

# 三种不同天然木质纤维素材料降解过程中物种种类、组成和多样性的对比分析

熊娟, 龚玉杰, 程志强, 雷少楠, 黎焯, 张婷, 田宝玉\*

(福建师范大学生命科学学院/工业微生物教育部工程研究中心, 福州 350108)

**摘要:** 木质纤维素是地球上存储量最多的可再生碳源, 开发以木质纤维类为原料的清洁能源, 是未来亟待解决的重大课题之一。为探讨真核生物对木质纤维素降解的影响, 本文通过PCR克隆文库构建, 克隆测序并结合RDP真菌分类鉴定, 对小麦秸秆、玉米秸秆及木材腐烂样品中真核生物的群落结构组成、核心种群以及多样性进行分析。结果表明Opisthokonta (55%) 和SAR (36.1%) 是最主要的优势群, 多样性也最为丰富, 其次为Archaeplastida (0.3%) 及未定义真核生物等。对同时期三个样品的对比分析表明, 小麦秸秆中真核生物的丰度和多样性都明显高于玉米秸秆和腐烂树木, 并且, 小麦秸秆分解期间真核生物的组成和物种多样性更高。在木质纤维素降解过程中不同的微生物担负着不同的功能, 对这些微生物的研究将会使木质纤维素降解方面的利用率大大提升。

**关键词:** 木质纤维素降解; 真核生物; 18S rRNA 基因; 菌群结构; 多样性

中图分类号: Q93

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2018)05-0027-07

## Comparative Analysis on Population Composition, Structure and Diversity of Species Involved in Degradation of Different Lignocellulosic Materials

XIONG Juan, GONG Yujie, CHENG Zhiqiang, LEI Shaonan, LI Ye, ZHANG Ting, TIAN Baoyu\*

(College of Life Science Fujian Normal University / Engineering Research Center of Industrial Microbiology of Ministry of Education, Fuzhou 350108, China)

**Abstract:** Lignocellulose is the most abundant renewable carbon source in the world. In the future, it is one of the important problems to be solved to develop clean energy with wood fiber as raw material. In order to investigate the effect of eukaryotes on the degradation of lignocellulose, by constructing the traditional PCR cloning library, cloning and sequencing combined with RDP fungi classification and identification, the composition of eukaryotic community structure and core population and diversity characteristics in wheat straw, corn stalks and wood decay samples were analyzed in the paper. The results showed that Opisthokonta (55%) and SAR (36.1%) were the most dominant species with the highest diversity, followed by Archaeplastida (0.3%) and undefined eukaryotes. The comparative analysis of three samples in the same period showed that the abundance and diversity of eukaryotes in wheat straw were significantly higher than that of corn stalks and wood decay samples, and the compositions and species diversity of eukaryotes during wheat straw decomposition were even higher. Different microorganisms carry different functions during the degradation of lignocellulose, and the study of these microorganisms will greatly enhance our utilization in lignocellulose degradation.

**Key words:** Different lignocellulose degradation; Eukaryotes; 18S rRNA gene; Community structure; Diversity

我国主要的农业废弃物有小麦秸秆、玉米秸秆及木材, 每年产生的农业废弃物有很多但并未

得到有效利用, 反而因堆积焚烧产生大量温室气体及粉尘, 造成资源浪费和严重的环境污染问题。解决该问题最有效的方法, 就是将农作物秸秆及废弃木材转化成可溶性糖, 再通过发酵技术生产人类所需的燃料及生活用品<sup>[1-2]</sup>。木质纤维素降解的关键是将大分子有机物质降解为小分子糖<sup>[3]</sup>。自然界中主要由真菌分泌降解生物质酶, 促进大分子有机物的降解, 土壤及动物消化道是

收稿日期: 2018-05-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31670125); 福建省自然科学基金资助项目(2017J01625)

作者简介: 熊娟(1991-), 女, 在读硕士, 主要从事植物微生物组学研究。

通讯作者: 田宝玉, 男, 博士, 教授, E-mail: tianby@fjnu.edu.cn

木质纤维素分解菌的主要来源<sup>[3-5]</sup>。木质纤维素的降解菌主要是由能分泌降解纤维素类物质的真菌和其它微生物构成一个互利互惠的复杂微生物菌群<sup>[4, 6-8]</sup>。木质纤维素降解是自然界物质循环和能量流动的一个重要过程,而微生物在这一过程中扮演着重要角色,微生物通过共同协作完成对复杂的木质有机物质的生物分解,作为营养基质的木质纤维素在微生物降解过程中,会按一定顺序出现一系列群落演替现象,木材本身的结构组成决定了微生物在群落演替中出现顺序<sup>[9-10]</sup>。目前大量依赖的石油燃料严重污染环境,我国已经成为温室气体产生量最多的国家之一,面对国际上各国的减排要求,寻找可再生的能源来替代石油是一项非常紧急的任务,而生物质是可再生资源,其降解过程中产生的CO<sub>2</sub>又会被植物重新吸收利用,生成了大分子有机物,这一过程中形成了碳循环,不会对自然环境产生影响<sup>[11]</sup>。对丰富的可再生木质纤维素资源进一步转化加工,既可以减少污染和浪费造成的环境问题,又可以解决可再生能源来源问题。

