



## 研究报告

## 不同生物土壤结皮微生物组跨膜转运蛋白基因多样性及差异

张肖冲<sup>1</sup> 靳新影<sup>1</sup> 王静<sup>1,2</sup> 陈韵<sup>1</sup> 金多<sup>1</sup> 马志山<sup>1</sup> 刘建利<sup>1,2</sup> 李靖宇<sup>\*1,2</sup>

1 北方民族大学生物科学与工程学院 宁夏 银川 750021

2 宁夏特殊生境微生物资源开发与利用重点实验室 宁夏 银川 750021

**摘要:**【背景】跨膜转运蛋白在微生物转运各种物质的过程中具有重要作用。【目的】通过比较原核微生物组磷酸转移酶(phosphotransferase system, PTS)系统和腺苷三磷酸结合盒(ATP-binding cassette, ABC)转运蛋白编码基因在两种不同生物土壤结皮中(藻结皮与藓结皮)的差异,以期揭示随着生物土壤结皮的发育演替,微生物组跨膜转运物质的生物学过程中的潜在变化趋势。【方法】对腾格里沙漠东南缘的藻结皮和藓结皮 12 个样品进行宏基因组测序,参照 KEGG 数据库 PTS 系统,与 ABC 转运蛋白代谢通路进行比较并筛选相关基因,分析其差异显著性。【结果】藻结皮和藓结皮 PTS 系统和 ABC 转运蛋白编码基因的多样性一致。在生物土壤结皮中共检测到 16 种 PTS 系统的转运蛋白的编码基因,具有显著性差异的有 5 种;检测到 106 种 ABC 转运蛋白的编码基因,具有显著性差异的有 46 种,并对这 46 种转运蛋白结合的底物以及变化趋势进行了详细的描述。【结论】生物土壤结皮发育演替过程中,微生物组从环境中摄取能够增加渗透势物质的潜力总体呈现降低趋势,转运氨基酸、细胞膜和细胞壁组分的潜力总体呈现增加趋势,对于矿物离子、辅助因子、糖类和碳酸氢盐等的转运潜力总体无明显变化。需要注意的是这些转运蛋白编码基因多样性及差异与生物土壤结皮的关系还有待实验证明与解释。

**关键词:** 生物土壤结皮, 宏基因组测序, PTS 系统, ABC 转运蛋白

## Diversity and differences of transmembrane transporter genes in the microbiome between different biological soil crusts

ZHANG Xiao-Chong<sup>1</sup> JIN Xin-Ying<sup>1</sup> WANG Jing<sup>1,2</sup> CHEN Yun<sup>1</sup> JIN Duo<sup>1</sup>  
MA Zhi-Shan<sup>1</sup> LIU Jian-Li<sup>1,2</sup> LI Jing-Yu<sup>\*1,2</sup>

1 College of Biological Science &amp; Engineering, North Minzu University, Yinchuan, Ningxia 750021, China

2 Ningxia Key Laboratory of Microbial Resources Development and Applications in Special Environment, Yinchuan, Ningxia 750021, China

**Abstract:** [Background] Transmembrane transporters play important roles in the transport process of various substances by microorganisms. [Objective] By comparing the difference of genes encoding phosphotransferase system (PTS system) and ATP-binding cassette transporter (ABC transporter) in the

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (41661053); Ningxia Key Laboratory of Microbial Resources Development and Applications in Special Environment, China (2018TSW04)

\*Corresponding author: E-mail: lijingyu1986@126.com

Received: 28-08-2019; Accepted: 10-01-2020; Published online: 22-02-2020

基金项目: 国家自然科学基金(41661053); 宁夏特殊微生物资源开发与利用重点实验室研究项目(2018TSW04)

\*通信作者: E-mail: lijingyu1986@126.com

收稿日期: 2019-08-28; 接受日期: 2020-01-10; 网络首发日期: 2020-02-22

prokaryotic microbiome between cyanobacteria and moss biocrusts, it will reveal the potential change trends in the biological processes of transmembrane transport along with the developmental succession of the biological soil crusts. **[Methods]** The metagenomic sequencing was performed for twelve samples of cyanobacteria and moss biocrusts collected from the southeastern of the Tengger desert. The sequencing data was compared with PTS system and ABC transporters metabolic pathway in KEGG database, then the related genes were selected and analyzed for the comparison between biocrusts. **[Results]** The gene diversity of PTS system and ABC transporter is consistent among cyanobacteria and moss biocrusts. A total of sixteen PTS system transporter genes were detected in the biocrusts, five of which had significant difference between cyanobacteria and moss biocrusts. 106 ABC transporters-encoding genes were detected, 46 of which were significantly changed. Then we have detailed descriptions of the substrates and shift trends of these 46 transporters. **[Conclusion]** In the process of the development and succession of biological soil crusts, the microbiome had a tendency to reduce substances uptake from the environment that can increase the osmotic potential and increase the potential of amino acids, cell membrane and cell wall components transportation, while there was no significant changes in the transport of mineral ions, auxiliary factors, sugars and carbohydrates. It should be noted that the relationship between the diversity and difference of these transporter coding genes and biological soil crusts remains to be proved and explained experimently.

**Keywords:** Biological soil crusts, Metagenomic sequencing, Phosphotransferase system, ABC transporter

土地沙漠化是全球面临的主要生态环境问题, 中国是世界上受沙漠化影响最为严重的国家之一<sup>[1-2]</sup>。生物土壤结皮(biological soil crusts, BSCs)作为“沙漠生态系统工程师”, 具有调节土壤表面径流、固氮、固碳以及为植物的萌发建立栖息地等多种生态功能, 因此对于沙漠化治理具有重要作用<sup>[3-6]</sup>。BSCs 由藻类、地衣类、苔藓类等隐花植物和土壤微生物, 通过菌丝体、假根、分泌物等与土壤表面颗粒胶结合成的复合体, 其演替一般按照藻结皮、地衣结皮、苔藓结皮的顺序进行, 在其演替过渡时期会形成 两种生物土壤结皮混合的共生体<sup>[7-10]</sup>。

沙漠等极端环境中微生物的生长繁殖需要通过细胞膜上功能多样的转运蛋白完成生命物质的摄取, 如细菌依赖于磷酸转移酶系统(phosphotransferase system, PTS 系统)进行碳水化合物的转运<sup>[11]</sup>, 依赖于腺苷三磷酸结合盒(ATP-binding cassette, ABC)转运蛋白通过水解 ATP 完成离子、糖、脂质、甾醇、肽、蛋白质和药物等多种底物的转运。其中, PTS 系统由可溶性非底物特异性蛋白 EI (*pts* 编码)、磷酸组氨酸转运蛋白 HPr (*pts* I 编码)和酶 II (EII<sub>s</sub> 编码)构成。EII 复合物由一个或两个疏水整合膜结构域

(结构域 C 和 D)和两个亲水结构域(结构域 A 和 B)组成。EII 复合物可以作为不同的蛋白质或作为单个多结构域蛋白质存在。PTS 蛋白的磷酸化状态响应于可利用碳源, 当细菌暴露于含多种碳源的环境中时, PTS 系统会控制着葡萄糖优先被消耗利用<sup>[12]</sup>。研究发现 PTS 系统的某个基因缺失或改变, 会导致菌株对外界环境的适应性发生变化<sup>[13-14]</sup>。PTS 系统相关基因敲除可显著提高微生物对外界环境中葡萄糖浓度的适应性, 表明 PTS 系统的存在对外界环境的适应性具有不可或缺的作用<sup>[15-16]</sup>。ABC 转运蛋白是最大的一类转运蛋白, 原核 ABC 转运蛋白的结构通常由 3 个部分组成: 两个完整的膜蛋白、两个结合并水解 ATP 的外周蛋白和周质底物结合蛋白。多种 ABC 转运蛋白的存在不仅可以提高植物对重金属离子的耐受性, 而且参与转运各种糖类(如蔗糖、果糖、棉子糖和麦芽糖等)以抵御低温环境, 增加物种的环境适应性<sup>[17-19]</sup>。

PTS 系统和 ABC 转运蛋白可以跨膜转运多种底物分子, 对于微生物从环境中吸收各种营养物质是必不可少的。目前, 有关 PTS 系统和 ABC 转运蛋白的研究多集中在某一物种上, 且对 ABC

转运蛋白响应环境变化的研究多集中在植物, 对于环境样品中 PTS 系统和 ABC 转运蛋白编码基因的研究未见报道。本研究基于腾格里沙漠东南缘的藻结皮与藓结皮宏基因组数据的分析, 比较了不同类型 BSCs 在 PTS 系统和原核 ABC 转运蛋白编码基因之间的差异。为深入理解不同 BSCs 之间微生物组在物质交换过程中的潜在差异以及 BSCs 微生物组适应极端干旱环境提供一定的科学数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂和仪器

FastDNA<sup>®</sup> Spin Kit for Soil 试剂盒, MP Biomedicals 公司; NEXTflex Rapid DNA-Seq Kit, Bioo Scientific 公司; TruSeq<sup>™</sup> DNA Sample Prep Kit、HiSeq 3000/4000 PE 试剂盒、HiSeq 3000/4000 SBS 试剂盒, Illumina 公司。TBS-380 微型荧光计, Turner Bio Systems 公司; NanoDrop 2000 紫外可见光分光光度计、Covaris M220 振荡器, Gene 公司。

### 1.2 研究区域及样品采集

本次研究的采样点位于宁夏回族自治区中卫市沙坡头地区腾格里沙漠东南缘(37°32'N, 105°02'E)。该地区年平均温度为 10.4 °C, 最低温度为-24.5 °C, 最高温度为 38.1 °C, 全年日照时间为 3 264 h, 年平均降水量为 186 mm, 多降雨期为 6-9 月<sup>[20-22]</sup>。按照藻结皮、藓结皮的自然厚度每种结皮采集 6 个重复, 带回实验室, 在-80 °C 冰箱中冷冻保存。

### 1.3 宏基因组测序

利用 FastDNA<sup>®</sup> Spin Kit for Soil 试剂盒进行样品 DNA 抽提。完成基因组 DNA 抽提后, 利用 TBS-380 微型荧光计检测 DNA 浓度, 利用 NanoDrop 2000 紫外可见光分光光度计检测 DNA 纯度。通过 Covaris M220 振荡器将 DNA 片段化处理为约 300 bp 的片段。利用 TruSeq<sup>™</sup> DNA Sample Prep Kit 连接“Y”字形接头, 并使用 NEXTflex Rapid DNA-Seq Kit 构建 PE 文库。利用 HiSeq 3000/4000 PE 试剂盒和 HiSeq 3000/4000 SBS 试剂盒分别进行

