

链孢囊菌利用纤维素形成菌体及其碱提取组分研究

田相玲, 窦森*, 李艳, 崔婷婷, 于森

(吉林农业大学资源与环境学院, 长春 130118)

摘要:通过液体摇床振荡培养实验,获得了链孢囊菌降解纤维素形成的菌体,采用元素组成、差热分析和红外光谱法,初步研究其化学结构和碱提取组分碳的分配状况,旨在探索链孢囊菌降解纤维素后是否能形成腐殖质及其碱提取组分是否为腐殖质组分。结果表明:(1)链孢囊菌降解纤维素后形成的菌体各组分碳量的分配主要集中于“水溶性组分”与“碱溶酸不溶组分”(相当于类胡敏酸)、“碱溶酸溶组分”(相当于类富里酸)最少,培养后期(38~60 d)各组分碳,随着培养时间的延长,先形成“碱溶酸溶组分”后转化为“碱溶酸不溶组分”的速率减慢;(2)接种链孢囊菌后,培养初期(7~28 d),菌体 C 含量、H/C、O+S/C、放热高/中比,均呈现不规律的动态变化,培养后期(38~60 d),随着培养时间的延长,菌体缩合程度升高,氧化程度降低,芳香性增强;(3)菌体(60 d)的 H/C、O+S/C 均高于黑土胡敏酸(HA),而菌体的 C 含量、放热高/中比均低于黑土胡敏酸(HA),且分子结构较黑土胡敏酸(HA)简单。

关键词:链孢囊菌;纤维素;菌体结构特征;碱提取组分

中图分类号:S154.3 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2014)04-0744-07 doi:10.11654/jaes.2014.04.018

Characteristics of *Streptosporangium* Mycelia and Their Alkali Extractable Components During Cellulose Decomposition

TIAN Xiang-ling, DOU Sen*, LI Yan, CUI Ting-ting, YU Miao

(College of Resources and Environmental Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: It has been observed that *Streptosporangium* sp. grow on decomposing cellulose. In this study, using elementary analysis, differential thermal analysis and infrared spectrometry, we examined the chemical structure of the mycelia of *Streptosporangium* sp. during cellulose decomposition. Carbon-containing components of alkali extraction from the mycelia were analyzed by modified humus composition method. The production rate of mycelia increased significantly with incubation time. The carbon in alkali extracts of the mycelia was mainly in “water-soluble” and “alkali-soluble but acid-insoluble (humic acid)” fractions. However, there was little carbon in “alkali soluble and acid soluble (fulvic acid)” fraction. During the 38th~60th day of incubation, C in “alkali soluble and acid soluble” and “residue (equivalent of humin)” increased, but the proportion of “alkali-soluble but acid-insoluble” to alkali-extractable fraction decreased gradually with incubation time, indicating slowdown in formation of “alkali soluble but acid insoluble components”. At later stage of incubation (38~60 d), mycelia had reduced oxidation but increased condensation and aromaticity. The C/N, H/C, and O+S/C molar ratios of *Streptosporangium* sp. mycelia (60 d) were higher, but C content and exothermal high to medium ratios were lower than those of humic acid from black soil. The mycelia had relatively simple molecular structure as compared to humic acid from black soil. A longer incubation time is necessary to determine whether during cellulose decomposition *Streptosporangium* could produce substances that have similar properties and structures to humic acid from black soil.

Keywords: *Streptosporangium* sp.; cellulose decomposition; mycelium structure characteristics; alkali-extractable components

收稿日期:2013-09-12

基金项目:国家自然科学基金项目(40971141)