深入了解微生物降解木质纤维素的机理,就要以系统学的方法从整体去发现有哪些微生物参与木质纤维素降解的整个过程,然后再分析降解的各个时期各微生物的相互作用。研究木质纤维素在特定的养分环境中通过微生物菌群的降解利用策略是一种非常好的试验方法<sup>[12]</sup>。自然界中的微生物很少能够通过纯培养的方法获得,而绝大部分的微生物是很难在目前实验室条件下培养成功的,使得人们很难发现存在的许多未培养的微生物<sup>[13]</sup>。单纯地利用微生物纯培养技术及形态学鉴定等方法所能够获得的微生物种类很少,根本不能够反映所有微生物的多样性及其菌群结构组成<sup>[13]</sup>。对大多数的未培养微生物进行研究可以使用分子生物学的方法<sup>[14]</sup>,利用分子生态学技术研究不同木质纤维素降解过程中微生物的菌群结构组成,挖掘出不同的优势菌群。近年来,快速发展的高通量测序技术以454和Illumina Miseq为代表,其测序通量高,分析平台方便快捷,很快成为研究微生物多样性非常重要的一种技术手段<sup>[15-16]</sup>。利用高通量测序技术对真核生物18S rRNA基因进行大规模测序,并对该复杂的菌群结构及多样性进行分析,以便更加全面深入地了解微生物<sup>[15-19]</sup>。目前的研究多在门和目水平上对微生物群体进行分析与评估<sup>[14-17]</sup>。

天然的木质纤维素结构较复杂且性质稳定,

它的自然降解过程十分复杂,微生物在自然条件下很难快速有效地降解木质纤维素<sup>[18-19]</sup>。然而,这些不同的木质纤维素在自然条件下的各种微生物相互作用下能够被完全分解并被充分利用。因此,本研究以小麦秸秆、玉米秸秆和腐烂树木这三种不同的木质纤维素为碳源,在自然条件下被分解,采用传统的PCR克隆文库构建,克隆测序并结合RDP真菌分类鉴定,研究参与不同天然木质纤维素降解的真核生物群落的结构组成、核心种群及多样性差异,从而更好地充分利用各种天然木质纤维素。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 样品的采集与处理

样品于2015年10月18日采集于河南省鲁山县张官营。分别从小麦秸秆和玉米秸秆长期堆放地和一个腐烂树桩周围收集土壤样品。采样时,随机选取不同位点,每个点采集样品大约0.1 kg左右土壤样品,混合后置于密闭塑料袋中,去除较大的石子和根茎,分别标记为WS1018(小麦秸秆)、CS1018(玉米秸秆)和TS1018(腐烂树木),带回实验室后保藏于4℃冰箱,在一个星期之内提取总基因组DNA。

### 1.2 样品总DNA的提取

分别称取1 g土壤样品,利用MOBIO基因组DNA提取试剂盒(Catalog #12800-50, MOBIO Laboratories, Inc., USA)按试剂盒的操作说明进行总基因组DNA的提取和纯化。提取所得的基因组DNA在1%琼脂糖凝胶、电泳缓冲液、100 V电压条件下电泳45 min,用于检测其大小、纯度和亮度。提取的基因组保存于-20℃低温冰箱。

### 1.3 小麦秸秆、玉米秸秆和腐烂树木中真核生物18S rRNA基因的扩增和文库构建

以提取的总基因组DNA为模板,利用真核生物18S rRNA基因通用引物NS1和FR1扩增18S rRNA基因。PCR扩增反应条件为:94℃预变性3 min,94℃变性30 s,53℃退火30 s,72℃延伸90 s,经30个循环后,72℃延伸10 min。PCR扩增产物经琼脂糖凝胶电泳回收后,通过TA克隆技术连接pMD18-T载体(购自TaKaRa),转化Escherichia coli DH-5α感受态细胞(购自TaKaRa),涂于添加X-Gal、IPTG和氨苄青霉素的LB平板上获得三个样品的真核生物18S rRNA基因克隆文库。

