



骆驼瘤胃内降解含氮杂环化合物细菌的多样性

庄伟伟¹, 郑李娟², 曾献春^{3*}

¹新疆师范大学生命科学学院, 新疆特殊环境物种保护与调控生物学实验室, 干旱区植物逆境生物学实验室, 新疆 乌鲁木齐 830054

²乌鲁木齐市职业中等专业学校, 新疆 乌鲁木齐 830001

³成都医学院检验医学院, 四川 成都 610500

摘要:【目的】作为典型的荒漠动物, 骆驼能够采食其他动物不能够食用的具有强烈气味的或有毒的植物, 而不影响其正常生理代谢。研究发现骆驼采食的植物毒素与吡啶、喹啉、吡咯等杂环化合物具有相似的化学结构, 所以研究骆驼体内是否存在潜在的杂环化合物降解菌具有重要意义。【方法】本研究采集 3 头骆驼瘤胃内容物, 分别以吡啶、喹啉和吡咯 3 种含氮杂环化合物为唯一碳源和氮源进行 5 代富集培养。通过高通量测序技术对瘤胃内容物和 5 代富集培养细菌进行了测序分析。【结果】骆驼肠道中降解杂环化合物(吡啶、喹啉、吡咯)细菌群体样品中变形菌门、放线菌门、拟杆菌门、浮霉菌门和厚壁菌门等 5 个门类丰富度最高。骆驼瘤胃内降解吡啶的优势菌可能属于鞘氨醇杆菌属和不动杆菌属, 降解吡咯的优势菌主要属于芽孢杆菌属, 而降解喹啉的优势菌可能以赖氨酸芽孢杆菌属和鞘氨醇杆菌属为主。【结论】骆驼瘤胃原始样品经过吡啶、喹啉、吡咯富集 5 代后, 与原始样品比较优势菌群发生了较大的改变, 这说明骆驼瘤胃内蕴含降解吡啶、吡咯和喹啉的细菌, 但对吡啶、吡咯和喹啉的降解过程中发挥降解作用的细菌群落存在差异。

关键词: 骆驼消化道, 吡啶, 喹啉, 吡咯, 生物多样性

含氮杂环化合物广泛存在于石油冶炼、焦化、医药、农药等工业污染物中, 通常具有强烈刺激性气味和毒性, 部分具有致癌、致畸和致突变等效应。含氮杂环化合物由于物理化学稳定性好, 在自然界很难被其他生物所降解, 可在土壤和水

体中长期稳定存在和积累, 对环境和人体健康构成了巨大的潜在威胁^[1-2]。因此, 系统研究和筛选可降解含氮杂环化合物的细菌, 对维护生态环境和减缓环境污染物对环境及人类的危害具有重要意义。

近年来, 诸多学者对杂环化合物的生物降解

基金项目: 国家自然科学基金(31160028); 新疆师范大学博士科研启动基金(XJNUBS1607); 新疆联合基金(U1503101); 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2016D01B049)

*通信作者。E-mail: zengxc2004@163.com

收稿日期: 2016-10-19; 修回日期: 2016-02-10; 网络出版日期: 2017-03-02

做了大量研究,从污染水体、土壤、植物和动物体内分别筛选出了许多高效降解菌^[3-5]。尽管人们很早就发现反刍动物具有耐受或降解植物毒素的能力,但对动物体内微生物的研究多集中在复杂碳水化合物化合物的降解、甲烷代谢及不饱和脂肪酸氢化等 3 个方面^[6]。在这些动物瘤胃内是否具有类似的可降解难降解杂环化合物的微生物的研究报道还较少。