作者简介:田相玲(1986—),女,硕士研究生,从事土壤微生物及生物化学研究。E-mail:Tianxiangling4747@163.com

*通信作者:窦森 E-mail:dousen@tom.com

土壤微生物参与多种生化反应过程,是有机物的主要分解者,在陆地生态系统养分循环中扮演着重要角色^[1]。Gleixner等^[2]认为,土壤中不同来源的化合物(如碳水化合物、纤维素和木质素等)会不同程度地参与地球生物化学循环过程,在调节陆地生态系统功能方面扮演着重要角色^[3]。纤维素作为不溶于稀酸和稀碱^[4]的多糖资源丰富,研究细菌和真菌降解纤维素的提取物较多,例如:麦克拉伦等^[5]从真菌中提取出腐植酸类的多聚物,其性质类似灰色胡敏酸;科诺诺娃等^[6]在以蔗糖为唯一碳源的培养基上接种真菌(*Aspergillus niger*, *Penicillium*), 可以看到培养基上有暗色类腐殖物质生成。在放线菌培养中也有同样现象,通过分析提取出的类腐殖物质的紫外光谱,也可看出新形成的类腐殖物质的复杂性,其具有含氮结构和芳香族本质。土壤中分解纤维素的放线菌只有2.0%~4.4%,且其降解纤维素的能力不及真菌,但由于其耐高温和各种酸碱度,在不利条件下如堆肥的高温阶段,放线菌会对纤维素的分解起重要作用,已有研究表明在堆肥后期,放线菌对木质素的降解起着主要作用^[7],特别是链孢囊菌、灰色链霉菌和李色链霉菌对纤维素的分解作用^[8]。链孢囊菌属(*Streptosporangium*)是库奇于1955年建立的,是游动放线菌科中较重要的一个属,在我国的土壤中有广泛的分布。夏国模等^[9]进行不同耕作制度稻田的土坡微生物区系分析工作时,在测定好气性纤维素分解菌的数量用的培养基上发现有链孢囊菌生长。目前,对纤维素降解菌筛选已有大量的研究报道^[10-11,24],但是主要集中在真菌如木霉、青霉对纤维素的降解上,而在土壤以外的场所进行以纤维素为唯一碳源的纯培养,用现代分析技术手段,以土壤胡敏酸为对照,比较不同培养时间形成菌体的各组分碳量变化和结构特征变化,尚未见报道。本文通过液体摇床振荡培养实验,探讨链孢囊菌降解纤维素后形成菌体的碱提取组分和结构特征,探索其降解纤维素后是否能形成腐殖质及其碱提取组分是否为腐殖质组分,旨在为实现纤维素的资源化利用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 供试菌种

供试菌种为链孢囊菌属的一个菌株(*Streptosporangium* sp.),属高温放线菌,也为常温土壤的优势种群^[12],由崔俊涛等从吉林农业大学试验田的黑土中分离出来的。

1.2 培养基

纤维素:羧甲基纤维素钠,货号为20101227,分子式为 $RnOCH_2COONa$ 。

纤维素液体培养基:NaNO₃ 2.0 g, K₂HPO₄ 1.0 g, KCl 0.5 g, MgSO₄ 0.5 g, FeSO₄·0.01 g, 羧甲基纤维素钠 14.4 g, 水 1000 mL, 不用调pH。

实验所用试剂均购自天津市科密欧化学试剂有限公司,分析纯级别。

1.3 试验设计

本试验共设8个处理,每个处理以纤维素为唯一碳源,包括链孢囊菌不同培养时间的7个处理和一个不加菌的纤维素处理,每个处理设3次重复。500 mL三角瓶装纤维素液体培养基200 mL,121℃灭菌20 min,将链孢囊菌菌悬液20 mL接种到200 mL纤维素液体培养基中,置于28~30℃、180~200 r·min⁻¹摇床上振荡培养,获得不同培养时间(7、14、21、28、38、48、60 d)的产物,同时设纤维素为对照组CK。

1.4 测定方法

1.4.1 链孢囊菌的纯化与扩培

配制高氏一号培养基,121℃灭菌20 min,采用划线法将链孢囊菌纯化,利用稀释平板法扩培,并于28~30℃恒温培养箱内培养。

1.4.2 培养及取样方法

向液体培养基里加菌液前,要对菌液进行预处理,配制预培养菌悬液。将预培养菌悬液20 mL接入到装有200 mL液体培养基的三角瓶中,按照培养的天数取样,高速离心(16 000 r·min⁻¹)15 min,沉淀为菌体-残余基质混合物,其中可能含有菌体、残余基质、新形成的类腐殖物质和少量的细胞代谢产物,但大部分为菌体,故简称为“菌体”。50℃烘干后过0.25 mm筛,备用。

1.4.3 菌体碱提取组分的提取

采用腐殖质组成修改法^[16]。

1.4.4 相关参数的计算

(1)产率表示离心后得到的菌体占加入基质(纤维素)的百分数;

(2)菌体碱提取物组分相对碳量(%)可以表述为各组分碳占总碳的百分比,其中总碳指的是元素分析仪测得的菌体碳的含量。

1.4.5 菌体结构性质的测定

元素组成用元素分析仪(德国Elementar Vario EL-CHN)测定;热性质用日本岛津TA-60差热分析仪测定;红外光谱(IR)用美国NICOLET-AV360型红