### 1.4 18S rRNA基因克隆文库的筛选、测序、数据处理和OTU聚类

从 18S rRNA 基因文库中随机挑取白色克隆子,采用载体引物 M13RV-P(5'-GGAAACAGCTAT-GACCATGATTAC-3')和 M13-20(5'-CGACGTTGTA-AAACGACGG CCACT-3')进行菌落 PCR,验证阳性克隆。挑取阳性克隆送交上海生工进行测序,测序后经 DNASTAR Lasergene 8 软件包的 SeqMan 程序 trim,去除两端低质量序列和载体序列。将获得的高质量 18S rRNA 基因序列采用 QIIME 去除嵌合序列并进行聚类分析,相似性 $\geq 97\%$ 的序列归为同一 OTU,每一 OTU 取最丰富序列作为该 OTU 的代表性序列<sup>[20-21]</sup>。分别统计每个样品的 OTUs 数目和克隆数,并计算样品 alpha 多样性指数,包括样品的覆盖度、饱和曲线、Shannon 指数等。

### 1.5 小麦秸秆、玉米秸秆和腐烂树木中真核生物的分类、比对和系统进化树构建

将每一个 OTU 对应的 18S rRNA 基因代表性序列与校正的 RDP 18S rDNA 数据库进行比较,鉴定其分类地位,计算每一样品的菌群结构组成。收集每一个 OTU 对应的代表性序列,通过 SeaView 的 ClustalX 程序进行完全比对。编辑后用 SeaView 的 tree 程序构建 PhyML 系统进化树<sup>[22]</sup>,观察对比各个 OTU 在三个样品中的丰度值。

## 2 结果与分析

### 2.1 小麦秸秆、玉米秸秆和腐烂树木中真核生物 18S rRNA 基因的 PCR 扩增、文库筛选和测序

18S rRNA 基因扩增条件优化结果显示以稀释 10 倍的 DNA 溶液为模板,退火为 55℃时,可以扩增出单一清晰约 1.8 kb 左右的特异目的条带。收集 PCR 纯化产物,连接 pMD18-T 载体,转化 *Escherichia coli* DH-5 $\alpha$  感受态细胞,获得三个样品的 18S rRNA 基因克隆文库。分别从三个文库平板上随机挑取 150 个左右的白色菌落,菌落 PCR 为阳性的克隆送交公司以真菌 18S rRNA 基因上游引物 NS1 为引物进行测序。

### 2.2 真核生物 18S rDNA 基因序列的拼接和 OTU 聚类分析

测序成功的序列经 DNASTAR\_Lasergene 8 的 SeqMan 程序去除两端低质量序列和载体序列,处理后的 18S rDNA 序列长度在 700 ~ 800 bp 之间,经人工校对后得到 239 条高质量的有效序列,其中样品 TS1018 有效序列 52 条,样品 WS1018 有效序列 97 条,而样品 CS1018 有效序列 90 条。随后通过 QIIME 分析鉴定并除去嵌合序列,收集合并

所有非嵌合的有效数据。按 QIIME 要求的数据格式对所有的序列进行标记和整理,以相似性 $\geq 97\%$ 的序列作为一 OTU,通过 QIIME 对所有样品的全部有效序列进行 OTU 聚类。聚类结果显示三个样品中总共得到 99 个 OTUs,其中样品 TS1018 的 OTUs 数量为 21,样品 WS1018 的 OTUs 数量为 53,样品 CS1018 的 OTUs 数量为 25。不同样品丰度最高的 OTU 种类及其序列数目显著不同,表明小麦秸秆、玉米秸秆和腐烂树木中真核生物的优势种群和种群集中程度差异明显。

基于 OTU 数目的热图分析显示三个样品之间 OTUs 种类和分布具有较高的一致性(图 1),表明在小麦秸秆、玉米秸秆和腐烂树木中真核生物的组成和数量具有较高的稳定性和一致性。但是,从这些 OTUs 的种类和分布来看,样品 WS1018 OTUs 种类和分布最为丰富,其次为样品 TS1018 和样品 CS1018。