桥式 PCR 和 Illumina HiSeq 测序。原始数据已提交至 NCBI (序列号: SRP131615)。

使用软件 SeqPrep (<https://github.com/jstjohn/SeqPrep>)对序列 5'-和-3'进行质量剪切; 使用软件 Sickle (<https://github.com/najoshi/sickle>)去除剪切后长度小于 50 bp、平均质量值低于 20 以及含 N 碱基的 Reads, 保留高质量的 Pair-end reads 和 Single-end Reads。使用基于 De-Brujin graph 原理的拼接软件 SOAPdenovo (<http://soap.genomics.org.cn/>, Version 1.06)对优化序列进行拼接组装<sup>[23]</sup>, 根据 k-mer 间的重叠(overlap)关系, 构建 De-Brujin graphs, 获得 Contigs; 把 Reads mapping 到 Contig 上, 根据成对 Reads 之间的双端(pair-end)关系将 Contigs 构建成 Scaffolds。拼接主要参数 k-mer 值设范围为 Reads 长度的 1/3-2/3。在 Scaffolds 内部 Gap 处, 将 Scaffolds 打断成新的 Contigs, 并对≥500 bp 的 Contigs 进行统计, 从中选择最优组装结果。使用 MetaGene (<http://metagene.cb.k.u-tokyo.ac.jp/>)对拼接结果中的 Contig 进行 ORF 预测<sup>[24]</sup>。选择核酸长度≥100 bp 的基因, 并将其翻译为氨基酸序列。将所有样品预测出来的基因序列, 用 CD-HIT 软件 (<http://www.bioinformatics.org/cd-hit/>)进行聚类(参数为: 95% identity、90% coverage)<sup>[25]</sup>, 每个类取最长的基因作为代表序列, 构建非冗余基因集。使用 SOAPaligner 软件(<http://soap.genomics.org.cn/>)<sup>[23]</sup>, 分别将每个样品的高质量 Reads 与非冗余基因集进行比对(95% identity), 统计基因在对应样品中的丰度信息。使用 BLASTp (BLAST Version 2.2.28+, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)将基因集序列与 KEGG 的基因数据库(GENES)进行比对, BLAST 比对参数设置期望值 E-value 为 1e<sup>-5</sup>。根据比对结果使用 KOBAS 2.0 (KEGG Orthology Based Annotation System, <http://kobas.cbi.pku.edu.cn/home.do>)进行功能注释<sup>[26]</sup>, 并下载 KO 基因表。

### 1.4 数据分析

首先用 GraphPad Prism 5 对不同生物土壤结皮

各组分丰度分析作图, 依照 KEGG PATHWAY 数据库中的 Phosphotransferase system (PTS) 代谢通路 ([https://www.kegg.jp/kegg-bin/show\\_pathway?map=k002060&show\\_description=show](https://www.kegg.jp/kegg-bin/show_pathway?map=k002060&show_description=show)) 和 ABC transporters 代谢通路 ([https://www.kegg.jp/kegg-bin/show\\_pathway?map=ko02010&showdescription=show](https://www.kegg.jp/kegg-bin/show_pathway?map=ko02010&showdescription=show)), 在 KO 基因表中挑选出在不同 BSCs 宏基因组测序中的相关基因。用 Adobe Illustrator CS6 (AI) 作图, 对样品中含有一个跨膜转运蛋白的全部编码基因的数量进行加和, 并用 GraphPad Prism 5 进行 *t* 检验分析藻结皮和藓结皮之间的差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同生物土壤结皮中各组分丰度分析

不同 BSCs 各组分丰度分析实验结果表明, 藻结皮和藓结皮中细菌丰度显著高于真核生物和古细菌的丰度(图 1), 细菌在藻结皮和藓结皮中都占有较高比例。已有研究表明细菌对于生物土壤结皮的定殖发挥着重要的作用<sup>[27]</sup>。因此, 本研究只比较 ABC transporters 代谢通路中原核 ABC 转运蛋白和 PTS 系统编码基因种类及数量的差异。

### 2.2 PTS 系统相关基因多样性

PTS 系统是细菌摄取己糖、己糖醇、二糖等糖类物质的主要机制。不同 BSCs 中 PTS 系统相关基因多样性分析实验结果表明, 藻结皮和藓结皮中分别存在可以结合 16 种不同底物的跨膜转运蛋白的编码基因(图 2A)。跨膜转运蛋白的合成需要多个基因编码, 有 8 种跨膜转运蛋白的所有编码基因在藻结皮和藓结皮中均被检测到, 其结合的底物分别是: N-乙酰葡萄糖胺、山梨糖醇、抗坏血酸、甘露醇、纤维二糖/壳二糖、半乳糖、甘露糖和 N<sub>2</sub>。其他 8 种跨膜转运蛋白的编码基因没有全部被检测到, 其结合的底物分别是: 熊果苷/水杨苷、蔗糖、葡萄糖、N-乙酰半乳糖胺、D-氨基葡萄糖酸、果糖/葡聚糖、果糖、D-半乳糖胺。统计学分析结果表明随着生物土壤结皮的发育演替, 编码跨膜转运 N-乙酰葡萄糖胺、山梨糖醇、抗坏血酸、甘露醇的

蛋白的基因总数呈减少趋势; 编码跨膜转运 N<sub>2</sub> 的蛋白的基因总数呈增加趋势; 编码跨膜转运甘露糖、纤维二糖/壳二糖、半乳糖的蛋白的基因都有增加的趋势, 但没有统计学意义( $P>0.05$ ) (图 2B)。

### 2.3 ABC 转运蛋白相关基因多样性

ABC 转运蛋白是一类具有重要生物学功能的转运蛋白, 是原核生物和真核生物中不可缺少的组成成分<sup>[28]</sup>。KEGG 数据库 ABC transporters 代谢通路中总共有 116 种具有转运功能的原核生物转运蛋白, 本研究中共检测出 106 种转运蛋白相关基因, 其中 95 种转运蛋白可潜在通过转录、翻译形成完整的蛋白质, 其余 11 种转运蛋白的一部分编码基因在藻结皮和藓结皮中未发现(图 3A、D)。对 95 种转运蛋白的所有编码基因数量进行 *t* 检验分析, 49 种转运蛋白在藻结皮和藓结皮中无显著性差异, 其余 46 种转运蛋白在藻结皮和藓结皮中都有显著变化(图 3B、C、E、F)。有显著性变化的 46 种转运蛋白, 按照底物的不同大致分为: 矿物和有机离子转运蛋白(8 种), 寡糖和脂质转运蛋白(7 种), 单糖转运蛋白(8 种), 磷酸盐和氨基酸转运蛋白(9 种), 寡肽转运蛋白(2 种), 金属阳离子转运蛋白和生物素转运蛋白(5 种), ABC-2 和其他转运蛋白(7 种)。

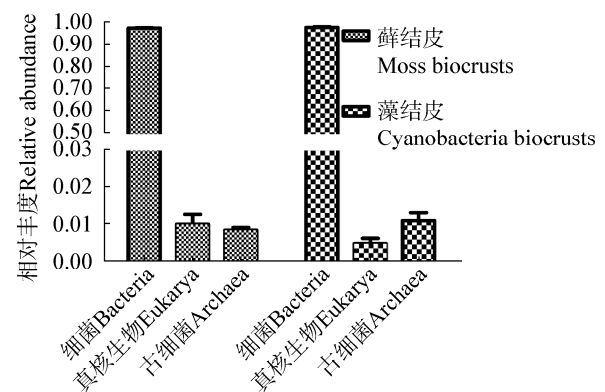


图 1 苔藓和藻结皮中古细菌、细菌和真核生物的相对丰度

Figure 1 Relative abundance of archaea, bacteria and eukarya in moss and cyanobacteria biocrusts

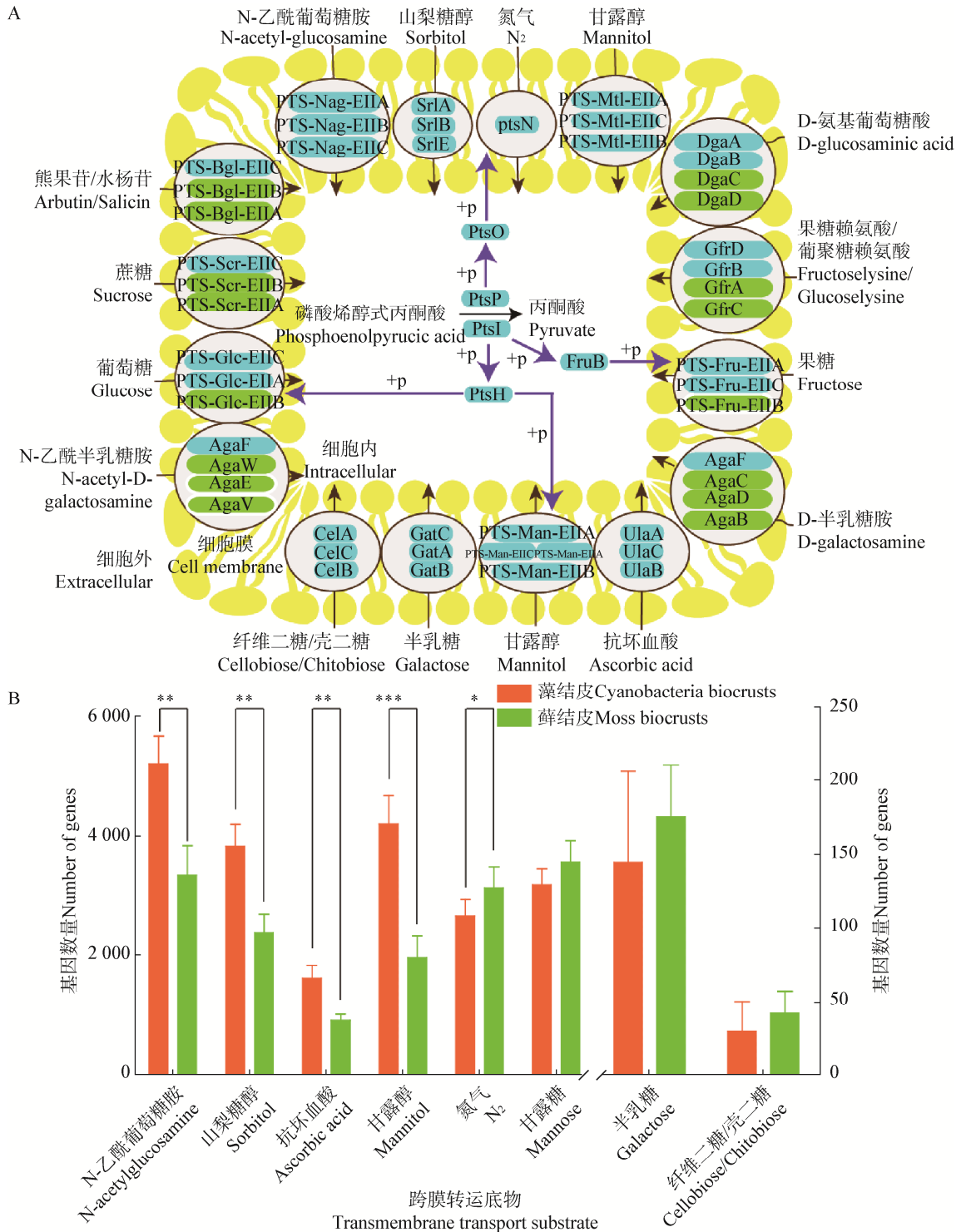


图 2 PTS 系统基因跨膜转运蛋白编码基因模式图及数量差异比较

Figure 2 Transmembrane transporter pattern of PTS system-related genes and comparison of gene number