外光外光谱仪,采用 KBr 压片法^[5]测定。

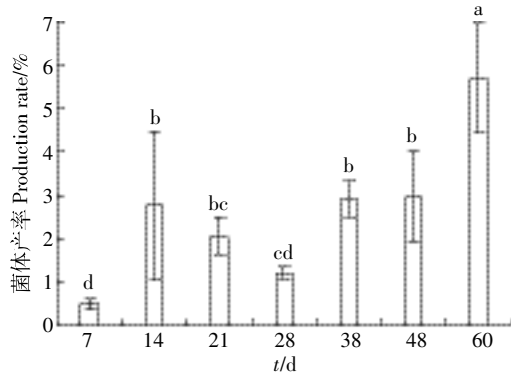
1.5 数据处理

经 Excel 2003 整理,用 DPS9.50 统计软件进行 Duncan 新复极差 5%水平的差异显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 不同培养时间链孢囊菌分解纤维素形成菌体的产率

不同培养时间,链孢囊菌分解纤维素后形成菌体(见 1.4.2“菌体”)的产率如图 1。可以看出,接种链孢囊菌后,培养初期(7~28 d),菌体产率先升高后降低,说明菌体能够利用纤维素合成自身结构,之后产率降低。这可能是因为纤维素的粗纤维致密结构^[4]导致菌体培养初期无法利用纤维素,造成菌体大量死亡,菌体为了适应新的培养环境,呈现这种变化。在培养后



不同小写字母表示同一菌种在不同培养时间 5%显著水平的差异显著

Different lowercase letters represent significant difference at 5% level

图 1 链孢囊菌在纤维素纯培养中菌体产率的动态变化

Figure 1 Dynamic changes of mycelium production of *Streptosporangium* sp. during incubation with cellulose

期(38~60 d),随着培养时间的延长,菌体产率显著增加,说明链孢囊菌分解纤维素后合成了自身结构,扩展了种群数量,形成了新的菌体。

2.2 不同培养时间链孢囊菌分解纤维素形成菌体的碱提取物组成

于贵芬等^[13]研究表明土壤微生物能促使根系周围有机物形成腐植酸及养分转化的各个生化过程^[14-15],基于这一结论,我们采用土壤腐殖质的提取方法^[16],对链孢囊菌分解纤维素后形成的组分进行研究。

链孢囊菌碱提取物各组分的相对碳量列于表 1。从表 1 可见,除残渣碳外,“水溶性组分”碳相对含量占的比例较大,进一步证明了水溶性组分受微生物影响强烈^[17-18]。其他组分碳量的分配主要集中于“碱溶酸不溶组分”(相当于类胡敏酸)上,“碱溶酸溶组分”(相当于类富里酸)最少,这与大多数土壤腐殖质组分碳的分配状况是一致的^[19-20,23]。各组分碳在培养初期(7~28 d)并无规律。培养后期(38~60 d),“碱溶酸溶组分”碳和“残渣”(相当于类胡敏素)碳,随着培养时间的延长,逐渐升高;其他组分碳和“碱溶酸不溶组分”碳占“碱溶性组分”碳的比例,随着培养时间的延长,逐渐下降,说明随着培养时间的延长,链孢囊菌分解纤维素后,先形成“碱溶酸溶组分”然后转化为“碱溶酸不溶组分”的速度减慢。

2.3 形成菌体的结构特征

2.3.1 元素组成

通常 H/C 和(O+S)/C 表征有机物质的缩合度和氧化度^[20-21],它们能反应有机物质分子结构的复杂程度。表 2 为链孢囊菌分解纤维素后形成菌体的元素组成。由表 2 可知,在培养初期(7~28 d),菌体 C 的范围为

表 1 链孢囊菌分解纤维素后形成菌体的各组分相对碳量(%)

Table 1 Relative carbon contents of *Streptosporangium* sp. mycelia during cellulose decomposition(%)

处理	水溶性物质-C	碱溶酸不溶组分-C	碱溶酸溶组分-C	残渣-C	碱溶酸不溶组分-C/碱溶组分-C
F1-7d	34.58±1.08b	12.05±0.96a	2.896±0.65b	50.48±1.92b	80.61±4.25bc
F1-14d	44.82±23.19ab	12.86±3.11a	2.992±1.36b	39.33±24.60b	80.32±10.87bc
F1-21d	61.01±12.00a	12.36±1.26a	1.485±0.85b	25.15±12.73b	89.34±5.62ab
F1-28d	40.14±10.29ab	6.13±0.97b	2.033±0.82b	51.70±10.67b	75.37±8.29c
F1-38d	61.13±11.21a	14.48±1.30a	1.307±0.24b	23.09±11.80b	91.75±0.97a
F1-48d	15.74±0.11bc	12.95±0.47a	1.376±0.48b	41.21±35.70b	90.48±2.85ab
F1-60d	5.71±0.28c	3.06±0.28c	1.799±0.11b	89.44±0.08a	62.88±3.18d
X	—	1.45±0.50c	54.370±16.70a	—	2.60±0.26e