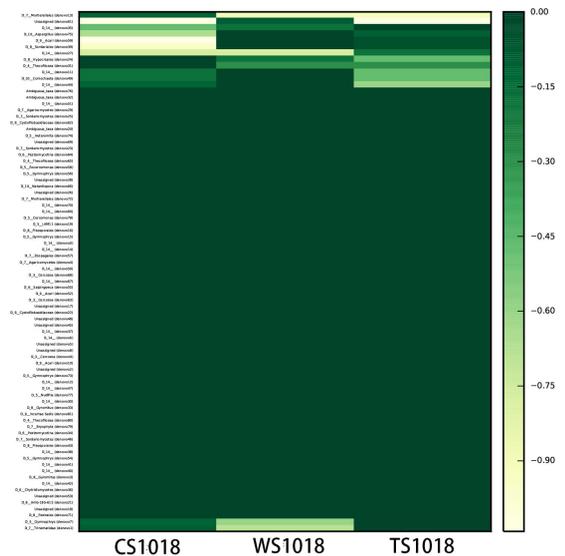


图 1 小麦秸秆、玉米秸秆和腐烂树木中真核生物的 OTUs 热图

### 2.3 小麦秸秆、玉米秸秆和腐烂树木中真核生物 的多样性分析

为更准确地评价三个样品中真核生物种群多样性,利用 Shannon 指数曲线评价三个样品中真核生物物种多样性(图 2),从图中可以看出,随着测序序列的增加,曲线趋于平坦,表明此次实验测序量基本可以反映样品中真核生物多样性和结构组成。

### 2.4 小麦秸秆、玉米秸秆和腐烂树木中真核生物 的群落数量、结构组成和对比

天然木质纤维素的自然降解过程非常复杂,参与降解的微生物及其相关酶系也很复杂,子囊

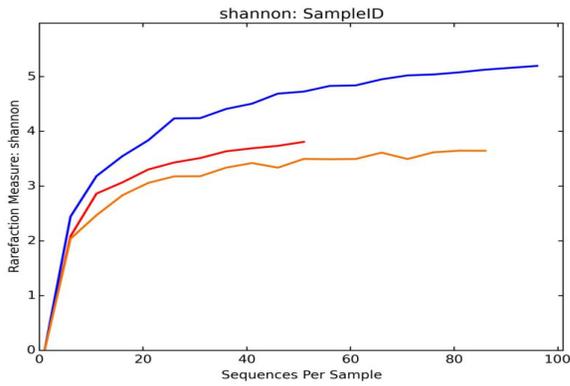


图2 小麦秸秆、玉米秸秆和腐烂树木真核生物的Shannon指数曲线图

菌门(Ascomycota)分泌参与天然木质纤维素降解的绝大多数酶类,表明真菌在木质纤维素降解过程中是主要的参与者,这可能与基因的选择性表达有关<sup>[23]</sup>。真菌(Fungi)包括担子菌门(Basidiomycota)的口蘑科(*Tricholomataceae*),球盖菇科(*Strophariaceae*),伞菌科(*Agaricaceae*)和杯伞属(*Clitocybe*)在木质纤维素的降解方面有着广泛的报道<sup>[24-27]</sup>。子囊菌门(Ascomycota)的圆盘菌属(*Orbilia*)是一种常被用于鉴定木材腐朽的菌属<sup>[28-31]</sup>;黑附球菌(*Epicoccum nigrum*)与茎点霉属(*Phoma sp.*)菌属有助于枯叶和死木的腐朽<sup>[32]</sup>;曲霉属(*Aspergillus*)是目前木质纤维素降解利用研究较多的菌属,在木聚糖、纤维素降解利用方面有报道<sup>[33-37]</sup>。隐真菌门(Cryptomycota)的隐球菌(*Cryptococcus*)是参与树叶腐朽的常见真菌<sup>[24]</sup>。壶菌门(Chytridiomycota)和真菌未定种(Fungi incertae sedis)包括大量的有木质纤维素降解功能的菌群存在。

真核生物18S rRNA基因序列的分类鉴定结果表明,小麦秸秆、玉米秸秆和腐烂树木中真核生物主要由真菌(Fungi, 44.6%)、丝足虫类(Cercozoa, 35.4%)、后生动物(Metazoa(Animalia), 10.0%)、MAST-12(0.7%)、长叶蝉类(*Choanoflagellida*, 0.3%)、轮藻类(*Charophyta*, 0.3%)等组成(图3)。由图3分析可知,三个样品中真核生物在门分类水平上的分类组成基本是一样的,但是各个样品中真核生物类群的丰度和比例略有不同,比如样品TS1018中的真菌(Fungi, 67.3%)和后生动物(Metazoa(Animalia), 19.2%)明显高于其他两个样品,在样品WS1018中有但是在样品TS1018和样品CS1018中均没有的,分别是MAST-12(2.1%)、长叶蝉类(*Choanoflagellida*)(1.0%)、轮藻类(*Charophyta*)(1.0%)三类,而在样品CS1018中的丝足