骆驼(*Camelus bactrianus*)是新疆的特色养殖家畜,虽说家养但也基本属于半野生状态^[7]。作为典型的荒漠动物,其通常采食其他动物不愿采食的带有强烈异味、有刺、带毛、含盐量高、甚至有毒的骆驼蓬(*Peganum harmala* L.)、假木贼(*Anabasis* sp.)、狼毒(*Stellera chamaejasme* L.)、骆驼刺(*Alhagi sparsifolia*)等野生植物^[8-9]。这些有毒植物体内含有许多植物毒素,大多数动物大量食用后可抑制中枢神经系统、抑制呼吸系统及心脏,使血压下降而死亡。而骆驼却能大量食用这些有毒物质而不中毒,也不影响其正常生理机能。

骆驼摄入这些植物毒素不会中毒,主要原因是依赖于其消化道中的微生物发挥生理功能^[7,10-11],研究发现骆驼消化道内的乳酸杆菌类(*Lactobacilli*)对其去氢骆驼蓬碱、吡啶等有耐受和降解作用^[7]。郑丽娟等^[2]通过气相色谱-质谱联用仪检测对骆驼消化道微生物的筛选发现其内产碱菌(*Alcaligenes* sp.)和芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)对吡啶有很好的降解效果。另外骆驼蓬、骆驼蓬碱、双稠吡咯啉等生物碱基本结构与杂环化合物基本结构相似^[12],而瘤胃是反刍动物极其重要的消化器官,占全胃的 80%,其内微生物在反刍动物营养代谢,尤其是粗饲料利用方面起举足轻重的作用^[13]。因此我们通过瘤胃内容物和 3 种杂环化合物为唯一碳源的 5 代富集培养细菌进行了高通量测序技术分析,对骆驼瘤胃内降解 3 种含氮杂环化合物降解细菌多样

性的研究,旨在从骆驼瘤胃内筛选出潜在的对含氮杂环化合物具有高效降解的菌株。

1 材料和方法

1.1 样品采集

于乌鲁木齐市屠宰场在无菌条件下随机采集 3 头骆驼的瘤胃内容物,带回实验室进行富集培养。

1.2 培养基与试剂

1.2.1 无机盐培养基:磷酸氢二钠 4.26 g,磷酸二氢钾 2.65 g,氯化钙 0.02 g,七水硫酸镁 0.20 g,七水硫酸锰 0.002 g,七水硫酸亚铁 0.01 g,硝酸铵 1.00 g,无菌蒸馏水定容至 1000 mL,调节 pH 值为 7.0,于 121 °C 高温蒸汽灭菌 20 min。

1.2.2 LB 液体培养基:蛋白胨 10.00 g,酵母浸出粉 5.00 g,氯化钠 10.00 g,无菌蒸馏水定容至 1000 mL,调节 pH 值为 7.0,于 121 °C 高温蒸汽灭菌 20 min。

1.2.3 所用药品及试剂:吡啶标准品(Aladdin, 色谱纯),吡啶标准品(Aladdin, 色谱纯),喹啉标准品(Aladdin, 色谱纯),OMEGA 土壤 DNA 提取试剂盒和 SuPrep 凝胶 DNA 提取试剂盒。

1.3 主要实验仪器

仪器 PCR 反应扩增仪(加拿大 BBI 公司);凝胶成像系统(Gene Genius 公司);U-3010 紫外-可见分光光度计(Hitachi 公司);离心机, SIGMA 2-16P;恒温振荡培养箱(HZQ-Q100 型),气相色谱-质谱联用仪(Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS): Agilent 7890A-5975C。

1.4 细菌的富集培养与 DNA 提取

将无菌采集的 3 头骆驼瘤胃细菌混合,用无菌水在 37 °C 振荡培养,静置 15 min。以 5%接种量分别接种到配置的不同浓度的 400 mg/L 吡啶、

400 mg/L 喹啉、500 ng/L 吡啶为唯一碳氮源的无机盐培养基, 37 °C、180 r/min 振荡培养, 在培养过程中利用分光光度计对细菌浓度进行 OD 值测定, 在每隔 5 d (细菌生长的对数期) 移取 5 mL 培养液转接到上述新鲜的培养基, 以此类推, 历时 5 代共计培养 25 d。