注:平均值±标准差;同列数值后不同字母表示差异达 5%显著水平;F1 代表链孢囊菌,X 代表纤维素;碱溶酸不溶组分 C/碱溶组分 C(%)为碱溶酸不溶组分碳的含量与碱溶组分碳含量的百分比。

Note: Means ± SE. Values followed by different letters in the same column mean significant difference at 5% level. F1 represents *Streptosporangium* sp., X represents cellulose. Alkali soluble acid but insoluble components C/alkali soluble components of carbon(%) for carbon content of alkali soluble but acid insoluble components and carbon content of alkali soluble components(percentage).

表2 链孢囊菌分解纤维素后形成菌体的元素组成

Table 2 Element composition of mycelia of *Streptosporangium* sp. during cellulose decomposition

处理	C/g·kg ⁻¹	H/g·kg ⁻¹	N/g·kg ⁻¹	(O+S)/g·kg ⁻¹	(C/N)/mol	(H/C)/mol	[(O+S)/C]/mol
F1-7 d	531.0±16.4a	86.6±2.3a	56.92±7.00a	325.5±25.4c	10.97±1.03a	1.958±0.009a	0.461±0.049c
F1-14 d	439.2±42.7bc	74.4±8.0b	56.49±12.66a	429.8±62.8ab	9.28±1.40ab	2.033±0.060a	0.746±0.187abc
F1-21 d	446.5±37.5bc	74.6±4.8b	52.32±2.51a	426.4±44.2ab	9.95±0.52ab	2.012±0.062a	0.724±0.132abc
F1-28 d	390.5±60.9bc	66.2±8.5b	53.97±9.54a	489.3±77.0a	8.51±0.93c	2.041±0.094a	0.970±0.292a
F1-38 d	433.1±31.3bc	73.8±4.1b	54.89±11.00a	438.2±46.0ab	9.36±1.18ab	2.047±0.033a	0.765±0.129ab
F1-48 d	457.6±16.9bc	76.3±3.7b	65.61±1.77a	400.5±21.2abc	8.14±0.31c	2.001±0.033a	0.658±0.060bc
F1-60 d	461.7±10.1bc	75.7±1.7b	64.66±6.07a	397.9±10.6bc	8.38±0.85c	1.968±0.002a	0.647±0.030bc
X	339.5	61.6	4.49	594.5	88.13	2.178	1.313
HA	581.1	47.4	32.80	338.7	20.67	0.978	0.437

注:平均值±标准差;同列数值后不同字母表示差异达5%差异水平;C(g·kg⁻¹)为每千克菌体中有机碳的含量,F1代表链孢囊菌,X代表纤维素,HA代表黑土胡敏酸。

Note: Means±SE. Values followed by different letters in the same column mean significant difference at 5% level, C(g·kg⁻¹) represents organic carbon content of per kilogram mycelia, F1 represents *Streptosporangium* sp., X represents cellulose, HA represents humic acid of black soil.

390.5~531.0 g·kg⁻¹, H/C 的范围为 1.958~2.041 mol, (O+S)/C 为 0.461~0.970 mol, 均呈现不规则的波动变化, 造成这种变化的原因可能是链孢囊菌为了适应新的培养环境, 一般不能立即繁殖, 而是处于裂解与合成的交替过程。培养后期(38~60 d), 菌体 C 含量逐渐增加, H/C 逐渐降低, 表明培养后期菌体的缩合程度升高; (O+S)/C 逐渐降低, 表明随着培养时间的延长, 菌体氧化程度降低。不同培养时间 C/N 为 8.139~10.966 mol, 均低于黑土 HA 和纤维素的 C/N, 这是因为菌体分解纤维素的過程中含碳物质和含氮物质发生变化, 导致分解过程中菌体 C/N 变化, 菌体在一定程度上对氮素有储备作用, 在分解纤维素的過程中释放氮素。国内已有一些实验表明^[20], 土壤微生物能固持一部分氮素, 在一定条件下, 微生物所固持的这部分氮素能逐渐释放出来。菌体 C/N 远低于纤维素, 表明菌体中混杂的纤维素少。培养 60 d 时, 菌体 H/C 值为 1.968 mol、(O+S)/C 为 0.647 mol, 与黑土 HA 的 H/C 值 0.978 mol、(O+S)/C 值 0.437 mol 相比, 仍较高; 菌体 C 含量值为 461.7 g·kg⁻¹, 与黑土 HA 的 C 含量 581.1 g·kg⁻¹ 相比, 仍较低。这就要求我们在今后的研究中, 可以通过延长培养时间, 观察其是否能达到黑土 HA 的指标。

