, Li SY, Yu KF, Jiang XF. Screening of lignin-degrading bacteria and study on degradation of garden waste. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2018, 45(4): 676-681. (in Chinese)

张鹏飞, 李素艳, 余克非, 姜新福. 木质素降解细菌的筛选及园林废弃物降解研究. 安徽农业大学学报, 2018, 45(4): 676-681.

[18] Wang WD, Yan L, Cui ZJ, Gao YM, Wang YJ, Jing RY. Characterization of a microbial consortium capable of degrading lignocellulose. *Bioresource Technology*, 2011, 102(19): 9321-9324.

[19] Wang CF, Ma SC, Huang Y, Liu LY, Fan H, Deng Y. Characterization and microbial community shifts of rice strawdegrading microbial consortia. *Acta Microbiologica Sinica*, 2016, 56(12): 1856-1868. (in Chinese)

王春芳, 马诗淳, 黄艳, 刘来雁, 凡慧, 邓宇. 降解水稻秸秆的复合菌系及其微生物群落结构演替. 微生物学报, 2016, 56(12): 1856-1868.

[20] Hua BB, Lü YC, Wang JG, Wen BT, Cao YZ, Wang XF, Cui ZJ. Dynamic changes in the composite microbial system MC1 during and following its rapid degradation of lignocellulose. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2014, 172(2): 951-962.

[21] Wang YX, Liu Q, Yan L, Gao YM, Wang YJ, Wang WD. A novel lignin degradation bacterial consortium for efficient pulping. *Bioresource Technology*, 2013, 139: 113-119.

[22] Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 1991, 74(10): 3583-3597.

[23] Zhu H, Qu F, Zhu LH. Isolation of genomic DNAs from plants, fungi and bacteria using benzyl chloride. *Nucleic Acids Research*, 1993, 21(22): 5279-5280.

[24] Dennis KL, Wang YW, Blatner NR, Wang SY, Saadalla A, Trudeau E, Roers A, Weaver CT, Lee JJ, Gilbert JA, Chang EB, Khazaie K. Adenomatous polyps are driven by microbe-instigated

focal inflammation and are controlled by IL-10-producing T cells. *Cancer Research*, 2013, 73(19): 5905-5913.

[25] Mishra M, Das MT, Thakur IS. Mammalian cell-line based toxicological evaluation of paper mill black liquor treated in a soil microcosm by indigenous alkalo-tolerant *Bacillus* sp. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, 21(4): 2966-2976.

[26] Kumar P, Maharjan A, Jun HB, Kim BS. Bioconversion of lignin and its derivatives into polyhydroxyalkanoates: challenges and opportunities. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2019, 66(2): 153-162.

[27] Rahmanpour R, Bugg TDH. Characterisation of Dyp-type peroxidases from *Pseudomonas fluorescens* PF-5: oxidation of Mn(II) and polymeric lignin by Dyp1B. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2015, 574: 93-98.

[28] Masai E, Katayama Y, Fukuda M. Genetic and biochemical investigations on bacterial catabolic pathways for lignin-derived aromatic compounds. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2007, 71(1): 1-15.

[29] Qiao NH, Zhang JJ, Liu DJ, Tang XS, Xi LJ, Liu JG. Study on the degradation and mechanism of phenolic compounds by the *Thauera* sp. K11. *Biotechnology Bulletin*, 2017, 33(10): 184-190. (in Chinese)

乔能虎, 张静静, 刘德健, 汤孝胜, 郝丽君, 刘建国. 陶厄氏菌 *Thauera* sp. K11 对酚类化合物降解作用及途径研究. *生物技术通报*, 2017, 33(10): 184-190.

[30] Kumar V, Dhall P, Kumar R, Singh YP, Kumar A. Bioremediation of agro-based pulp mill effluent by microbial consortium comprising autochthonous bacteria. *The Scientific World Journal*, 2012, 2012: 127014.

[31] Yamashita T, Yamamoto-Ikemoto R, Zhu JQ. Sulfate-reducing bacteria in a denitrification reactor packed with wood as a carbon source. *Bioresource Technology*, 2011, 102(3): 2235-2241.