分别将来源于 3 种不同培养基的第 1–5 代培养物离心收集菌体, 每个处理为 3 个重复, 用 OMEGA 土壤 DNA 提取试剂盒(上海玉博生物科技有限公司, D5625)提取培养物的总 DNA。DNA 质量与浓度($OD_{260/280}$ 和 $OD_{260/230}$)采用 NanoDrop 2000 测定仪测定, 选取 DNA 浓度大于 10 ng/mL 的样品, 将浓度调到 10 ng/mL 后储存于 -20 °C 中备用。

1.5 细菌 16S rRNA 基因的扩增与高通量测序

以细菌通用引物 16S rRNA V4 高变区 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 909R (5'-CCCCGYCAATTCMTTTRAGT-3')^[14]为引物, 进行 PCR 扩增。反应体系为 25 μ L 总体积, 1 \times PCR 缓冲液, 1.5 mmol/L MgCl₂, 0.4 mol/L 的三磷酸脱氧核苷, 1.0 μ mol/L 的引物, 0.5 U Ex *Taq*, 10 ng 基因组总 DNA^[14]。反应程序: 94 °C 3 min; 94 °C 40 s, 56 °C 60 s, 72 °C 60 s, 30 个循环, 72 °C 10 min, 同时在进行 PCR 时用无菌去离子水做阴性对照。为保证样品扩增量, 每个样品进行 2 次 PCR 扩增, 并将 2 次 PCR 扩增产物混合。PCR 产物用 1.0% 琼脂糖凝胶进行电泳检测。使用 SuPrep 凝胶 DNA 提取试剂盒进行纯化, 将 3 个重复样品进行混合采用 Illumina Miseq system 测序。

1.6 数据分析

采用 QIIME Pipeline-Version 1.7.0 软件进行处理, 去除低质量原始测序数据, 利用 UChime 去除嵌合体序列^[15]。可操作分类单元(OTU)根据

97%的序列相似性阈值进行归类。基于 97%序列相似性对各样品进行 Goods 覆盖度、Chao I 和 Shannon 多样性指数分析, 这些则是利用 QIIME 平台完成, 通过 RDP Classifier 鉴定 OTU 代表性序列的细菌分类地位(80%置信水平)。用主坐标分析(Principal coordinates analysis, PCoA)方法分析样品之间的细菌群落结构差异, 用 Origin 对瘤胃内降解菌在门、科、属水平的相对丰度进行了作图^[16–19]。

2 结果和分析

2.1 稀释性曲线

通过 Illumina Miseq 平台进行测序, 骆驼瘤胃降解杂环化合物(吡啶、喹啉、吡啶) 16 个样品中(原样 1 个, 每代 3 个)所测得的序列数目不可能完全一致。采用 QIIME Pipeline-Version 1.7.0 软件进行处理, 随机抽样将测序深度均一化、数据标准化后, 每个样品保留 6010 条序列, 构建一个新的、数量均衡的样品序列数据库, 在此数据库基础上, 所有样品在相似度 97%条件下绘制稀释曲线(图 1)。

随着测序深度增加, OTU 的数量增加, 当曲线趋于平缓时表示此时数据量较为合理。如图 1 所示, 骆驼瘤胃中降解 3 种杂化化合物的细菌菌群样品的取样深度, 每个样品都显示相似的变化趋势。在测序量较少时, 每个样品的 OTU 数目呈明显上升的趋势, 而随着测试数量的增加, 每个样品 OTU 数目增加的趋势渐渐变缓, 最后基本趋于饱和^[20–21]。虽然样品稀释曲线没有得到完全的平缓, 但斜率在不断减小, 更多的测序数据量只会增长少量的覆盖度, 同时大大提高成本。本实验样本的取样深度及测序数据量合理, 能够较好地反映骆驼瘤胃中降解 3 种杂化化合物的细菌菌群情况。