2.3.2 热性质

差热分析(DTA)技术已被用于有机质、复合体、FA-金属络合物和 HA 的研究等^[22], 如图 2 所示, 样品的峰形大体相同, 都存在着一个低温吸热峰、中温放热峰和高温放热峰, 说明菌体中含有芳香成分, 且随着温度上升逐渐变化, 110 °C 之前, 菌体低温吸热, 失

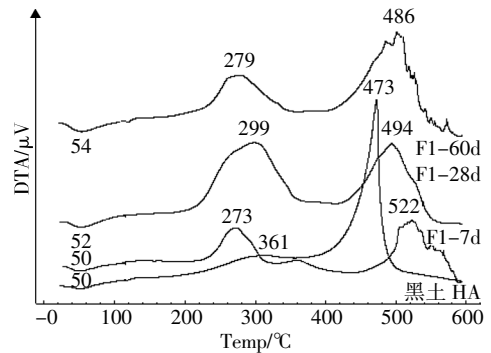


图2 链孢囊菌利用纤维素形成菌体的 DTA 曲线

Figure 2 Differential thermal analysis curves of mycelia of *Streptosporangium* sp. during cellulose decomposition

去水分^[16]。结合差热和热重表 4 和表 5 分析, 在 270~350 °C 的中温放热阶段, 发现菌体不同培养时间都有一个放热峰, 说明菌体中的有机物质挥发燃烧, 产生热量, 即脂族化合物的分解和外围官能团的脱羧等导致的放热反应, 在 350 °C 以上的高温放热阶段, 伴随着重量的损失, 菌体中挥发出的物质完全氧化和分子内部芳香化合物分解的结果^[16]。从不同培养时间的链孢囊菌菌体和黑土 HA 的 DTA 曲线(图 2)可以看出, 中温放热峰峰温随培养时间的延长, 峰温较为接近, 但低于黑土 HA 和纤维素, 说明其化学键的断裂需要的温度较低, 热稳定性差; 高温放热峰峰温随培养时间的延长, 峰温降低, 培养 60 d 时, 峰温高于黑土 HA, 说明高温区新形成的菌体结构的热稳定性高。

一般来说, 高/中比可以反映物质芳香性与脂族性的相对变化。由表 3 可知, 在培养初期(7~28 d), 高/中放热比并无规律, 而培养后期(38~60 d), 其值随着

表3 链孢囊菌利用纤维素形成菌体的反应热(半定量)

Table 3 Exotherm of mycelia of *Streptosporangium* sp. during cellulose composition(Semi-quantitative)

处理	中温放热量 (H2)/kJ·g ⁻¹	高温放热量 (H3)/kJ·g ⁻¹	中温放热 峰温/°C	高温放热 峰温/°C	H3/H2
F1-7d	5.52	3.63	273	522	0.658
F1-14d	11.04	5.73	311	491	0.519
F1-21d	10.75	3.56	304	497	0.331
F1-28d	14.35	12.69	299	494	0.884
F1-38d	5.02	0.65	279	486	0.129
F1-48d	13.46	3.68	312	481	0.273
F1-60d	5.17	8.01	279	486	1.549
HA	3.42	29.83	361	473	8.722

注:F1代表链孢囊菌,HA代表黑土胡敏酸。

Note:F1 represents *Streptosporangium* sp.,HA represents humic acid of black soil.

培养时间的延长逐渐升高,说明芳香性逐渐增强。培养60 d时,菌体高/中比为1.55,低于黑土HA的8.72,表明链孢囊菌培养到60 d时的芳香性较黑土HA弱。

发生放热反应的同时,一定会伴随着重量的损失,表4所示为各阶段的失重情况。各个处理的失重量主要在中高温放热阶段,中温放热阶段占的比例较大,且各处理菌体失重情况处于波动变化,培养60 d时达到最大,中温处新形成的链孢囊菌>黑土HA,高温处黑土HA>新形成的链孢囊菌,说明培养60 d时,新形成的链孢囊菌的芳香结构较黑土HA少。

2.3.3 红外光谱

红外光谱可以提供分子结构和官能团等方面信息^[22],对红外光谱的分析可知,每一种官能团都有固

表4 链孢囊菌利用纤维素形成菌体的失重分析(半定量)