虫类(Cercozoa, 52.2%)明显高于样品TS1018和样品WS1018,也从另一个方面表明样品WS1018中物种丰富度要远高于其他两个样品。核心OTUs分析表明,小麦秸秆、玉米秸秆和腐烂树木中真核生物主要有真菌(Fungi)的子囊菌门(Ascomycota),担子菌门(Basidiomycota),霉菌亚门(*Mucoromycotina*),未定种(Incertae Sedis);丝足虫类(Cercozoa)的硅藻属(*Silicofilosea*),裸子苔草菌(*Gymnophrys*),前列腺瘤菌(*Proleptomonas*),异花苔草菌(*Heteromita*);以及后生动物(Metazoa(Animalia))的一些类群组成。

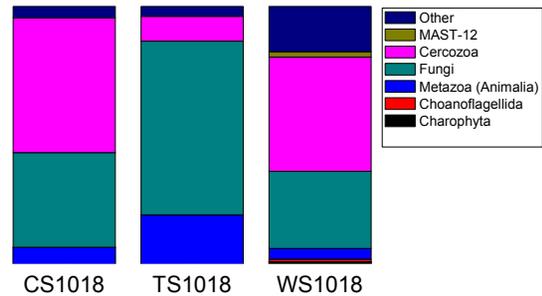


图3 不同样品在门水平上真核生物类群组成柱状图

腐烂树木中真核生物样品TS1018丰度最大的是真菌(Fungi)占67.3%,其次为后生动物(Metazoa(Animalia))占19.2%,作为样品TS1018中丰度最大的两个类群,构成这些真核生物菌群的种类和分布明显不同。构成真菌广泛分布的几个菌群,主要的优势种群为子囊菌门(Ascomycota)占50.0%,其次是担子菌门(Basidiomycota)占5.8%以及霉菌亚门(*Mucoromycotina*)占1.9%,未定种(Incertae Sedis)占9.6%等。其它类群比例大都在1-3%之间,没有特别突出的优势种群。构成后生动物的主要包括两侧对称动物(Bilateria)占19.2%,丝足虫类(Cercozoa)占9.6%,主要为单鞭毛虫(*Cercomonas*)占1.9%,异花苔草菌(*Heteromita*)占1.9%,前列腺瘤菌(*Proleptomonas*)占1.9%等(图3和4)。

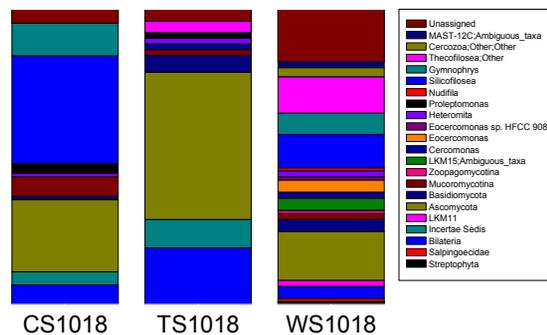


图4 不同样品在目水平上真核生物组成柱状图

样品 WS1018 中,构成真核生物群落的主要为丝足虫类(Cercozoa)占 44.3%,其中主要为硅藻属(*Silicofilosea*)占 11.3%,裸子苔草菌(*Gymnophrys*)占 7.2%,欧氏鳄菌属(*Eocercomonas*)占 4.1%,单鞭毛虫(*Cercomonas*)占 2.1%,其它类群比例大都在 1%~3%之间;其次为真菌(Fungi)占 29.9%,其中主要为子囊菌门(Ascomycota)占 16.5%,其次是担子菌门(Basidiomycota)占 4.1%,模糊类群(Ambiguous taxa)占 4.1%,其它的都在 1%~3%之间;其它依次为后生动物类(Metazoa(Animalia))的两侧对称动物(Bilateria)占 4.1%;不等鞭毛类(Stramenopiles)的模糊类群(Ambiguous taxa)占 2.1%;其它类群均为 1%左右(图 3 和图 4)。在样品 WS1018 中主要的优势类群为子囊菌门(Ascomycota)占 16.5%,硅藻属(*Silicofilosea*)占 11.3%,裸子苔草菌(*Gymnophrys*)占 7.2%,欧氏鳄菌属(*Eocercomonas*)占 4.1%,担子菌门(Basidiomycota)占 4.1%,模糊类群(Ambiguous taxa)占 4.1%,两侧对称动物(Bilateria)占 4.1%等。