注：A：藻结皮与藓结皮中 PTS 系统跨膜转运蛋白编码基因模式图；+p：磷酸化；蓝色背景框：编码跨膜转运蛋白的相关基因被检测到；绿色背景框：该基因未被检测到。B：基因数量差异比较；\*：P<0.05；\*\*：P<0.01；\*\*\*：P<0.001。

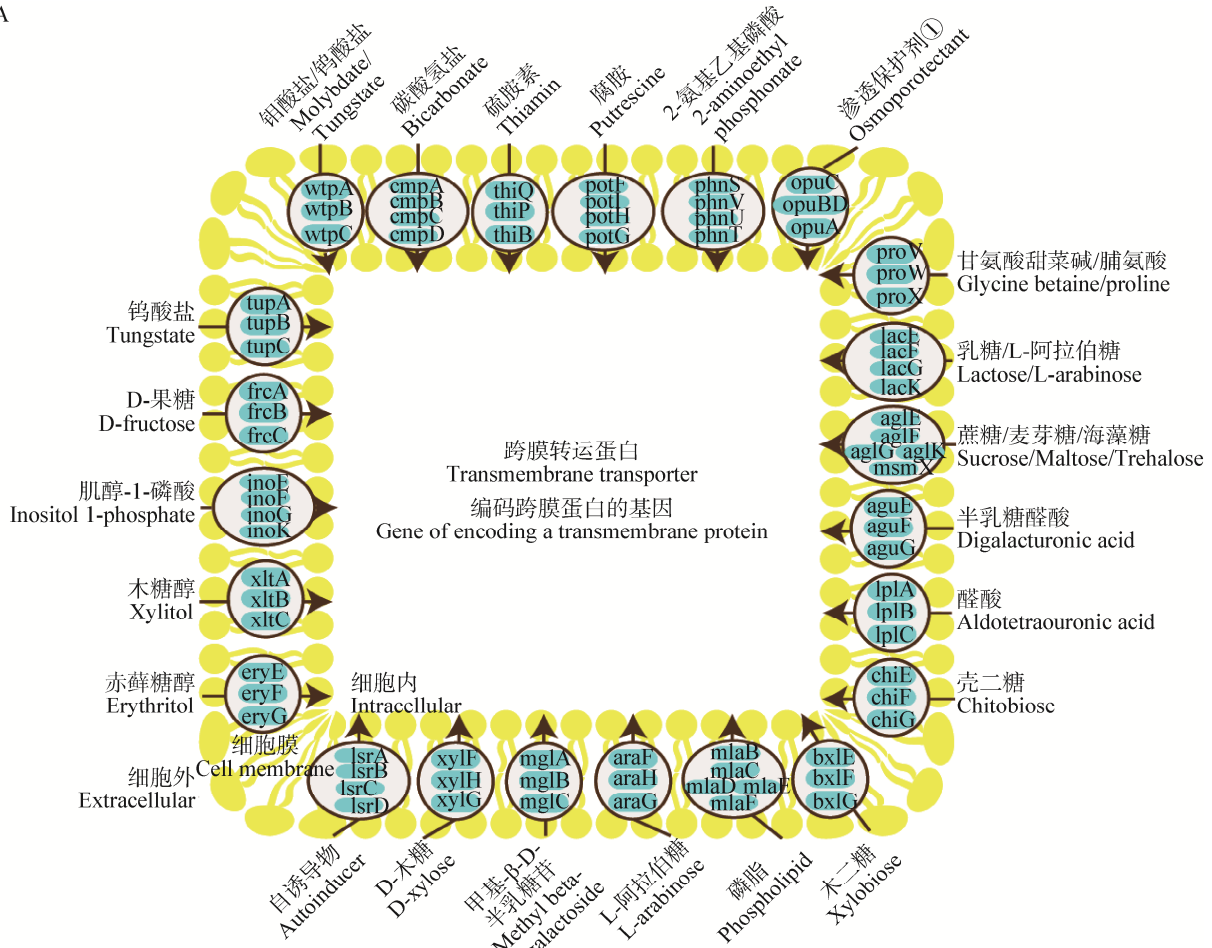
Note: A: Transmembrane transporter pattern of PTS system-related genes between cyanobacteria and moss biocrusts; +p: Phosphorylation; The blue background box: The gene encoding the transmembrane transporter has been detected; The green background box: The gene has not been detected. B: Comparison of gene number; \*：P<0.05；\*\*：P<0.01；\*\*\*：P<0.001。

2.3.1 矿物和有机离子转运蛋白相关基因

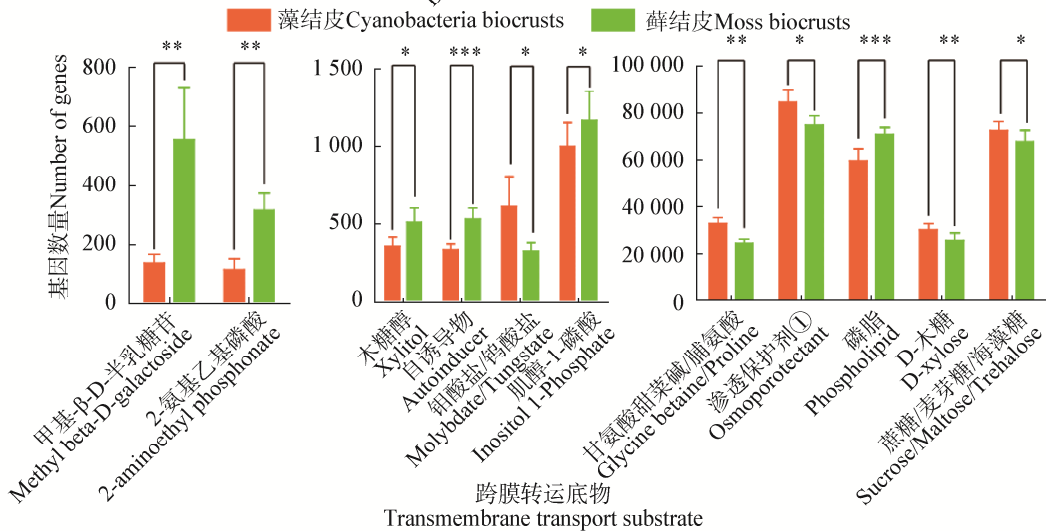
8 种基因数量有显著差异的矿物和有机离子转运蛋白的结合底物主要包括: 钨酸盐、钼酸盐/钨酸盐、碳酸氢盐、硫酸素、腐胺、2-氨基乙基磷酸、

渗透保护剂、甘氨酸甜菜碱/脯氨酸(图 3A)。结果表明随着 BSCs 的发育演替, 编码钨酸盐特异结合的 ABC 转运蛋白的基因(*tupA*、*tupB*、*tupC*)数量呈增加趋势(图 3C); 编码钨酸盐/钼酸盐转运蛋白的基因