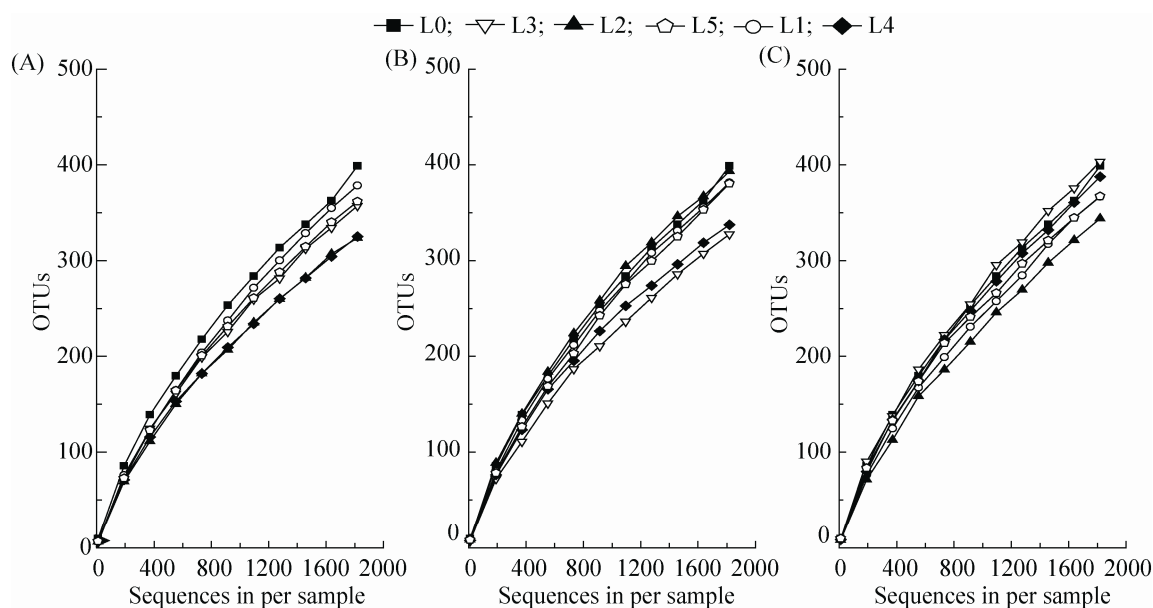


图 1. 骆驼瘤胃降解吲哚细菌 16S rRNA 相似水平为 97% 的稀释性曲线

Figure 1. The rarefaction curves of the camel rumen bacteria degrading indole with 97% similar by 16S rRNA comparison. A: degrading pyridine; B: degrading quinolone; C: degrading indole.

2.2 降解杂环化合物的细菌测序统计

通过 Illumina Miseq 平台进行测序, 骆驼瘤胃降解杂环化合物(吡啶、喹啉、吲哚) 16 个样品中共获得 575952 条序列。经过均一化、数据标准化后, 在 97% 的相似性水平上共划分出 21609.7 个 OTU。对各样品中的细菌 Shannon 指数、Chao I 指数、Good's 指数等指标进行综合分析^[22]。稀释后的物种丰富度指数: Chao I 介于 2625.48 和 5114.88 之间。Chao I 指数是 OTU 数目的 2 倍左右, 表明本研究的细菌多样性测序深度达到了丰富度估计值的 50% 左右。Shannon 指数介于 6.08 和 8.88 之间。所有样品中的 Chao I 指数和 Shannon 指数无显著差异 ($P > 0.05$), 说明骆驼瘤胃降解吡啶、降解喹啉和降解吲哚的细菌具有相似的细菌多样性水平。所有样品的 Good's 覆盖率介于 75.2% 和 88.6% 之间, 表明生境中的大部分细菌物种信息都能被本研究捕捉到。