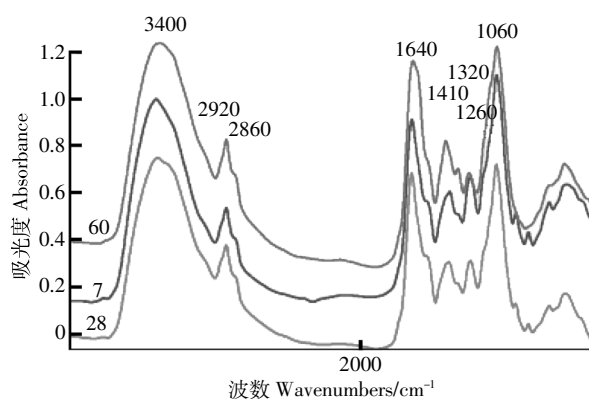
Table 4 Weight loss of mycelia of *Streptosporangium* sp. during cellulose decomposition(%)(Semi-quantitative)

处理	低温失重(W1)/%	中温失重(W2)/%	高温失重(W3)/%	W3/W2
	0~110 °C	110~330 °C	330~600 °C	
F1-7d	9.37	34.71	13.29	0.383
F1-14d	7.26	40.2	17.28	0.430
F1-21d	8.49	40.43	18.39	0.455
F1-28d	7.35	42.02	25.79	0.614
F1-38d	7.3	30.81	11.1	0.360
F1-48d	7.65	46.2	15.26	0.330
F1-60d	8.88	29.88	21.41	0.717
HA	7.47	25.34	56.63	2.235

注:F1代表链孢囊菌,HA代表黑土胡敏酸。

Note:F1 represents *Streptosporangium* sp.,HA represents humic acid of black soil.

定的吸收峰^[22]。我们对不同培养时间菌体和黑土HA进行了红外光谱分析,由图3可见,在不同培养时间,链孢囊菌的红外谱图具有相似的特征,在3400 cm⁻¹(带羟基O-H振动)、2920~2860 cm⁻¹(脂族C-H的伸缩振动)、1640 cm⁻¹(芳香C=C的伸缩振动)和1410 cm⁻¹、1260 cm⁻¹、1060 cm⁻¹等附近均有特征吸收带,但其吸收强度不同。与黑土HA(图4)相对照,主要区别为菌体在1720 cm⁻¹(羧基C=O伸展)不存在吸收峰,在1320 cm⁻¹存在吸收峰,表明链孢囊菌利用纤维素形成的菌体与黑土HA存在差距,这就要求我们在今后的研究中进一步分析菌体成分。



7、28、60 分别表示不同培养时间(d)

7, 28 and 60 respectively represent incubation time(d)

图3 链孢囊菌分解纤维素形成菌体的红外光谱

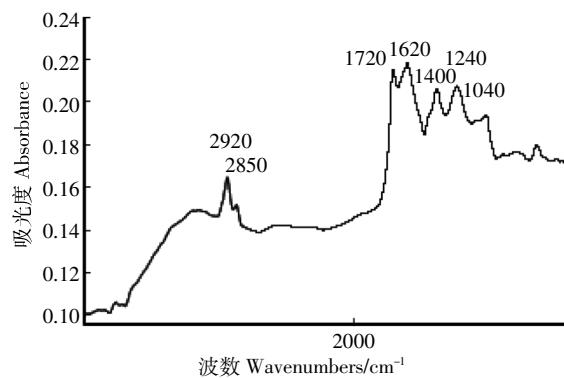
Figure 3 IR spectra of mycelia of *Streptosporangium* sp. during cellulose decomposition

图4 黑土HA的红外光谱

Figure 4 IR spectrum of HA of black soil

由表5可知,不同培养时间链孢囊菌分解纤维素后形成菌体的2920/1640比值呈先升高后下降的趋势,培养进行到60 d时,其值降到0.08,说明此时菌体混合物脂族性弱。这与李自刚等^[25]关于堆肥过程中物质碳水化合物和脂肪族化合物分解较快的结论是一致的。

表5 链孢囊菌利用纤维素形成菌体的IR光谱主要吸收峰的相对强度(半定量)

Table 5 Relative intensity of main absorption peaks of IR spectra of mycelia of *Streptosporangium* sp. during cellulose decomposition (Semi-quantitative)