A

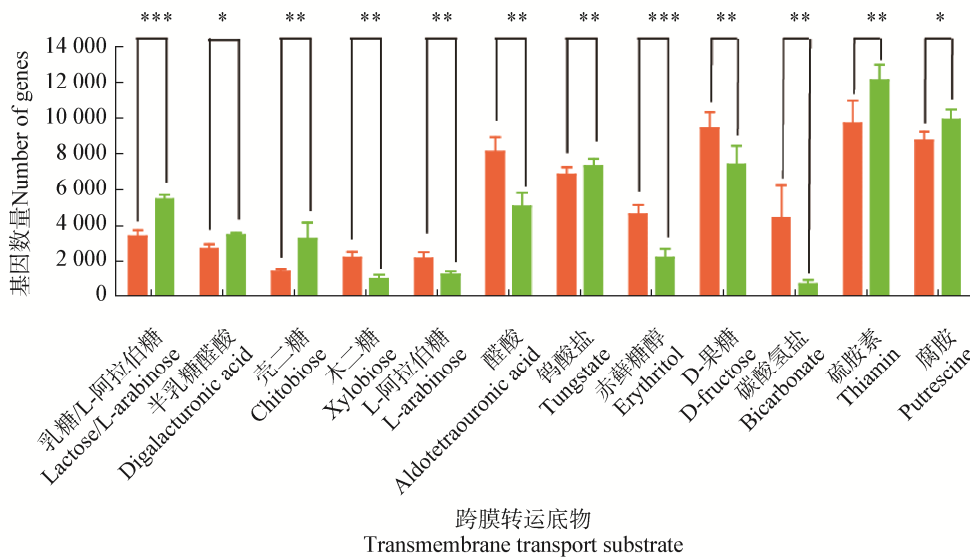


B

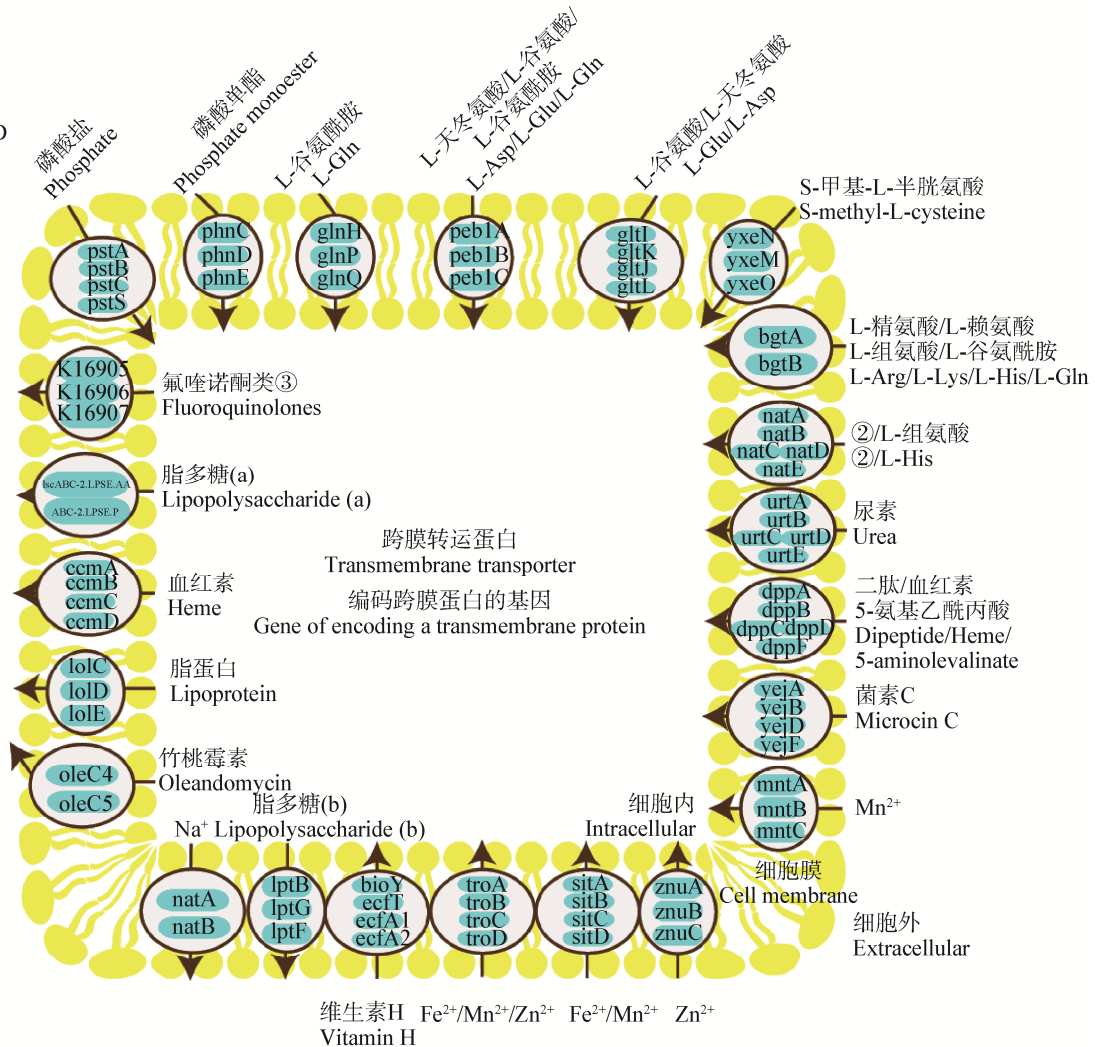




C



D



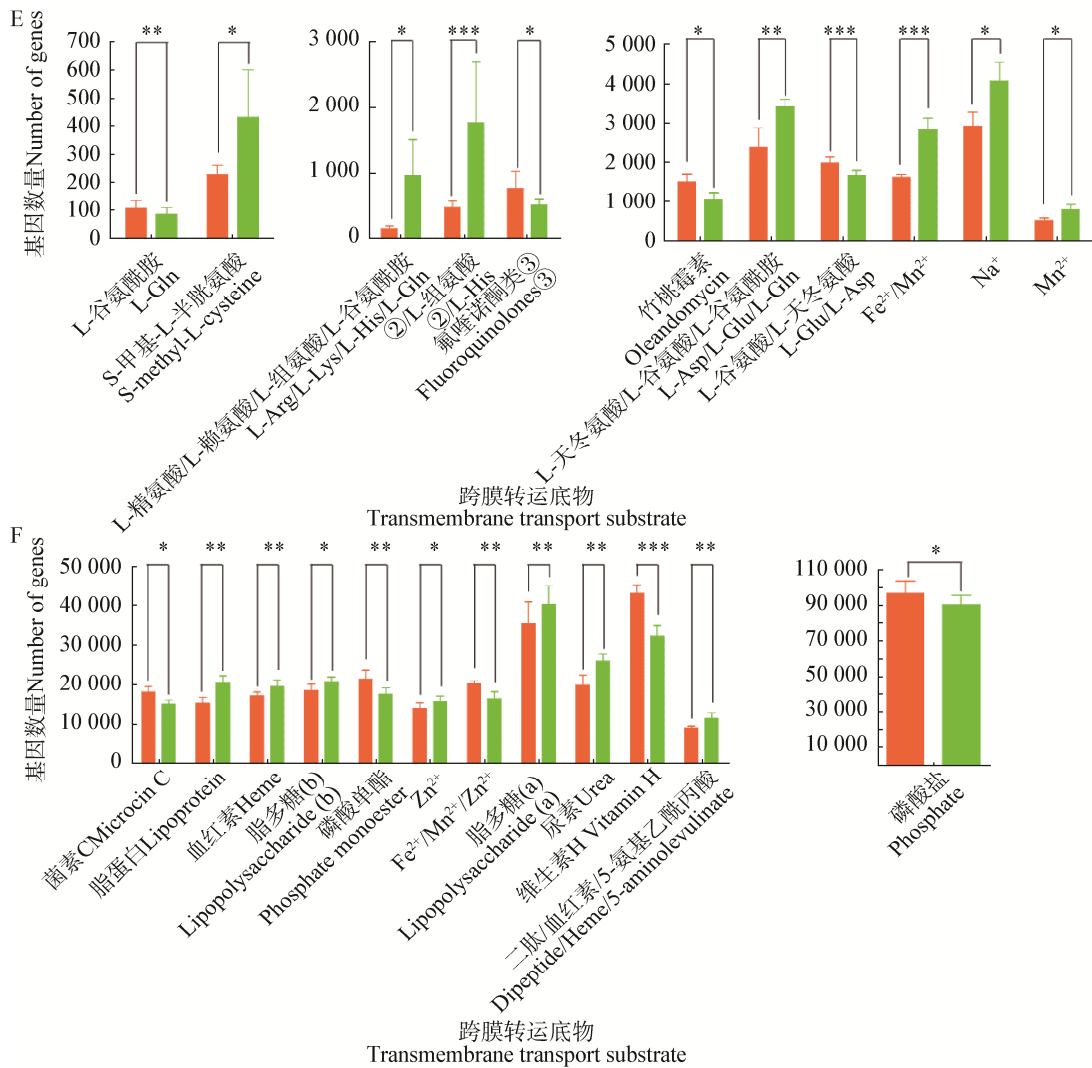


图 3 ABC 转运蛋白编码基因模式图及数量差异比较

Figure 3 The patterns and comparison of ABC transporter genes

注: A: 藻结皮与藓结皮中矿物和有机离子、寡糖和脂质、单糖转运蛋白编码基因模式图; B、C: A 中基因数量差异比较; D: 藻结皮与藓结皮中藻结皮与藓结皮中磷酸盐和氨基酸、寡肽、金属阳离子、生物素、ABC-2 和其他转运蛋白的编码基因模式图; E、F: D 中基因数量差异比较。蓝色背景框: 编码跨膜转运蛋白的相关基因被检测到; \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ 。渗透保护剂①: 甜菜碱、L-脯氨酸、胆碱、硫酸胆碱、肉毒碱等; ②: L-丙氨酸/L-谷氨酰胺/L-甘氨酸/L-苯丙氨酸/L-脯氨酸/L-丝氨酸; 氟喹诺酮类③: 环丙沙星/诺氟沙星/莫西沙星/斯帕沙星。

Note: A: Transmembrane transporter gene patterns of minerals and organic ions, oligosaccharides and lipid transporters, and monosaccharide between cyanobacteria and moss biocrusts; B, C: Comparison of gene number in figure A; D: Transmembrane transporter gene patterns of phosphate and amino acid, oligopeptide, metal cation and biotin, ABC-2 and other transporters between cyanobacteria and moss biocrusts; E, F: Comparison of gene number in figure D. The blue background box: The gene encoding the transmembrane transporter has been detected; \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ . Osmoprotectant ①: Batatine, L-proline, Choline, Choline sulfate, Carnitine; ②: L-Ala/L-Gln/L-Gly/L-Leu/L-Phe/L-Pro/L-Ser; Iuoroquinolones ③: Ciprofloxacin/Norgfloxacin/Moxifloxacin/Sparfloxacin.

(*wtpA*、*wtpB*、*wtpC*)数量呈减少趋势; 编码碳酸氢盐(*cmpA*、*cmpB*、*cmpC*、*cmpD*)和甘氨酸甜菜碱/脯氨酸的跨膜转运蛋白基因(*proV*、*proW*、*proX*)和

渗透保护剂(*opuA*、*opuBD*、*opuC*)跨膜转运蛋白基因数量呈减少趋势(图 3B、图 3C); 编码硫胺素(*thiQ*、*thiP*、*thiB*)、腐胺(*potF*、*potI*、*potH*、*potG*)和 2-氨



基乙基磷酸(*phnS*、*phnV*、*phnU*、*phnT*)跨膜转运蛋白的基因数量呈增加趋势(图 3B、C)。

### 2.3.2 寡糖和脂质转运蛋白相关基因

7 种基因数量有显著性差异的寡糖和脂质转运蛋白的结合底物主要包括乳糖/L-阿拉伯糖、蔗糖/麦芽糖/海藻糖、半乳糖醛酸、醛酸、壳二糖、木二糖、磷脂(图 3A)。藻结皮和藓结皮中编码乳糖/L-阿拉伯糖(*lacE*、*lacF*、*lacG*、*lacK*)、半乳糖醛酸(*aguE*、*aguF*、*aguG*)、壳二糖(*chiE*、*chiF*、*chiG*)、磷脂(*m1aB*、*m1aC*、*m1aD*、*m1aE*、*m1aF*)特异性转运蛋白基因的数量呈增加趋势(图 3B、C)。藻结皮中编码蔗糖/麦芽糖/海藻糖(*aglE*、*aglF*、*aglG*、*aglK*、*msmX*)、醛酸(*lplA*、*lplB*、*lplC*)、木二糖(*bx1E*、*bx1F*、*bx1G*)跨膜转运蛋白基因的数量高于藓结皮(图 3B、C)。

### 2.3.3 单糖转运蛋白相关基因

8 种基因数量有显著性差异的单糖转运蛋白的结合底物主要包括 L-阿拉伯糖、甲基-β-D-半乳糖苷、D-木糖、自诱导物、赤藓糖醇、木糖醇、肌醇-1-磷酸、D-果糖(图 3A)。在藓结皮中编码甲基-β-D-半乳糖苷(*mglA*、*mglB*、*mglC*)、自诱导物(*lsrA*、*lsrB*、*lsrC*、*lsrD*)、木糖醇(*xltA*、*xltB*、*xltC*)、肌醇-1-磷酸(*inoE*、*inoF*、*inoG*、*inoK*)跨膜转运蛋白基因的数量高于藻结皮(图 3B)。在藻结皮中编码 L-阿拉伯糖(*araF*、*araH*、*araG*)、D-木糖(*xylF*、*xylH*、*xylG*)、赤藓糖醇(*eryE*、*eryF*、*eryG*)、D-果糖(*frcA*、*frcB*、*frcC*)跨膜转运蛋白的基因数量高于藓结皮(图 3B、C)，表明藻结皮中微生物对于这 4 种糖或糖衍生物转运的潜力高于藓结皮中微生物。

### 2.3.4 磷酸盐和氨基酸转运蛋白相关基因

9 种基因数量有显著性差异的磷酸盐和氨基酸转运蛋白结合的底物主要包括磷酸盐、磷酸单酯、L-谷氨酰胺、L-天冬氨酸/L-谷氨酸/L-谷氨酰胺、L-谷氨酸/L-天冬氨酸、S-甲基-L-半胱氨酸、L-精氨酸/L-赖氨酸/L-组氨酸/L-谷氨酰胺、L-丙氨酸/L-谷氨酰胺/L-甘氨酸/L-苯丙氨酸/L-脯氨酸/L-丝氨酸/L-组氨酸、尿素(图 3D)。随着 BSCs 的发育演替，编码磷酸盐(*pstA*、*pstB*、*pstC*、*pstS*)、磷酸单酯(*phnC*、