2.3 降解杂环化合物的细菌多样性与丰富度指数

骆驼肠道中降解 3 种不同杂环化合物的细菌的多样性和丰富度指数存在差异。降解吡啶、喹啉和吲哚细菌中的 Shannon 指数、Chao I 指数、OTU 指数最高分别出现在第 2 代样品(8.88、5114.88、2095.7)、第 3 代样品(8.71、4943.66、2187.1)和第 5 代样品(6.71、3371.26、1250.8) (表 1-3)。表明不同培养代数的骆驼肠道细菌样品中, 降解吡啶、喹啉和吲哚 3 种杂环化合物的细菌多样性不同。

2.4 Weighted UniFrac PCoA 分析

通过 Weighted UniFrac PCoA 利用各样品序列间的进化信息来计算样品间距离, 反映环境样品在进化树中是否有显著的细菌群落差异, 聚在一起的代表差异不大, 相距远的代表差异大(图 2)。结果发现, 骆驼瘤胃中各代降解 3 种杂环化合物的细菌群体样品与原始样品差异均较大。在降解吡

表 1. 骆驼瘤胃降解吡啶细菌样品之间的细菌多样性分析

Table 1. The diversity analysis of microorganisms degrading pyridine from the camel rumen

Sample	Chao I	Observed OTU	Shannon index	Simpson index	Goods coverage/%
L0	743.611	362.6	6.319	0.951	86.70
LB1	887.652	344.7	5.938	0.940	86.10
LB2	835.349	321.3	5.651	0.924	87.20
LB3	897.637	375.7	6.609	0.972	85.30
LB4	837.361	360.6	6.103	0.944	86.20
LB5	729.970	344.7	6.258	0.958	87.50

L0 is the rumen original sample; LB1, LB2, LB3, LB4 and LB5 are the first, second, third, fourth and fifth generation samples of rumen degrading pyridine, respectively.

表 2. 骆驼瘤胃降解喹啉细菌样品之间的细菌多样性分析

Table 2. The diversity analysis of microorganisms degrading quinoline from the camel rumen

Sample	Chao I	Observed OTU	Shannon index	Simpson index	Goods coverage/%
L0	743.611	362.6	6.319	0.951	86.70
LK1	767.849	355.7	5.729	0.894	86.90
LK2	769.189	367.1	6.018	0.909	86.70
LK3	719.771	307.4	5.036	0.833	88.30
LK4	659.230	318.8	5.741	0.924	88.70
LK5	823.123	353.0	5.990	0.942	86.00

L0 is the rumen original sample; LK1, LK2, LK3, LK4 and LK5 are the first, second, third, fourth and fifth generation samples of rumen degrading quinoline, respectively.

表 3. 骆驼瘤胃降解吲哚细菌样品之间的细菌多样性分析

Table 3. The diversity analysis of microorganisms degrading indole from the camel rumen

Sample	Chao I	Observed OTU	Shannon index	Simpson index	Goods coverage/%
L0	743.611	362.6	6.319	0.951	86.70
LY1	858.841	354.9	5.313	0.842	85.80
LY2	735.726	307.2	4.829	0.798	88.10
LY3	799.269	334.3	4.985	0.801	87.00
LY4	659.742	304.2	4.962	0.812	88.80
LY5	812.049	340.2	5.414	0.878	86.50

L0 is the rumen original sample; LB1, LB2, LB3, LB4 and LB5 are the first, second, third, fourth and fifth generation samples of rumen degrading indole, respectively.

吡啶的细菌群体中, 各代数培养的降解菌菌群与原始样品差异较大, 而第 1、2、4 和 5 代样品之间的差异相对较小(图 2-A)。降解喹啉细菌菌群各代样品之间差异均较大(图 2-B)。而骆驼瘤胃中降解吲哚细菌群体样品除与原始样差异较大外, 各代样品之间差异较小(图 2-C)。

2.5 降解杂环化合物的细菌群落组成

将所得序列与 SILVA 数据库进行比对可知, 最相近的序列分属 24 个门, 185 个科, 315 个属。其中变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、浮霉菌门(Planctomycetes)和厚壁菌门(Firmicutes)组成了丰度最高的 5 个门类(图 3-A)。