样品 CS1018 中,构成真核生物群落结构的主要为丝足虫类(Cercozoa)占 52.2%,其中硅藻属(*Silicofilosea*)占 36.7%,其它依次是裸子苔草菌(*Gymnophrys*)占 11.1%,前列腺瘤菌(*Proleptomonas*)占 3.3%,异花苔草菌(*Heteromita*)占 1.1%;其次为真菌(Fungi)占 36.7%,子囊菌门(Ascomycota)占大多数,为 24.4%,霉菌亚门(*Mucoromycotina*)占 6.7%,担子菌门(Basidiomycota)仅占 1.1%,未定种(*Incertae Sedis*)占 4.4%;接着是后生动物(Metazoa(Animalia))的两侧对称动物(Bilateria)占 6.7%;其它未定义的物种占 4.4%(图 3 和图 4)。主要的优势种群为硅藻属(*Silicofilosea*)占 36.7%,子囊菌门(Ascomycota)占 24.4%,裸子苔草菌(*Gymnophrys*)占 11.1%,霉菌亚门(*Mucoromycotina*)占 6.7%,两侧对称动物(Bilateria)占 6.7%,前列腺瘤菌(*Proleptomonas*)占 3.3%,未定种(*Incertae Sedis*)占 4.4%等。

### 3 讨论

近年来,随着对环境保护意识的增强,以及国家相关环境保护政策的出台,各个高校越来越多的研究朝着应用的方向发展,尤其是向着绿色健康无污染的环境友好型发展。我国是农业大国,也是森林面积覆盖率较多的国家之一,每年因农作物生产而产生大量的作物秸秆以及林业发展产生许多废弃木材,目前处理这些农业废弃物的主

要方法就是焚烧。但是通过焚烧产生的大量 CO<sub>2</sub> 气体以及颗粒性粉尘,不但浪费了大量的生物资源,还给生活环境造成污染,最有效的解决方法就是将这些农业废弃物转化为人类能够利用的物质<sup>[1-2]</sup>。随着可持续发展观念的普及,农业生产水平的提升使得农作物秸秆也逐渐增多,然而土地的肥力逐年降低,通过提高秸秆的还田率,从而带动整个农业生产系统的产出,实现现代农业的可持续发展<sup>[38]</sup>。同时,我国又是天然燃料稀缺的大国,每年从国外进口的石油资源非常多,而石油的燃烧又严重污染环境,寻找替代石油的可再生清洁能源是亟待解决的能源问题<sup>[11]</sup>。本研究是关于不同的天然木质纤维素降解过程中各真核生物群落的结构组成、核心种群及多样性差异,以不同碳源的农业秸秆、木材等废弃物,利用木质纤维素为原料,探究微生物在分解木质纤维素中各优势菌群,将其充分利用,把这些农业废弃物转化为需要的可再生清洁能源。这样既避免资源的浪费,又不会造成环境的污染问题。

454 和 Miseq 高通量测序是研究微生物多样性的重要手段。随着高通量测序技术不断取得新的发展,以及以 Mothur 和 QIIME 为主的分析平台的完善和成熟,将大量样品同时进行大规模的平行测序,生成大量数据,以便对不同碳源下天然木质纤维素降解过程中真核生物群落结构及多样性的认识更加全面和具体<sup>[39-41]</sup>。本文在传统的构建 18S rDNA 克隆文库挑选克隆测序的基础上,利用 QIIME 生物信息学分析平台,以及经过校正的 RDP 18S rDNA 数据库<sup>[9]</sup>,对小麦秸秆、玉米秸秆及木材腐烂样品木质纤维素降解过程中真核生物的群落结构组成、核心种群以及多样性进行分析。根据对 99 条 OTUs 代表性序列的注释结果,对比这些序列在 RDP 数据库和 NCBI 数据库 blast 的结果,验证了注释的可靠性。

本研究是通过高通量测序分析三种不同天然木质纤维素降解过程的样品真菌群落结构及物种多样性,经分析发现在天然木质纤维素自然降解过程中有三种主要的优势类群,分别为真菌(Fungi)、丝足虫类(Cercozoa)和后生动物(Metazoa(Animalia))。三种不同天然木质纤维素降解样品中真菌的组成和多样性有明显差异,其中真菌(Fungi)组成差异相对较大的主要包括子囊菌门(Ascomycota),霉菌亚门 *Mucoromycotina*,担子菌门(Basidiomycota),未定种 *Incertae Sedis* 等。丝足虫类(Cercozoa)组成差异也相对明显,主要包括 *Silico-*