*phnD*、*phnE*)、L-谷氨酰胺(*glnH*、*glnP*、*glnQ*)、L-谷氨酸/L-天冬氨酸(*gltI*、*gltJ*、*gltK*、*gltL*)转运蛋白的基因数量呈减少趋势，编码 L-天冬氨酸/L-谷氨酸/L-谷氨酰胺(*peb1A*、*peb1B*、*peb1C*)、S-甲基-L-半胱氨酸(*yxeN*、*yxeM*、*yxeO*)、L-精氨酸/L-赖氨酸/L-组氨酸/L-谷氨酰胺(*bgtA*、*bgtB*)、L-丙氨酸/L-谷氨酰胺/L-甘氨酸/L-苯丙氨酸/L-脯氨酸/L-丝氨酸/组氨酸(*natA*、*natB*、*natC*、*natD*、*natE*)、尿素(*urtA*、*urtB*、*urtC*、*urtD*、*urtE*)转运蛋白的基因数量呈增加趋势(图 3E、F)。

### 2.3.5 寡肽转运蛋白相关基因

2 种基因数量有显著性差异的寡肽转运蛋白结合的底物主要包括二肽/血红素/5-氨基乙酰丙酸、菌素 C (图 3D)。随着 BSCs 的发育演替，编码二肽/血红素/5-氨基乙酰丙酸(*dppA*、*dppB*、*dppC*、*dppD*、*dppF*)转运蛋白的基因数量呈增加趋势；编码转运菌素 C (*vejA*、*vejB*、*vejD*、*vejF*)转运蛋白的基因数量呈降低趋势(图 3F)。

### 2.3.6 金属阳离子和维生素 H 转运蛋白相关基因

5 种基因数量有显著性差异的金属阳离子和生物素转运蛋白结合的底物主要包括  $Mn^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Fe^{2+}/Mn^{2+}$ 、 $Zn^{2+}/Mn^{2+}/Fe^{2+}$ 、维生素 H (图 3D)。随着 BSCs 的发育演替，编码  $Mn^{2+}$  (*mntA*、*mntB*、*mntC*)、 $Zn^{2+}$  (*znuA*、*znuB*、*znuC*)、 $Fe^{2+}/Mn^{2+}$  (*sitA*、*sitB*、*sitC*、*sitD*)特异性转运蛋白的基因数量呈上升趋势，编码  $Fe^{2+}/Mn^{2+}/Zn^{2+}$  (*troA*、*troB*、*troC*、*troD*)、维生素 H (*bioY*、*ecfT*、*ecfA1*、*ecfA2*)转运蛋白的基因数量呈降低趋势(图 3E、F)。

### 2.3.7 ABC-2 和其他转运蛋白相关基因

7 种基因数量有显著性差异的 ABC-2 和其他转运蛋白结合的底物主要包括脂多糖(两种转运方式，分别用 a、b 表示)、 $Na^{+}$ 、竹桃霉素、脂蛋白、血红素、氟喹诺酮类(图 3D)。其中标记由 *ABC-2.LPSE.A*、*ABC-2.LPSE.P* 基因控制的脂多糖跨膜途径称为脂多糖 a 转运方式，标记由 *lptF*、*lptG*、*lptB* 基因控制的脂多糖跨膜途径称为脂多糖 b 转运方式。随着 BSCs 的发育演替，藻结皮中编码外排脂多糖(两种

转运方式方式)、 $\text{Na}^+$  (*natA*、*natB*)、脂蛋白 (*lolC*、*lolD*、*lolE*)、血红素 (*ccmA*、*ccmB*、*ccmC*、*ccmD*) 转运蛋白的基因数量呈增加趋势, 编码外排竹桃霉素 (*oleC4*、*oleC5*)、氟喹诺酮类 (*K16905*、*K16906*、*K16907*) 转运蛋白的基因数量呈降低趋势(图 3E、图 3F)。

### 3 讨论

#### 3.1 不同生物土壤结皮 PTS 系统相关编码基因的差异性

随着结皮的发育, PTS 系统对增强微生物渗透势物质的需求呈降低趋势。山梨糖醇含有 6 个羟基可以利用氢键结合周围的水分, 具有强吸水性<sup>[29]</sup>; 甘露醇是一种脱水剂, 对生物体内水分的保持也具有较强的作用; 抗坏血酸是一种抗氧化物质, 可以清除生物体在逆境条件下产生的活性氧, 增强生物体对逆境的适应能力<sup>[30]</sup>。这 3 种物质对微生物维持自身渗透势、抵抗干旱缺水的极端环境具有重要的作用, 使得微生物可以更好地适应沙漠极端干旱环境。这 3 种物质的转运蛋白编码基因数量随生物土壤结皮的发育都呈降低趋势, 表明藻结皮中细菌跨膜转运山梨糖醇、抗坏血酸、甘露醇的表达潜力要高于藓结皮中细菌。

随着 BSCs 的发育, PTS 系统对于转运 N-乙酰葡萄糖胺的能力呈减弱趋势, 对  $\text{N}_2$  的能力呈增强的趋势, 表明了微生物对 N-乙酰葡萄糖胺的需求减少, 对  $\text{N}_2$  的需求增加。N-乙酰葡萄糖胺可构成肽聚糖和几丁质, 进而分别构成细菌和真菌细胞壁<sup>[31-32]</sup>。编码 N-乙酰葡萄糖胺跨膜转运蛋白的基因在肽聚糖回收利用上占据着重要作用, N-乙酰葡萄糖胺可作为一种新的碳源和氮源供微生物吸收利用或者再重新合成肽聚糖<sup>[32]</sup>。随着生物土壤结皮的发育, 微生物在以 N-乙酰葡萄糖胺作为氮的来源呈降低趋势, 而对于以  $\text{N}_2$  作为氮源的利用中呈不断增强的趋势。

#### 3.2 不同生物土壤结皮 ABC 转运蛋白相关编码基因的差异性

##### 3.2.1 微生物渗透有关的 ABC 转运蛋白编码基因差异性

随着生物土壤结皮的发育, ABC 转运蛋白对增

强微生物渗透势物质(甘氨酸甜菜碱/脯氨酸、渗透保护剂、赤藓糖醇、 $\text{Na}^+$ 、腐胺、肌醇-1-磷酸)的需求总体呈降低趋势。甘氨酸甜菜碱是一种季胺类渗透调节物质, 可以有效地维持微生物细胞内的渗透势, 增加微生物对高盐环境的抵抗作用<sup>[33-34]</sup>。微生物在干旱胁迫的环境中会增加对脯氨酸的积累, 这对微生物的自身保护非常重要<sup>[35]</sup>。赤藓糖醇易溶于水、稳定性高、不易被微生物分解及具有抗氧化的功能<sup>[36-37]</sup>。 $\text{Na}^+$ 具有调节细胞渗透压的功能, 并且适量的  $\text{Na}^+$ 可以促进 NADH 的氧化, 有助于 ATP 的合成<sup>[38]</sup>, 外排  $\text{Na}^+$ 跨膜转运蛋白的编码基因呈现上升趋势, 这种现象也会造成微生物体内渗透势的降低。ABC 转运蛋白转运渗透保护剂(包括甜菜碱、L-脯氨酸、胆碱、硫酸胆碱、肉毒碱等)的编码基因也呈降低趋势, 仅有腐胺和肌醇-1-磷酸转运蛋白的编码基因数量呈现上升趋势。其中腐胺具有清除活性氧、抑制细胞膜脂质过氧化来保证细胞膜和生物分子免受损伤的作用<sup>[39-40]</sup>; 肌醇-1-磷酸是属于磷酸肌醇的一种磷脂化合物, 对冷、旱、盐等非生物胁迫具有较好的抵抗作用<sup>[41]</sup>。

PTS 系统和 ABC 转运蛋白对于转运增强微生物渗透势物质的变化趋势是一致的, 都呈现降低的趋势。而在之前的研究中显示, 生物土壤结皮的含水量随着生物土壤结皮的生长发育而逐渐增多(藻结皮<藓结皮)<sup>[7,42]</sup>, 这可能是造成微生物对于增强渗透势物质呈降低趋势的主要原因。

##### 3.2.2 矿物离子和辅助因子的 ABC 转运蛋白编码基因差异性

随着生物土壤结皮的发育, 微生物对于矿物离子(钨酸盐、钼酸盐、磷酸盐、 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ )和辅助因子(维生素 H、硫胺素、血红素)的总体变化趋势不明显。矿物离子是微生物体内构成或影响酶活性不可或缺的物质, 辅助因子会参与生物体内的各种代谢调节, 矿物离子和辅助因子维持着微生物生命代谢活动的正常进行。钨是一些细菌的必需微量元素, 并且参与蝶呤辅助因子的形成, 该辅助因子是酶组装和功能所必需的。有研究发现在革兰

氏阳性厌氧菌 *Eubacterium acidaminophilum* 中含有至少两种钨依赖性酶, 并且确定该生物体中有编码特异结合钨酸盐的 ABC 转运蛋白的基因<sup>[43]</sup>。钼和钨具有相似的离子半径和化学性质, 两种金属主要存在于催化氧原子转移反应的酶中。Bever 等从嗜热古细菌激烈火球菌(*Pyrococcus furiosus*)中发现了钨酸盐和钼酸盐结合蛋白, 解释了钨酸盐和钼酸盐在缺乏各自特异转运蛋白时进入生物体的机制<sup>[44]</sup>。磷酸盐作为磷元素在环境中的主要存在形式, 供微生物吸收用于 DNA、RNA、磷脂、ATP 的合成以及参与多种代谢反应。硫胺素是生物体内的一种辅酶因子, 参与碳水化合物的代谢, 也是一些酶的重要辅因子<sup>[45]</sup>。血红素除了在微生物代谢反应中发挥作用外, 也是致病微生物铁元素的来源, 细菌将完整的血红素转运到胞质溶胶中以回收铁用作辅因子<sup>[46]</sup>。 $Mn^{2+}$  是许多酶的组成成分(如锰超氧化物歧化酶), 在促进糖脂代谢和抗氧化方面具有重要的作用<sup>[47]</sup>。 $Zn^{2+}$  除作为蛋白质的结构组成外, 还具有作为辅因子影响酶的活性, 调节微生物的生理功能和胁迫应答等功能<sup>[48-49]</sup>。铁元素作为微生物多种酶的组成成分并且参与电子传递的过程; 维生素 H 又称为生物素, 是不可缺少的辅助因子, 在多种脂合成反应过程中发挥着重要的作用<sup>[50]</sup>。随着生物土壤结皮的发育, 微生物对钼酸盐/钨酸盐、 $Fe^{2+}/Mn^{2+}/Zn^{2+}$ 、磷酸盐、维生素 H 跨膜转运蛋白的编码基因数量呈降低趋势, 而编码转运  $Fe^{2+}/Mn^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、硫胺素、钨酸盐、血红素的跨膜转运蛋白的编码基因数量呈现增长趋势。表明微生物在矿物离子和辅助因子的转运方面对外界环境的响应总体趋势是不明确的, 具体变化趋势需进一步验证。

### 3.2.3 糖类和碳酸氢盐的 ABC 转运蛋白编码基因的差异性

微生物对于糖类和碳酸氢盐等含碳物质转运的总体变化趋势不明显, 这些物质大部分都可以作为微生物的碳源, 并参与微生物碳循环网络。D-木糖、D-果糖、乳糖都可以为一部分微生物提供碳