在骆驼肠道降解 3 种杂环化合物的原始细菌的类群中, 变形菌门和厚壁菌门占优势。但随着在 3 种不同杂环化合物无机盐培养基中培养代数的增加, 降解 3 种不同杂环化合物的细菌优势菌群发生了不同的变化。除第 4 代外, 随着在添加吡啶的无机盐培养基中培养, 变形菌门菌类丰富度基本呈现减少趋势, 而拟杆菌门相对丰富度逐渐增加(图 3-A)。对于降解喹啉的优势菌群来说, 在第 1 和第 2 代培养中厚壁菌门很快代替变形菌门成为优势菌群(图 3), 但至第 3 代以后变形菌门重新变为了优势菌群。与之不同的是在添加吲哚的无机盐培养基中, 厚壁菌门替代变形菌门成为优势菌群(图 3-A), 随着培养代数的增加, 放线菌门丰富度明显增加。

奈瑟氏菌科(Neisseriaceae)和莫拉氏菌科(Moraxellaceae)是瘤胃原始样品中最为丰富的科(图 3-B), 经培养后鞘脂杆菌科(Sphingobacteriaceae)、莫拉氏菌科、假单胞菌科(Pseudomonadaceae)、奈瑟氏菌科(Neisseriaceae)和芽孢杆菌科(Bacillaceae)成为降解吡啶最丰富的菌群, 假单胞菌科、动

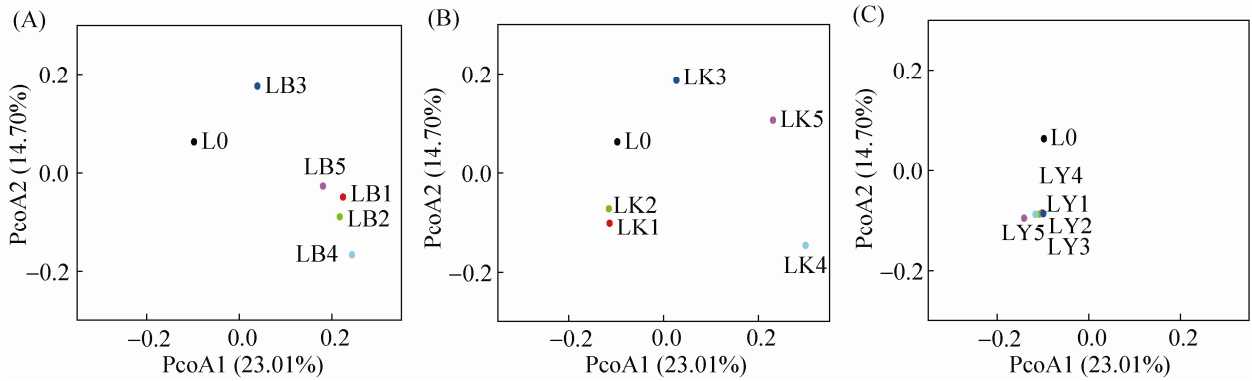


图 2. 骆驼瘤胃内降解 3 种杂环化合物的细菌 Weighted UniFrac PCoA 分析

Figure 2. Weighted UniFrac analysis of the camel rumen bacteria degrading three heterocyclic compounds. A: degrading pyridine; B: degrading quinolone; C: degrading indole.