[32] Li J, Zhang X, Liu J, Yang L, Wang SB, Wei J. Experimental research on removal of ligno-cellulose using sulfate-reducing bacteria. *Journal of Shenyang Jianzhu University (Natural Science)*, 2015, 31(1): 167-172. (in Chinese)

李军, 张欣, 刘健, 杨柳, 王诗白, 魏捷. 硫酸盐还原菌去除木屑中木质素和纤维素的试验. *沈阳建筑大学学报(自然科学版)*, 2015, 31(1): 167-172.

[33] Zhang XY, Peng X, Masai E. Recent advances in *Sphingobium* sp. SYK-6 for lignin aromatic compounds degradation-A review. *Acta Microbiologica Sinica*, 2014, 54(8): 854-867. (in Chinese)

张晓琰, 彭学, 政井英司. 木质素芳香族化合物降解菌 *Sphingobium* sp. SYK-6 的研究进展. *微生物学报*, 2014, 54(8): 854-867.

[34] Meux E, Prosper P, Masai E, Mulliert G, Dumarcay S, Morel M, Didierjean C, Gelhaye E, Favier F. *Sphingobium* sp. SYK-6 LigG involved in lignin degradation is structurally and biochemically related to the glutathione transferase omega class. *FEBS Letters*, 2012, 586(22): 3944-3950.

[35] Ohta Y, Nishi S, Kobayashi K, Tsubouchi T, Iida K, Tanizaki A, Kurosawa K, Adachi A, Nishihara M, Sato R, Hasegawa R, Hatada Y. Draft genome sequence of *Novosphingobium* sp. strain MBES04, isolated from sunken wood from Suruga Bay, Japan. *Genome Announcements*, 2015, 3(1): e01373-14.

[36] Azman S, Khadem AF, Van Lier JB, Zeeman G, Plugge CM. Presence and role of anaerobic hydrolytic microbes in conversion of lignocellulosic biomass for biogas production. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2015, 45(23): 2523-2564.

-
- [37] Zhao XL, Zheng ZH, Cai YF, Zhao YB, Luo K, Cui ZJ, Wang XF. Pretreatment by crude enzymatic liquid from *Trichoderma harzianum* and *Aspergillus sp* improving methane production performance during anaerobic digestion of straw. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2018, 34(3): 219-226. (in Chinese)
赵肖玲, 郑泽慧, 蔡亚凡, 赵宇宾, 罗凯, 崔宗均, 王小芬. 哈茨木霉和黑曲霉粗酶液预处理改善秸秆产甲烷性能. *农业工程学报*, 2018, 34(3): 219-226.
- [38] Ueki A, Ohtaki Y, Kaku N, Ueki K. Descriptions of *Anaerotaenia torta* gen. nov., sp. nov. and *Anaerocolumna cellulositytica* gen. nov., sp. nov. isolated from a methanogenic reactor of cattle waste and reclassification of *Clostridium aminovalericum*, *Clostridium jejuense* and *Clostridium xylanovorans* as *Anaerocolumna* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2016, 66(8): 2936-2943.
- [39] Zhao LP. Effects of nitrate on rumen fermentation, microbe diversity, blood biochemical and antioxidative ability. Doctor Dissertation of China Agriculture University, 2015. (in Chinese)
赵丽萍. 硝酸盐对肉牛瘤胃发酵、微生物多样性、血液生化及抗氧化性能的影响. 中国农业大学博士学位论文, 2015.
- [40] Cao RQ, Ying DW, Wang YL, Jia JP. Bacterial diversity of bio-electrode denitrification process under a low voltage. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2015, 27(5): 830-836. (in Chinese)
曹汝琼, 应迪文, 王亚林, 贾金平. 低电压下电生物膜脱氮体系中细菌多样性研究. *浙江农业学报*, 2015, 27(5): 830-836.
- [41] Jiang RQ, Yuan XZ, Zeng GM, Huang HL, Yu M, Liang YS, Zhang JC. Screening of an efficient lignin-degrading composite microorganisms. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2010, 16(2): 247-251. (in Chinese)
蒋荣清, 袁兴中, 曾光明, 黄红丽, 喻曼, 梁运珊, 张嘉超. 一组高效木质素降解复合菌的筛选. *应用与环境生物学报*, 2010, 16(2): 247-251.
- [42] Lu J, Yang ZM, Xu WY, Shi XS, Guo RB. Enrichment of thermophilic and mesophilic microbial consortia for efficient degradation of corn stalk. *Journal of Environmental Sciences*, 2019, 78(4): 118-126.