源<sup>[51-52]</sup>; 蔗糖、麦芽糖、海藻糖的单体是葡萄糖, 都可以为微生物的生长提供碳源。海藻糖可以增强细胞对于干旱、高渗透势环境的抵抗能力<sup>[53]</sup>。木二糖是低聚木寡糖的一种, 可作为微生物的一种碳源, 且可促进微生物对矿物离子的吸收<sup>[54]</sup>。碳酸氢盐可以作为微生物生长所必需的碳源, 且因碳酸氢根离子是两性离子, 也可以作为细胞中酸碱调节剂以保证相关酶正常发挥作用。L-阿拉伯糖可以在 L-阿拉伯糖异构酶的作用下转化为 L-核酮糖<sup>[55]</sup>, 进而参与磷酸戊糖途径合成核糖-5-磷酸, 参与核苷酸的合成。木糖醇可以用作抗氧化剂和渗透压调节剂, 并且是葡萄糖-6-磷酸经糖醛酸途径代谢的一个中间产物<sup>[54,56]</sup>; 壳二糖具有抗菌和抗氧化的能力<sup>[57]</sup>; 甲基- $\beta$ -D-半乳糖苷是由半乳糖 1 号位碳原子被甲基取代形成。其中编码转运 D-木糖、蔗糖/麦芽糖/海藻糖、木二糖、L-阿拉伯糖、D-果糖、碳酸氢盐的跨膜转运蛋白编码基因呈显著下降趋势, 而编码转运乳糖/L-阿拉伯糖、壳二糖、木糖醇、甲基- $\beta$ -D 半乳糖苷的跨膜转运蛋白编码基因呈上升趋势。

### 3.2.4 氨基酸、细胞膜和细胞壁结构组分的 ABC 转运蛋白编码基因的差异性

随生物土壤结皮的发育, 微生物对氨基酸、细胞膜和细胞壁结构组分的转运能力总体呈现上升趋势。氨基酸是构成蛋白质的基本单位, 而蛋白质是微生物生命活动的主要物质承担者, 在运输、催化、免疫等多种方面具有非常重要的作用。半乳糖醛酸是果胶的组成成分, 并且具有一定的抑菌性<sup>[58]</sup>。磷脂是构成微生物细胞膜的主要成分, 对于微生物的代谢具有不可或缺的作用。脂多糖是革兰氏阴性菌细胞壁外层的主要结构组成部分, 对于保护细胞免受毒性分子的侵害具有重要作用, 以此来适应恶劣的环境<sup>[59-60]</sup>。脂蛋白是细胞的组成成分, 具有多种重要功能, 对于病原菌来说, 脂蛋白是不可或缺的毒力因子<sup>[61]</sup>。

本研究发现随着生物土壤结皮的发育, 仅有转运 L-谷氨酰胺、L-谷氨酸/天冬氨酸的跨膜转运蛋白编码基因数量呈下降趋势, 而转运 L-精氨酸/L-赖氨

酸/L-组氨酸/L-谷氨酰胺、(L-丙氨酸/L-谷氨酰胺/L-甘氨酸/L-苯丙氨酸/L-脯氨酸/L-丝氨酸)/L-组氨酸、L-天冬氨酸/L-谷氨酸/L-谷氨酰胺、S-甲基-L-半胱氨酸、脂多糖、脂蛋白、半乳糖醛酸、磷脂的跨膜转运蛋白编码基因呈增长趋势。微生物对细胞膜和细胞壁的结构组分转运能力总体呈现增强的趋势, 显示出微生物对蛋白质的合成和细胞膜、细胞壁的建立呈现上升趋势, 进一步展示出随着生物土壤结皮的发育微生物的代谢活动增强。之前的研究发现藓结皮中微生物丰度显著大于藻结皮中微生物丰度<sup>[62-63]</sup>, 微生物组中与细胞代谢和结构有关底物的运输蛋白编码基因多数呈增加趋势是对此的具体反映, 与 Liu 等<sup>[64]</sup>研究显示随着生物土壤结皮的发育微生物代谢潜力也有一定增加趋势的结论具有一定的相似性。

### 3.2.5 其他物质的 ABC 转运蛋白编码基因的差异性

生物土壤结皮中微生物跨膜转运蛋白除上述种类外, 还有更多的转运底物特性。磷酸单酯是一种阴离子表面活性剂, 对修复重金属污染的土壤有重要的作用<sup>[65-66]</sup>; 菌素是一种由大肠杆菌或其相近微生物产生的抗生素, 特征在于分子较小和抗菌作用特异性强。菌素 C 是菌素的一种, 菌素 C 的靶标是天冬氨酰-tRNA 合成酶<sup>[67]</sup>。竹桃霉素是大环内酯类抗生素的一种, 属于生长抑制剂, 可以阻碍蛋白质的合成<sup>[68]</sup>。氟喹诺酮类是全球广泛应用的一类抗生素, 但是结核分枝杆菌对该抗生素的耐药性的一个原因就是 ABC 转运蛋白的外排功能<sup>[69-70]</sup>。随着生物土壤结皮的发育, 微生物对磷酸单酯、菌素 C、氟喹诺酮类、竹桃霉素、醛酸的转运蛋白编码基因都呈现上升趋势。

2-氨基乙基磷酸因作为聚糖、脂质和蛋白质的缀合物被发现, 并且在特定的低等生物中发挥着重要的生物学功能, 如在病原体中 2-氨基乙基磷酸缀合物用于宿主感染。因此, 负责 2-氨基乙基磷酸代谢的酶是抑制剂开发的主要靶标<sup>[71]</sup>。自诱导物是微生物分泌用来感应细胞密度的小分子物质, 从而调

控微生物细胞的生理过程<sup>[72-73]</sup>; 尿素可以作为微生物的氮源, 并且孙潇昊等<sup>[74]</sup>研究表明尿素可大大加快固化反应提高砂土固化效率, 这对于加快生物土壤结皮的形成是非常有利的。二肽是寡肽的一种, 在生物体除作为营养物质外, 还可用于信号转导<sup>[75]</sup>。5-氨基乙酰丙酸是生物体内合成血红素和维生素 B12 等四氢吡咯化合物的前体物质<sup>[76]</sup>。随着生物土壤结皮的发育, 微生物对 2-氨基乙基磷酸、自诱导物、二肽/血红素/5-氨基乙酰丙酸、尿素的转运蛋白编码基因都呈现下降趋势。微生物对这些底物的转运没有共同的特性, 仅表现出 ABC 跨膜转运蛋白的多样性。

## 4 结论

荒漠化是一个全球性的环境问题, 干旱、半干旱地区的土地因气候变化和人类活动等因素而退化为荒漠<sup>[77]</sup>。生物土壤结皮作为沙漠生态系统的重要组成部分, 对于沙漠的防治具有重要的作用, 但是生物土壤结皮自然形成需要较长时间。本研究发现随着生物土壤结皮的发育演替, 编码 PTS 系统蛋白和 ABC 转运蛋白的基因种类相同, 但是基因数量有一定的差异性。

研究发现随着生物土壤结皮的发育演替, 微生物对于从环境中摄取增加渗透势的物质的潜力总体呈现降低趋势, 而微生物对细胞结构成分转运的潜力总体呈现增加趋势; 而对于矿物离子和辅助因子、糖类和碳酸氢盐的转运并无明显变化。在本研究中没有验证随着生物土壤结皮的发育, 微生物转运潜力是否与基因数量成正比, 因此这些转运蛋白编码基因多样性及差异与生物土壤结皮的关系还有待实验证明与解释。

## REFERENCES

- [1] Kang WP, Liu SL. A review of remote sensing monitoring and quantitative assessment of Aeolian desertification[J]. Journal of Desert Research, 2014, 34(5): 1222-1229 (in Chinese)  
康文平, 刘树林. 沙漠化遥感监测与定量评价研究综述[J]. 中国沙漠, 2014, 34(5): 1222-1229
- [2] Wan W, Yan CZ, Xiao SC, et al. Process, spatial pattern and driving mechanisms of the Aeolian desertification in the Alxa