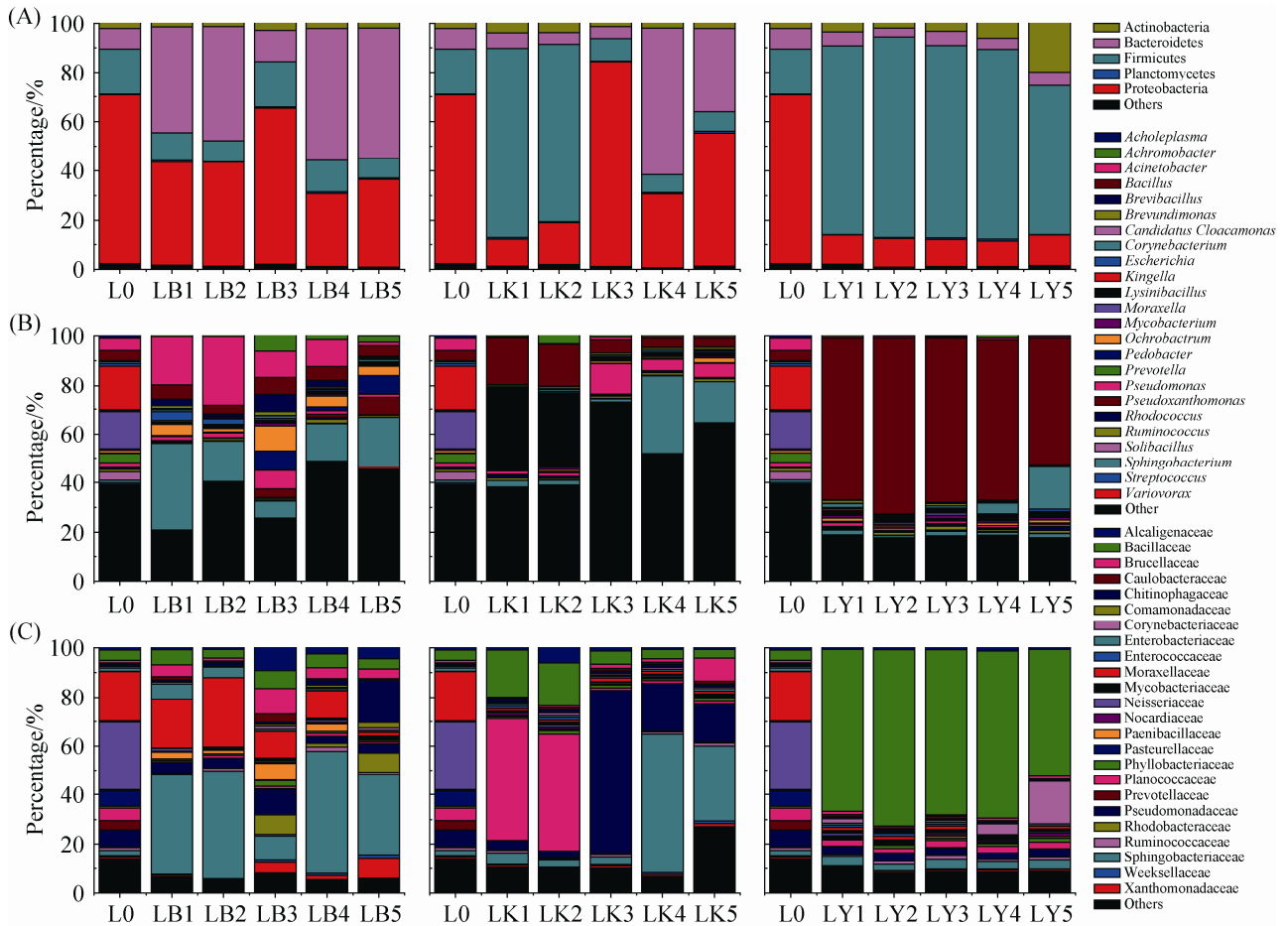


图 3. 骆驼瘤胃内降解 3 种杂环化合物的细菌优势类群的相对丰度

Figure 3. The relative abundance of the dominant groups among the camel rumen bacteria degrading three heterocyclic compounds. A: phylum level; B: family level; C: genus level. LB: degrading pyridine; LK: degrading quinolone; LY: degrading indole.