*filosea*, *Gymnophrys*, *Proleptomonas*, *Heteromita*, *Eo-cercomonas*, *Cercomonas* 等六个属。研究表明,微生物常以群落的形式存在于自然界中,不同天然木质纤维素降解过程中微生物群落组成与多样性并不相同,可以合理地利用微生物各菌群之间的比值,将不同的天然木质纤维素进行最大效率地降解利用。我们的研究表明,在小麦秸秆纤维素降解过程中真菌组成和物种多样性都更高。不同的微生物群落不同木质纤维素降解过程中担负着不同的生态功能,对这些微生物的研究,将会极大地丰富我们对这些木质纤维素高效降解利用等方面的认识及应用。通过进一步了解真菌与木质纤维素降解之间的密切联系,更加高效地分解木质纤维素并对其进一步加工与利用,从而既减少了资源的浪费,又避免了环境的污染。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Qu Y B, Zhu M T, Liu K, et al. Studies on cellulosic ethanol production for sustainable supply of liquid fuel in China[J]. *Biotechnol J*, 2006, 1(11): 1235-1240.
- [ 2 ] Fang X, Shen Y, Zhao J, et al. Status and prospect of lignocellulosic bioethanol production in China[J]. *Bioresour Technol*, 2010, 101(13): 4814-4819.
- [ 3 ] 田朝光, 马延和. 真菌降解木质纤维素的功能基因组学研究进展[J]. *生物工程学报*, 2010, 26(10): 1333-1339.
- [ 4 ] 吕睿瑞, 田宝玉, 高媛媛, 等. 不同地区森林土壤降解天然木质纤维素能力的分析评价[J]. *生物技术*, 2010, 20(2): 77-80.
- [ 5 ] Carlile M J, Watkinson S C, Gooday G W. *The fungi* (second edition)[M]. New York, USA: Academic Press, 2001: 297-356.
- [ 6 ] Béguin P, Aubert J P. Cellulose degradation by *Clostridium thermocellum*: from manure to molecular biology[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 1992, 100(1-3): 523-528.
- [ 7 ] Malherbe S, Cloete T E. Lignocellulose biodegradation: Fundamentals and applications[J]. *Reviews in Environmental Science and Bio-Technology*, 2002, 1(2): 105-114.
- [ 8 ] Pérez J, Muñoz-Dorado J, Dela R T, et al. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicelluloses and lignin: an overview[J]. *International Microbiology*, 2002, 5(2): 53-63.
- [ 9 ] 严海元, 辜夕容, 申 鸿. 森林凋落物的微生物分解[J]. *生态学杂志*, 2010, 29(9): 1827-1835.
- [ 10 ] 池玉杰, 刘智会, 鲍甫成. 木材上的微生物类群对木材的分解及其演替规律[J]. *菌物研究*, 2004, 2(3): 51-57.
- [ 11 ] 方 诩, 秦玉琪, 李雪芝, 等. 纤维素酶与木质纤维素生物降解转化的研究进展[J]. *生物工程学报*, 2010, 26(7): 864-869.
- [ 12 ] 黄钦耿, 田宝玉, 黄建忠, 等. 福州森林红壤细菌的菌群结构及其功能分析[J]. *生物技术通报*, 2009(3): 132-136.
- [ 13 ] Amann R I, Ludwig W, Schleifer K H, et al. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation[J]. *Microbiological Reviews*, 1995, 59(1):144.
- [ 14 ] 魏子艳, 金德才, 邓 晔. 环境微生物宏基因组学研究中的生物信息学方法[J]. *微生物学通报*, 2015, 42(5): 897.
- [ 15 ] TIAN B Y, CAO Y, ZHANG K Q. Metagenomic insights into communities, functions of endophytes, and their associates with infection by root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in tomato roots[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5:17087.
- [ 16 ] Peiffer J A, Spor A, Koren O, et al. Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110(16):6548-6549.
- [ 17 ] Turner T R, James E K, Poole P S. The plant microbiome[J]. *Genome Biology*, 2013, 14:209.
- [ 18 ] Vikman M, Karjomaa S, Kapanen A, et al. The influence of lignin content and temperature on the biodegradation of lignocellulose in composting conditions[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2002, 59: 591-598.
- [ 19 ] Lin Y, Tanaka S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, 69(6): 627-642.
- [ 20 ] Yoon S H, Ha S M, Kwon S, et al. Introducing EzBioCloud: A taxonomically united database of 16S rRNA and whole genome assemblies[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2017, 67(5): 1613-1617.
- [ 21 ] Jeon Y S, Lee K, Park S C, et al. EzEditor: a versatile sequence alignment editor for both rRNA- and protein-coding genes[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, 64(2):689-691.
- [ 22 ] Will C, Thurmer A, Wollherr A, et al. Horizon-specific bacterial community composition of German grassland soils, as revealed by pyrosequencing-based analysis of 16S rRNA genes[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 2010, 76(20):6751-6759.
- [ 23 ] 周俊雄. 天然木质纤维素降解机制的宏基因组学和宏蛋白质组学分析[D]. 福州: 福建师范大学, 2015.
- [ 24 ] Yang C, Liu H, Li G, et al. The MADS-box transcription factor *FgMcm1* regulates cell identity and fungal development in *Fusarium graminearum*[J]. *Environmental Microbiology*. 2015, 17(8):2762 - 2776.
- [ 25 ] Lynd L R, Weimer P J, van Zyl W H, et al. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2002, 66(3): 506.
- [ 26 ] Hammel K E. Fungal degradation of lignin[J]. *G. Cadish and GE Giller*, 1997, 1:33-45.
- [ 27 ] Osono T. Ecology of ligninolytic fungi associated with leaf litter decomposition[J]. *Ecological Research*, 2007, 22(6): 955-974.
- [ 28 ] Gomes A P S, Araújo J V. *Arthrobotrys robusta* in biological control of bovine nematode gastrointestinal parasites[J]. *Rev. bras. ciênc. vet.*, 2000, 7(2): 69-73.
- [ 29 ] Jaffee S R, Caspi A, Moffitt T E, et al. Physical Maltreatment Victim to Antisocial Child: Evidence of an Environmentally Mediated Process[J]. *Journal of Abnormal Psychology*, 2004, 113(1): 44-55.