- Plateau from 1975 to 2015[J]. *Journal of Desert Research*, 2018, 38(1): 17-29 (in Chinese)  
万炜, 颜长珍, 肖生春, 等. 1975-2015 年阿拉善高原沙漠化过程、格局与驱动机制[J]. *中国沙漠*, 2018, 38(1): 17-29
- [3] Hui R, Li XR, Zhao RM, et al. UV-B radiation suppresses chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigment and antioxidant systems of two key species in soil crusts from the Tengger Desert, China[J]. *Journal of Arid Environments*, 2015, 113: 6-15
- [4] Li XR, Song G, Hui R, et al. Precipitation and topsoil attributes determine the species diversity and distribution patterns of crustal communities in desert ecosystems[J]. *Plant and Soil*, 2017, 420(1/2): 163-175
- [5] Li BY, Bu CF, Li YP, et al. Diurnal dynamic characteristics and influencing factors of the carbon flux in biocrusted soil in Mu Us sandland[J]. *Research of Soil and Water Conservation*, 2018, 25(4): 174-180 (in Chinese)  
李炳根, 卜崇峰, 李宜坪, 等. 毛乌素沙地生物结皮覆盖土壤碳通量日动态特征及其影响因子[J]. *水土保持研究*, 2018, 25(4): 174-180
- [6] Li XR, Jia RL, Zhang ZS, et al. Hydrological response of biological soil crusts to global warming: a ten-year simulative study[J]. *Global Change Biology*, 2018, 24(10): 4960-4971
- [7] Song G, Li XR, Hui R. Biological soil crusts determine the germination and growth of two exotic plants[J]. *Ecology and Evolution*, 2017, 7(22): 9441-9450
- [8] Zhang GH, Hu JJ. Advances in soil-hydrology-erosion effects of biological soil crusts[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2019, 33(1): 1-8 (in Chinese)  
张冠华, 胡甲均. 生物结皮土壤—水文—侵蚀效应研究进展[J]. *水土保持学报*, 2019, 33(1): 1-8
- [9] Li XQ, Zhang YM. Grey relation analysis on soil fertility as influenced by edge effects of moss crust patch in a temperate desert[J]. *Journal of Desert Research*, 2019, 39(3): 17-24 (in Chinese)  
李茜倩, 张元明. 荒漠藓类结皮边缘效应下土壤肥力的灰色关联度分析[J]. *中国沙漠*, 2019, 39(3): 17-24
- [10] Li XR, Tan HJ, Hui R, et al. Researches in biological soil crust of China: a review[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2018, 63(23): 2320-2334 (in Chinese)  
李新荣, 谭会娟, 回嵘, 等. 中国荒漠与沙地生物土壤结皮研究[J]. *科学通报*, 2018, 63(23): 2320-2334
- [11] Dahl U, Jaeger T, Nguyen BT, et al. Identification of a phosphotransferase system of *Escherichia coli* required for growth on *N*-acetylmuramic acid[J]. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(8): 2385-2392
- [12] Escalante A, Cervantes AS, Gosset G, et al. Current knowledge of the *Escherichia coli* phosphoenolpyruvate-carbohydrate phosphotransferase system: peculiarities of regulation and impact on growth and product formation[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 94(6): 1483-1494
- [13] Xiao MR, Zhang L, Liu SP, et al. Transformation of phosphotransferase system in *Escherichia coli*[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2014, 30(10): 1561-1572 (in Chinese)  
肖梦榕, 张梁, 刘双平, 等. 大肠杆菌 PTS 系统改造及重组菌生长性能测定[J]. *生物工程学报*, 2014, 30(10): 1561-1572
- [14] Crigler J, Bannerman-Akwei L, Cole AE, et al. Glucose can be transported and utilized in *Escherichia coli* by an altered or overproduced *N*-acetylglucosamine phosphotransferase system (PTS)[J]. *Microbiology*, 2018, 164(2): 163-172
- [15] Zhang F, Song H, Ban R. Knockout of the *hprK* gene in *B. subtilis* CcpA mutant and its influence on riboflavin fermentation[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2006, 22(4): 534-538 (in Chinese)  
张帆, 宋辉, 班睿. *hprK* 基因敲除及其对枯草芽孢杆菌核黄素发酵的影响[J]. *生物工程学报*, 2006, 22(4): 534-538
- [16] Zhou ZJ, Zou YK, Dai HM, et al. One-step knockout of the *ptsHIcrr* operon in *Escherichia coli* and characterization of the mutant[J]. *Microbiology China*, 2010, 37(8): 1146-1152 (in Chinese)  
周军智, 邹永康, 戴红梅, 等. 大肠杆菌 *ptsHIcrr* 操纵子的快速敲除及敲除菌生长性能测定[J]. *微生物学通报*, 2010, 37(8): 1146-1152
- [17] Vishwakarma K, Mishra M, Patil G, et al. Avenues of the membrane transport system in adaptation of plants to abiotic stresses[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2019, 39(7): 861-883
- [18] Ezaki B, Takahashi K, Utsumi K, et al. A half-type AvABC<sub>G1</sub> transporter derived from *Andropogon virginicus* L. confers aluminum tolerance[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2015, 118: 21-31
- [19] Cao GH. Functions and the vital roles of ABC transporter protein-encoding genes in the tolerance of *Exophiala pisciphila* to heavy metals[D]. Kunming: Doctoral Dissertation of Yunnan University, 2017 (in Chinese)  
曹冠华. 嗜鱼外瓶霉(*Exophiala pisciphila*) ABC 转运蛋白基因与宿主重金属耐性的研究[D]. 昆明: 云南大学博士学位论文, 2017
- [20] Zhang P, Li XR, Zhang ZS, et al. Nitrogen fixation potential of biological soil crusts in southeast edge of Tengger Desert, Northwest China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(8): 2157-2164 (in Chinese)  
张鹏, 李新荣, 张志山, 等. 腾格里沙漠东南缘生物土壤结皮的固氮潜力[J]. *应用生态学报*, 2012, 23(8): 2157-2164
- [21] Chang HT, Liu RT, Liu JN, et al. Change of soil properties and related fractal features during forestation and sand fixation by straw checkerboard: a case study in southeast edge of Tengger Desert[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2018, 32(6): 58-65, 165 (in Chinese)  
常海涛, 刘任涛, 刘佳楠, 等. 草方格造林固沙过程中土壤性质变化及分形特征——以腾格里沙漠东南缘为例[J]. *水土保持学报*, 2018, 32(6): 58-65, 165
- [22] Du J, Li YX, Yang XX, et al. Effects of biological soil crusts types on soil physicochemical properties in the southeast Fringe of the Tengger Desert[J]. *Journal of Desert Research*, 2018,

- 38(1): 111-116 (in Chinese)  
都军, 李宜轩, 杨晓霞, 等. 腾格里沙漠东南缘生物土壤结皮对土壤理化性质的影响[J]. 中国沙漠, 2018, 38(1): 111-116
- [23] Li RQ, Li YR, Kristiansen K, et al. SOAP: short oligonucleotide alignment program[J]. *Bioinformatics*, 2008, 24(5): 713-714
- [24] Noguchi H, Park J, Takagi T. MetaGene: prokaryotic gene finding from environmental genome shotgun sequences[J]. *Nucleic Acids Research*, 2006, 34(19): 5623-5630
- [25] Fu LM, Niu BF, Zhu ZW, et al. CD-HIT: accelerated for clustering the next-generation sequencing data[J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(23): 3150-3152
- [26] Xie C, Mao XZ, Huang JJ, et al. KOBAS 2.0: a web server for annotation and identification of enriched pathways and diseases[J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39(S2): W316-W322
- [27] Han BH, Niu DC, He L, et al. A review on the development and effect of biological soil crusts[J]. *Pratacultural Science*, 2017, 34(9): 1793-1801 (in Chinese)  
韩炳宏, 牛得草, 贺磊, 等. 生物土壤结皮发育及其影响因素研究进展[J]. 草业科学, 2017, 34(9): 1793-1801
- [28] Liu HM, Cui WY, Song SY, et al. Identification and analysis of ABC transporter gene family in goldfish (*Carassius auratus* var.)[J/OL]. *Genomics and Applied Biology*. 2018-08-31. <http://nvsm.cnki.net/KCMS/detail/45.1369.Q.20180831.0839.002.html> (in Chinese)  
刘含梅, 崔文耀, 宋诗颖, 等. 金鱼 ABC 转运蛋白基因家族成员鉴定及分析[J/OL]. 基因组学与应用生物学. 2018-08-31. <http://nvsm.cnki.net/KCMS/detail/45.1369.Q.20180831.0839.002.html>
- [29] Yang ZZ. The use and safety evaluation of sorbitol in ready-to-eat dried aquatic products[D]. Shanghai: Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2018 (in Chinese)  
杨祯祯. 即食干制水产品中山梨糖醇的使用及安全性评价[D]. 上海: 上海海洋大学硕士学位论文, 2018
- [30] Yu YW. Molecular mechanism of ethylene and ABA in regulating ascorbic acid biosynthesis and ROS accumulation through ABI4[D]. Beijing: Postdoctoral Research of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2018 (in Chinese)  
于延文. 乙烯和 ABA 通过 ABI4 调控抗坏血酸生物合成和活性氧积累的分子基础[D]. 北京: 中国农业科学院博士后研究工作, 2018
- [31] Yang RW. *Biochemistry*[M]. Beijing: Science Press, 2013: 73 (in Chinese)  
杨荣武. 生物化学[M]. 北京: 科学出版社, 2013: 73
- [32] Plumbridge J. An alternative route for recycling of *N*-acetylglucosamine from peptidoglycan involves the *N*-acetylglucosamine phosphotransferase system in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2009, 191(18): 5641-5647
- [33] Pan HP, Wu HL, Wei LN, et al. Co-immobilized glycine betaine with *Lactobacillus plantarum* used for the fermentation of high salt liquid-state soy sauce[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2013, 39(6): 7-12 (in Chinese)  
潘海朋, 吴惠玲, 魏鲁宁, 等. 共固定甘氨酸甜菜碱与植物乳杆菌在高盐稀态酱油酿造中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(6): 7-12
- [34] Yao WS, Jin P, Xu TT, et al. Effects of exogenous glycine betaine treatment on chilling injury and quality of *Cucurbita pepo* L. under low temperature storage[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2018, 32(9): 1781-1788 (in Chinese)  
姚文思, 金鹏, 许婷婷, 等. 外源甘氨酸甜菜碱处理对西葫芦果实冷害和品质的影响[J]. 核农学报, 2018, 32(9): 1781-1788
- [35] Gowrishankar J. Nucleotide sequence of the osmoregulatory *proU* operon of *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1989, 17(4): 1923-1931
- [36] Tuo LH. Study on the erythritol membrane assisted antisolvent crystallization process[D]. Dalian: Master's Thesis of Dalian University of Technology, 2018 (in Chinese)  
脱凌晗. 赤藓糖醇膜辅助溶剂结晶过程的研究[D]. 大连: 大连理工大学硕士学位论文, 2018
- [37] Kang P. Study on the metabolic regulation of polyols production by *Trichosporonoides oedocephalis*[D]. Suzhou: Master's Thesis of Suzhou University of Science and Technology, 2018 (in Chinese)  
康培. 球头三型孢菌产多元醇代谢调控研究[D]. 苏州: 苏州科技大学硕士学位论文, 2018
- [38] Tang ZY, Min XF, Zhang YP, et al. Inhibition of sodion on functional flora in methane fermentation of butyric acid[J]. *China Biogas*, 2017, 35(3): 16-21 (in Chinese)  
唐泽雨, 闵祥发, 张玉鹏, 等. 钠离子浓度对丁酸甲烷发酵功能菌群的抑制作用[J]. 中国沼气, 2017, 35(3): 16-21
- [39] Hu MT, Ma WW, Xu WD, et al. Putrescine improves oocyte quality of aging mice and its mechanism[J]. *Journal of Reproductive Medicine*, 2019, 28(4): 372-379 (in Chinese)  
胡梦婷, 马薇薇, 徐文丹, 等. 腐胺提高高龄小鼠卵母细胞质量及其机制的研究[J]. 生殖医学杂志, 2019, 28(4): 372-379
- [40] Wang YX, Gu ST, Zuo JH, et al. Effects of putrescine on physiological quality and antioxidant capacity of mechanically injured green bell pepper[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(5): 259-263 (in Chinese)  
王云香, 顾思彤, 左进华, 等. 腐胺对机械伤青椒果实生理品质和抗氧化能力的影响[J]. 食品工业科技, 2019, 40(5): 259-263
- [41] Zhang SJ. Construction of regulatory network for inositol phosphates metabolism in maize and functional identification of new genes[J]. Beijing: Doctoral Dissertation of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2015 (in Chinese)  
张少军. 玉米中磷酸肌醇代谢调控网络构建及相关基因功能鉴定[D]. 北京: 中国农业科学院博士学位论文, 2015
- [42] Xing LW, Dong J. Change rule of soil moisture under different types of crusts in Antaibao Ore-district[J]. *Shanxi Science and Technology*, 2019, 34(1): 37-42 (in Chinese)  
邢立文, 董娟. 安太堡矿区在不同类型结皮影响下土壤水分