处理	3400 cm ⁻¹	2920 cm ⁻¹	1640 cm ⁻¹	1410 cm ⁻¹	1260 cm ⁻¹	1060 cm ⁻¹	2920/1640
F-7d	259.16	7.06	37.79	10.73	9.22	62.25	0.187
F-14d	56.87	2.02	8.91	1.72	1.19	20.38	0.227
F-21d	100.93	2.15	26.91	5.18	2.25	28.23	0.080
F-28d	232.46	6.83	38.17	9.26	6.45	59.25	0.179
F-38d	128.59	2.27	34.54	8.50	2.44	37.97	0.066
F-48d	354.22	11.89	62.59	13.31	14.43	99.3	0.190
F-60d	281.23	7.79	94.23	14.20	4.03	94.42	0.083
HA	—	0.79	—	—	1.34	0.77	—

注:F1代表链孢囊菌,HA代表黑土胡敏酸。

Note:F1 represents *Streptosporangium* sp., HA represents humic acid of black soil.

3 结论

(1)链孢囊菌分解纤维素后形成的菌体经腐殖质组分提取后得到的各组分碳量的分配主要集中于“水溶性组分”与“碱溶酸不溶组分”,“碱溶酸溶组分”碳最少。培养后期(38~60 d)各组分碳,随着培养时间的延长,先形成“碱溶酸溶组分”然后转化为“碱溶酸不溶组分”的速度减慢。

(2)通过元素组成、差热分析和红外光谱分析,接种链孢囊菌后,培养初期(7~28 d)菌体C含量、H/C和(O+S)/C、放热高/中比,均呈现不规律的动态变化。培养后期(38~60 d)菌体,随着培养时间的延长,缩合程度增高,氧化程度降低,芳香性增强。

(3)与黑土HA相比,培养60 d时,纤维素接种链孢囊菌后形成的菌体,缩合度较低,氧化度较高,芳香性较低,分子结构仍较黑土简单。根据培养后期的变化趋势,可以延长培养时间,观察其是否能达到黑土HA的指标,为分析链孢囊菌分解纤维素后形成菌体是否形成腐殖质提供依据。

参考文献:

- [1] 蒋婧,宋明华.植物与土壤微生物在调控生态系统养分循环中的作用[J].植物生态学报,2010,34(8):979-988.
JIANG Jing, SONG Ming-hua. Review of the roles of plants and soil microorganisms in regulating ecosystem nutrient cycling[J]. *Journal of Plant Ecology*, 2010, 34(8):979-988.
- [2] Schulze E D, Heimann M, Harrison S, et al. Global biogeochemical cycles in the climate system[M]. San Diego: Academic Press, 2001.
- [3] Van Hees P A W, Johansson E, Jones D L. Dynamics of simple carbon compounds in two forest soils as revealed by soil solution concentrations and biodegradation kinetics[J]. *Plant and Soil*, 2008, 310(12):11-23.

- [4] 陈洪章.纤维素生物技术[M].北京:化学工业出版社,2005.

CHEN Hong-zhang. Cellulose biotechnology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.

- [5] A. D. 麦克拉伦,等.土壤生物化学[M].北京:科学出版社,1984.

McLaren A D, et al. Soil biochemistry[M]. Beijing: Science Press, 1984.

- [6] M. M. 科诺诺娃,等.土壤有机质[M].北京:科学出版社,1966.

Kononova M M, et al. Soil organic matter[M]. Beijing: Science Press, 1966.

- [7] Qi B C, Aldrich C, Lorenzen L, et al. Degradation of humic acids in a microbial film consortium from landfill compost[J]. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 2004, 43:6309-6316.

- [8] 窦森,王帅.不同微生物对形成不同腐殖质组分的差异性研究进展[J].吉林农业大学学报,2011,33(2):119-125.

DOU Sen, WANG Shuai. Review of different microorganisms effect on humus formation[J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2011, 33(2):119-125.

- [9] 夏国模,鲁小春.一种分离和测定土壤中链孢囊菌等数量的简便方法[J].湖南农学院学报,1985,6(2):106-109.

XIA Guo-mo, LU Xiao-chun. A simple and convenient method for isolating and counting members of streptosporangium in soil[J]. *Journal of Hunan Agricultural College*, 1985, 6(2):106-109.

- [10] 顿宝庆,吴薇,王旭静,等.一株高纤维素酶活力纤维素分解菌的分离与鉴定[J].中国农业科技导报,2008,10(1):113-117.

DUN Bao-qing, WU Wei, WANG Xu-jing, et al. Isolation and identification of a cellulose decomposing bacteria[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2008, 10(1):113-117.

- [11] 刘韞滔,龙传南,龙敏南,等.纤维素降解菌L206的筛选、鉴定及其产酶条件的分析[J].生物工程学报,2008,24(6):1112-1116.