- [30] Pfister D H. *Orbilbia fimicola*, a nematophagous discomycete and its *Arthrobotrys* anamorph[J]. *Mycologia*, 1994, 86(3): 451-453.
- [31] Pramer D. Nematode-Trapping Fungi[J]. *Science*, 1964, 144: 382-388.
- [32] Osono T. Effects of prior decomposition of beech leaf litter by phyllosphere fungi on substrate utilization by fungal decomposers[J]. *Mycoscience*, 2003, 44(1): 41-45.
- [33] Gawande P V, Kamat M Y. Production of *Aspergillus* xylanase by lignocellulosic waste fermentation and its application[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 1999, 87(4):511-519.
- [34] Okada G. Purification and Properties of a Cellulase from *Aspergillus niger*[J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1985, 49(5):1257-1265.
- [35] Quirce S, Cuevas M, Diez-Gomez M L, et al. Respiratory allergy to *Aspergillus*-derived enzymes in bakers' asthma[J]. *Journal of allergy and clinical immunology*, 1992, 90(6):970-978.
- [36] De R V, Visser J, De L G. CreA modulates the XlnR-induced expression on xylose of *Aspergillus niger* genes involved in xylan degradation[J]. *Research in Microbiology*, 1999, 150(4): 281-285.
- [37] Park Y, Kang S, Lee J, et al. Xylanase production in solid state fermentation by *Aspergillus niger* mutant using statistical experimental designs[J]. *Applied microbiology and biotechnology*, 2002, 58(6): 761-766.
- [38] 李万良, 刘武仁. 玉米秸秆还田技术研究现状及发展趋势[J]. *吉林农业科学*, 2007, 32(3): 32-34.
- [39] Edwards J, Johnson C, Santos-Medellin C, et al. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015, 112(8): E911-E920.
- [40] Mendes L W, Kuramae E E, Navarrete A A, et al. Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere [J]. *The International Society for Microbial Ecology Journal*, 2014, 8(8): 1577-1578.
- [41] Berg G, Smalla K. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere [J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2009, 68(1): 1-13.

(责任编辑:王 昱)

\*\*\*\*\*

## 2019年《现代园艺》征订、征稿启事

中国核心期刊(遴选)数据库 中文科技期刊数据库 中国学术期刊综合评价数据库统计期刊  
中国期刊网全文收录期刊 江西省优秀期刊 龙源期刊网收录期刊

《现代园艺》聚集当代果树林木、瓜果蔬菜、药材菌菇、花卉园林、景观设计等先进科技信息,预测市场发展动态,生产与营销并重,突出新产品、新技术、新成果、新情况、新观点、新经验,交流致富信息,传播成功范例,信息量大,针对性强,引导广大农民发家致富。国内外公开发行,是目前最具影响力的综合性园艺科技期刊之一。

热忱欢迎广大园艺园林生产企业、科研院所、大中专院校、农技推广等工作、管理员、专业户及爱好者赐稿、订阅。全国各地邮局均可订阅,邮发代号:44-114,,全年12期,每期定价8元(全年96元)。国内统一刊号:CN 36—1287/S,国际标准刊号:ISSN 1006—4958。

**汇款地址:**江西省樟树市双金 《现代园艺》杂志社 **邮编:**331213

**杂志社电话:**0795-7831008(编辑部)、7831108(发行部)

**投稿邮箱:**xdyy008@126.com **广告邮箱:**xdyy008@163.com

**现代园艺QQ群:**132644508 206684182 **杂志官网:**www.xdyzss.com