Microbial community succession associated with corn straw degradation in a bacterium consortium

Xin Su¹, Jinghong Wang¹, Fangzheng Zhang¹, Jiale Liu¹, Guanglu Gong¹, Xiaolun Ouyang¹, Dan Wei², Hongyan Zhao³, Fuqiang Song⁴, Lei Yan¹, Weidong Wang^{1*}

¹ Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Environmental Microbiology and Recycling of Agro-Waste in Cold Region. College of Life Science and Biotechnology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, Heilongjiang Province, China

² Institute of Plant Nutrition and Resources, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100081, China

³ Agricultural College, Yanbian University, Yanji 133002, Jilin Province, China

⁴ Life Science College, Heilongjiang University, Harbin 150080, Heilongjiang Province, China

Abstract: [Objective] The aim was to attain the optimal conditions for the degradation of corn straw by microbial lignin-degradation consortium and define the functional microbes that are important for the degradation of corn straw. [Methods] Based on the results of single factor experiments, such as culture temperature, pH, media loading quantity and inoculation concentration, the response surface method was adopted to optimize the culture conditions for the degradation of corn straw by the consortium. The changes of community structure in different stages of degradation was analyzed by high-throughput sequencing of bacterial 16S rRNA amplicons. [Results] The optimum degradation conditions were as follows: fermentation temperature 32 °C, pH 8.2, loading volume 40%, inocula concentration 10%, under which the degradation rate of lignin was up to 44.5%. Compared with the non-optimized treatment, the increased rate of lignin degradation was 13.3%. At the phylum level, Proteobacteria, Bacteroidetes and Firmicutes were dominant. The dominant genera included *Proteiniphilum* (11.9%), *Sphaerochaeta* (8.4%), *Ruminofilibacter* (8.4%), *Pannonibacter* (6.7%), *Pseudomonas* (6.1%) and *Rhizobium* (5.7%) in initial stage. In the peak stage of lignin degradation, the abundance of *Anaerocolumna* (24.0%), *Caenispirillum* (9.2%) and *Thauera* (7.0%) increased significantly, it was 16.5, 3.0 and 5.9 times higher than that at the initial stage of degradation. Meanwhile, the abundance of *Ruminofilibacter* (10.9%) was still very high and ranks second. The mainly dominant genera at the end of degradation were *Ruminofilibacter* (25.4%), *Pseudomonas* (9.7%), *Sphaerochaeta* (8.8%), *Caenispirillum* (8.4%), *Pannonibacte* (4.3%), *Thauera* (4.0%) and *Desulfomicrobium* (3.4%). [Conclusion] The optimal conditions of corn straw degradation and the dynamic changes of bacterial consortium structure were clarified. *Pseudomonas*,

Pannonibacter, *Thauera*, *Ruminofilibacter* and *Anaerocolumna* were main bacteria that have played an important role in the process of corn straw degradation.

Keywords: corn straw, bacterial consortium, lignin degradation, conditions optimization, microbial diversity

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Key Research Program and Development Plan (2018YFD0800906-03), by the Key Project of Heilongjiang Natural Science Foundation (ZD2018005), by the Research and Development Plan of Heilongjiang Agricultural Company (HKKY190404), by the Program of Scientific Research Team and Platform of HBAU (TDJH201809), and by the Program of Graduate Innovation and Research of Heilongjiang Bayi Agricultural University (YJSCX2018-Y67)

*Corresponding author. Tel: +86-459-6819298; Fax: +86-459-6819298; E-mail: wwdcyy@126.com
Received: 21 December 2019; Revised: 9 March 2020; Published online:

《微生物学报》

未排版校对, 仅用于网络首发