LIU Wen-tao, LONG Chuan-nan, LONG Min-nan, et al. Screening, identifying of cellulose-decomposing strain L-06 and its enzyme-producing conditions[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2008, 24(6):1112-1116.

- [12] 张敬,何伟宏,等.云南干热环境可培养高温放线菌多样性及产纤维素酶活性评价[J].微生物学通报,2013,40(6):1109-1120.

ZHANG Jing, HE Hong-wei, et al. Diversity of culturable thermophilic

- actinobacteria and their producing cellulase activity in several dry-hot environments in Yunnan Province[J]. *Microbiology China*, 2013, 40(6):1109-1120.
- [13] 于贵芬, 青长乐, 等. 腐植酸结合汞的研究现状[J]. 农业环境保护, 2000, 19(4):13-15.
YU Gui-fen, QING Chang-le, et al. The current research status of humic acids-bound mercury[J]. *Agro-environmental Protection*, 2000, 19(4):13-15.
- [14] 傅声雷. 土壤生物多样性的研究概况与发展趋势[J]. 生物多样性, 2007, 15(2):109-115.
FU Sheng-lei. A review and perspective on soil biodiversity research[J]. *Biodiversity*, 2007, 15(2):109-115.
- [15] Pankhurst C E, Hawke B G, Medoald H J, et al. Evaluation of soil biological properties as potential bioindicators of soil health[J]. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 1995, 35(7):1015-1028.
- [16] 窦森. 土壤有机质[M]. 北京:科学出版社, 2010.
DOU Sen. Soil organic matter[M]. Beijing: Science Press, 2010.
- [17] 窦森, 于水强, 张晋京. 不同 CO₂ 浓度对玉米秸秆分解期间土壤腐殖质形成的影响[J]. 土壤学报, 2007, 44(3):458-466.
DOU Sen, YU Shui-qiang, ZHANG Jin-jing. Effects of carbon dioxide concentration on humus formation in corn stalked composition[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2007, 44(3):458-466.
- [18] 杨丽霞, 潘剑君. 土壤活性有机碳库测定方法研究进展[J]. 土壤通报, 2004, 35(4):502-505.
YANG Li-xia, PAN Jian-jun. Progress in the study of measurements of soil active organic carbon pool[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2004, 35(4):502-505.
- [19] Hofrichter M, Steinbuechel A. Biopolymers[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004.
- [20] 窦森. 土壤有机培肥后胡敏酸结构性性质变化规律的系统研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学, 1988.
DOU Sen. Effect of improving soil fertility by organic material application on structural characteristics of humic acids in soils[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 1988.
- [21] 牛灵安, 郝晋珉. 盐渍土熟化过程中腐殖质特性的研究[J]. 土壤学报, 2001, 38(1):114-122.
NIU Ling-an, HAO Jian-min. Characteristics of humus in maturing salt affected soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2001, 38(1):114-122.
- [22] 梁重山, 刘丛强, 党志. 现代分析技术在土壤腐殖质研究中的应用[J]. 土壤, 2001, 33(3):154-158.
LIANG Chong-shan, LIU Cong-qiang, DANG Zhi. Application of modern instruments on soil humus research[J]. *Soils*, 2001, 33(3):154-158.
- [23] 张奇春, 王光火. 施用化肥对土壤腐殖质结构特征的影响[J]. 土壤学报, 2006, 43(4):612-618.
ZHANG Qi-chun, WANG Guang-huo. Effect of chemical fertilizer on structure of soil humus[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2006, 43(4):612-618.
- [24] 吴文涛, 鞠美萍, 等. 一株纤维素降解菌的分离、鉴定及对玉米秸秆的降解特性[J]. 微生物学通报, 2013, 40(4):712-719.
WU Wen-tao, JU Mei-ping, et al. Isolation, identification and corn stalk degradation characteristics of cellulose-degrading bacterial strain NH11[J]. *Microbiology China*, 2013, 40(4):712-719.
- [25] 李自刚. 农业有机固体废物堆肥过程中微生物多样性与物质转化关系研究[D]. 南京:南京农业大学, 2006.
LI Zi-gang. The relationship of microbial diversity and the transformation of material in the composting process of agricultural organic solid wastes[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2006.
- [26] 姚槐应, 黄昌勇, 等. 土壤微生物生态学及其实验技术[M]. 北京:科学出版社, 2006.
YAO Huai-ying, HUANG Chang-yong, et al. Soil microbial ecology and its experimental technology[M]. Beijing: Science Press, 2006.