- 的变化规律[J]. 山西科技, 2019, 34(1): 37-42
- [43] Makdessi K, Andreesen JR, Pich A. Tungstate uptake by a highly specific ABC transporter in *Eubacterium acidaminophilum*[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(27): 24557-24564
- [44] Bevers LE, Hagedoorn PL, Krijger GC, et al. Tungsten transport protein A (WtpA) in *Pyrococcus furiosus*: the first member of a new class of tungstate and molybdate transporters[J]. Journal of Bacteriology, 2006, 188(18): 6498-6505
- [45] Song ZH. Characterization of thiazole biosynthetic enzyme from *Acremonium chrysogenum* and the effect of thiamine on CPC production[D]. Shanghai: Master's Thesis of Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, 2017 (in Chinese)  
宋智慧. 顶头孢霉中噻唑合成酶的鉴定及硫酸素对CPC产量的影响[D]. 上海: 上海医药工业研究院硕士学位论文, 2017
- [46] Létoffé S, Delepelaire P, Wandersman C. The housekeeping dipeptide permease is the *Escherichia coli* heme transporter and functions with two optional peptide binding proteins[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(34): 12891-12896
- [47] Huang X, Li LL, Wang JH, et al. Functional discoveries and mechanistic studies of manganese transporters[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2018, 30(6): 603-614 (in Chinese)  
黄鑫, 李玲玲, 王君豪, 等. 锰离子转运蛋白的发现及功能机制研究进展[J]. 生命科学, 2018, 30(6): 603-614
- [48] Wu YD. Zn<sup>2+</sup>-mediated regulation and underlying mechanism for ABE fermentation by *Clostridium acetobutylicum*[D]. Dalian: Doctoral Dissertation of Dalian University of Technology, 2017 (in Chinese)  
吴又多. 锌离子对丙酮丁醇梭菌发酵的调控作用及机制[D]. 大连: 大连理工大学博士学位论文, 2017
- [49] Xu YR, Zhang L, Dou TL, et al. Inhibitory effect of intracellular zinc ions on the splicing of *Npu* Dna E[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2018, 49(5): 608-613 (in Chinese)  
许嫣然, 张蕾, 窦同璐, 等. 大肠埃希菌内锌离子对断裂内含肽 *Npu* DnaE 自剪接作用的抑制效应[J]. 中国医药工业杂志, 2018, 49(5): 608-613
- [50] Luo CL, Shao W, Ren WP, et al. Effects of different biotin levels on lipolysis and relevant genes expression of 3T3-L1 adipocytes[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2018, 45(7): 1783-1790 (in Chinese)  
雒诚龙, 邵伟, 任万平, 等. 不同生物素水平对 3T3-L1 脂肪细胞脂肪分解及相关基因表达的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2018, 45(7): 1783-1790
- [51] Wang JY, Zhu SG, Xu CF. Biochemistry (Part I)[M]. Beijing: Higher Education Press, 2007: 22 (in Chinese)  
王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学(上册)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2007: 22
- [52] Li CC. Mechanism study of cellulase hyper-production of *Trichoderma reesei* and its application[D]. Nanjing: Doctoral Dissertation of Southeast University, 2018 (in Chinese)  
李程程. 里氏木霉高产纤维素酶的机理研究和应用[D]. 南京: 东南大学博士学位论文, 2018
- [53] Wang N, Gao J, Zhang SQ, et al. Biological water saving and stress resistance in agriculture through trehalose[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2018, 36(3): 202-209 (in Chinese)  
王楠, 高静, 张岁岐, 等. 基于海藻糖的生物节水抗逆农业研究进展[J]. 干旱地区农业研究, 2018, 36(3): 202-209
- [54] Huang YS. Development and optimization of rapid enzymatic process for xylooligosaccharides preparation[D]. Tianjin: Master's Thesis of Tianjin University of Science and Technology, 2018 (in Chinese)  
黄永生. 酶法高效制备低聚木糖工艺的建立与优化[D]. 天津: 天津科技大学硕士学位论文, 2018
- [55] Guo QQ. The production of D-tagatose from lactose using  $\beta$ -galactosidase and L-arabinose isomerase[D]. Jinan: Master's Thesis of Shandong University, 2018 (in Chinese)  
郭青青. 利用 $\beta$ -半乳糖苷酶和L-阿拉伯糖异构酶由乳糖生产D-塔格糖[D]. 济南: 山东大学硕士学位论文, 2018
- [56] Su G, Liu YM, Long HY, et al. Determination of chloride ion, sulfate ion and phosphate ion in xylitol by ion chromatography and content evaluation of different levels of product[J]. Central South Pharmacy, 2019, 17(1): 102-104 (in Chinese)  
粟贵, 刘雁鸣, 龙海燕, 等. 离子色谱法测定木糖醇中氯离子、硫酸根离子和磷酸根离子及不同级别产品质量状况的评价[J]. 中南药学, 2019, 17(1): 102-104
- [57] Xu Q, Chen LH, Qin Z, et al. Monomer preparation and structure analysis of chitobiose and chitotriose[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(13): 13-18 (in Chinese)  
徐庆, 陈列欢, 秦臻, 等. 壳二糖、壳三糖单体制备及其结构分析[J]. 食品工业科技, 2017, 38(13): 13-18
- [58] You L, Zhao YX, Sui QQ, et al. Process optimization of hawthorn Pectin Oligogalacturonic Acid (PGA) yogurt drinks and inhibitory effect on lactic acid bacteria by PGA[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(15): 148-154 (in Chinese)  
由璐, 赵艳雪, 隋茜茜, 等. 山楂果胶低聚半乳糖醛酸(PGA)酸奶饮料工艺优化及 PGA 对乳酸菌的抑制作用[J]. 食品工业科技, 2019, 40(15): 148-154
- [59] Sperandeo P, Lau FK, Carpentieri A, et al. Functional analysis of the protein machinery required for transport of lipopolysaccharide to the outer membrane of *Escherichia coli*[J]. Journal of bacteriology, 2008, 190(13): 4460-4469
- [60] Sun Y. The mechanism against gram-negative bacteria and the effect on Lipopolysaccharide-induced inflammatory responses of chensinin-1b, an antimicrobial peptide analogue from Chinese brown frog, *Rana chensinensis*[D]. Dalian: Doctoral Dissertation of Liaoning Normal University, 2016 (in Chinese)  
孙玥. 中国林蛙抗菌肽 chensinin-1b 对革兰氏阴性菌的杀菌机制及抑制 LPS 诱导炎症反应的研究[D]. 大连: 辽宁师范大学博士学位论文, 2016

- [61] Chen GZ, Zhang YJ, Chen SY. Functions of Lol system proteins and surface-exposed mechanisms of lipoproteins in gram-negative bacteria[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2017, 57(12): 1769-1777 (in Chinese)  
陈国忠, 张燕娇, 陈师勇. 革兰氏阴性菌脂蛋白 Lol 系统转运蛋白的功能及表面展示分泌机制[J]. *微生物学报*, 2017, 57(12): 1769-1777
- [62] Wu L, Zhang GK, Chen XG, et al. Development and succession of biological soil crusts and the changes of microbial biomasses[J]. *Environmental Science*, 2014, 35(4): 1479-1485 (in Chinese)  
吴丽, 张高科, 陈晓国, 等. 生物结皮的发育演替与微生物生物量变化[J]. *环境科学*, 2014, 35(4): 1479-1485
- [63] Qi JH, Liu YB, Li XR, et al. AMF diversity analysis of lichen and moss biocrusts in Shapotou Region[J/OL]. *Acta Pedologica Sinica*(2019-09-03). <http://www.doc88.com/p-3476159780640.html> (in Chinese)  
漆婧华, 刘玉冰, 李新荣, 等. 沙坡头地区地衣和藓类结皮丛枝菌根真菌多样性研究[J/OL]. *土壤学报*(2019-09-03). <http://www.doc88.com/p-3476159780640.html>
- [64] Liu YB, Zhao LN, Wang ZR, et al. Changes in functional gene structure and metabolic potential of the microbial community in biological soil crusts along a revegetation chronosequence in the Tengger Desert[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 126: 40-48
- [65] Shi YH, Li GM, Huang Q. Synthesis of reactive surfactant of mono-alkyl phosphates[J]. *Chinese Journal of Applied Chemistry*, 2005, 22(7): 804-807 (in Chinese)  
石艳红, 李国明, 黄巧. 磷酸单酯反应型表面活性剂的合成[J]. *应用化学*, 2005, 22(7): 804-807
- [66] Wang XQ, Tong DB, Peng YF, et al. Study on preparation and properties of a phosphate anionic surfactant[J]. *Journal of Chongqing University of Technology (Natural Science)*, 2019, 33(3): 150-154 (in Chinese)  
汪晓琴, 童德彬, 彭玉凤, 等. 磷酸盐阴离子表面活性剂制备及性能研究[J]. *重庆理工大学学报: 自然科学*, 2019, 33(3): 150-154
- [67] Novikova M, Metlitskaya A, Datsenko K, et al. The *Escherichia coli* Yej transporter is required for the uptake of translation inhibitor microcin C[J]. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(22): 8361-8365
- [68] Xu N, Wang YL, Wang AQ, et al. Determination of macrolide residues in animal tissues by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Analytical Instrumentation*, 2013(6): 98-103 (in Chinese)  
徐娜, 王亚立, 王爱芹, 等. 液相色谱串联质谱法测定动物组织中大环内酯类残留量[J]. *分析仪器*, 2013(6): 98-103
- [69] Pasca MR, Guglielame P, Arcesi F, et al. Rv2686c-Rv2687c-Rv2688c, an ABC fluoroquinolone efflux pump in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2004, 48(8): 3175-3178
- [70] Zhang YJ, Li XJ, Mi KX. Mechanisms of fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Hereditas (Beijing)*, 2016, 38(10): 918-927 (in Chinese)  
张玉娇, 李晓静, 米凯霞. 结核分枝杆菌耐氟喹诺酮类药物的分子机制研究进展[J]. *遗传*, 2016, 38(10): 918-927
- [71] Kim AD, Baker AS, Dunaway-Mariano D, et al. The 2-aminoethylphosphonate-specific transaminase of the 2-aminoethylphosphonate degradation pathway[J]. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(15): 4134-4140
- [72] Zhang XH, Peng YZ, Jia FX, et al. Effect of the exogenous autoinducers on the anaerobic ammonium oxidation (anammox)[J]. *China Environmental Science*, 2018, 38(5): 1727-1733 (in Chinese)  
张向晖, 彭永臻, 贾方旭, 等. 外源自诱导物对厌氧氨氧化的影响[J]. *中国环境科学*, 2018, 38(5): 1727-1733
- [73] Zhang Y, Li MY, Huo L, et al. Biosynthesis of autoinducer-2 and determination of its bioactivity *in vitro*[J]. *International Journal of Stomatology*, 2016, 43(5): 519-523 (in Chinese)  
张鹰, 李明勇, 霍丽, 等. 变异链球菌自诱导物 2 信号分子的体外合成与活性检测[J]. *国际口腔医学杂志*, 2016, 43(5): 519-523
- [74] Sun XH, Miao LC, Tong TZ, et al. Effect of methods of adding urea in culture media on sand solidification tests[J]. *Chinese Journal of Geotechnical Engineering*, 2018, 40(5): 939-944 (in Chinese)  
孙潇昊, 缪林昌, 童天志, 等. 砂土微生物固化过程中尿素的影响研究[J]. *岩土工程学报*, 2018, 40(5): 939-944
- [75] Medrano MS, Ding YP, Wang XG, et al. Regulators of expression of the oligopeptide permease A proteins of *Borrelia burgdorferi*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(7): 2653-2659
- [76] Li ZX. Metabolic engineering construction of 5-aminolevulinic acid producing strain[D]. Tianjin: Master's Thesis of Tianjin University of Science and Technology, 2018 (in Chinese)  
李智祥. 5-氨基乙酰丙酸生产菌的代谢工程构建[D]. 天津: 天津科技大学硕士学位论文, 2018
- [77] Park CH, Li XR, Zhao Y, et al. Rapid development of cyanobacterial crust in the field for combating desertification[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0179903