性球菌科(Planococcaceae)、鞘脂杆菌科、芽孢杆菌科和奈瑟氏菌科成为降解喹啉最丰富的菌群,降解吡啶最丰富的菌群为芽孢杆菌科、棒状杆菌科(Corynebacteriaceae)、莫拉氏菌科、奈瑟氏菌科和假单胞菌科,其中奈瑟氏菌科、假单胞菌科和芽孢杆菌科在 3 种培养基上均具有很高的丰富度。

在属水平上(图 3C),瘤胃原始样品中莫拉克氏菌属(*Moraxella*)和金氏菌属(*Kingella*)是最为丰富的类群,其中鞘氨醇杆菌属(*Sphingobacterium*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、苍白杆菌属(*Ochrobactrum*)和金氏菌属是降解吡啶最丰富的菌群,赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus*)、鞘氨醇杆菌属、芽孢杆菌属、假单胞菌(*Pseudomonas*)和金氏菌属是降解喹啉最丰富的菌群,芽孢杆菌属、棒状杆菌属(*Corynebacterium*)、金氏菌属、莫拉克氏菌属和不动杆菌属是降解吡啶最丰富的菌群。其中金氏菌属和芽孢杆菌在 3 种培养基上均具有较高的丰富度。

3 讨论

由于传统生物培养的限制,自然界 99%的微生物无法在实验室培养,为了进一步了解骆驼消化道细菌群落结构对杂环化合物的响应,采用高通量测序技术分析骆驼消化道降解杂环化合物细菌菌群组成和响应变化,获得主要起降解作用的优势菌群,能够为后期骆驼消化道细菌降解杂环化合物的研究奠定基础。

从污染水体、土壤、植物和动物体内均有许多高效降解的菌存在。现阶段对高效降解菌的富集、筛选和分离主要集中在废水和受污染土壤,对动物体内原生的降解菌还研究甚少。通过对焦化废水或污泥中富集培养和筛选分离,不同学者

均筛选出能够有效降解吡啶、喹啉等杂环化合物的降解菌^[23-24]。王基成等^[25]从石油污染土壤样品中分离得到了 260 株高效降解杂环化合物的菌,其中降解效率最高的 2 个降解菌分别是产硫酸杆菌属和屈挠杆菌属。Kohsari 等^[5]从被石油污染环境中的地衣中分离获得 1 株杆菌,在以喹啉为唯一碳源、氮源和能源的培养基中培养,可以较好利用喹啉,转化率达到 35%。日本学者研究山羊瘤胃微生物对吡啶及其化合物降解作用,发现山羊瘤胃微生物可有效降解吡啶及其化合物^[26]。在本研究中也发现,在骆驼瘤胃内存在潜在的降解吡啶、喹啉和吡啶等含氮杂环化合物的降解菌。

研究发现,骆驼肠道中降解杂环化合物(吡啶、喹啉、吡啶)细菌群体样品与原始样差异较大。其中骆驼瘤胃和肠道中降解吡啶、喹啉样品之间差异较大,降解吡啶样品之间差异较小。对细菌群落组成而言,最相近的序列分属 24 个门类。其中变形菌门、放线菌门、拟杆菌门、浮霉菌门和厚壁菌门等 5 个门类丰富度最高。骆驼瘤胃原始样品经过吡啶、喹啉、吡啶富集 5 代后,与原始样品比较优势菌群发生了较大改变,吡啶胁迫之后的优势菌群为拟杆菌门;吡啶胁迫之后的优势菌群为厚壁菌门;喹啉胁迫后优势菌群没有明显变化,仍为变形菌门。在科水平,由原始的奈瑟氏菌科和莫拉氏菌科经吡啶、喹啉和吡啶 3 种杂环化合物富集后分别转换为鞘脂杆菌科和莫拉氏菌科、假单胞菌科和动性球菌科、芽孢杆菌科和棒状杆菌科。这说明骆驼消化道细菌对吡啶、吡啶和喹啉的降解过程中发挥降解作用的细菌群落存在差异。

研究结果显示,在骆驼瘤胃内,鞘氨醇杆菌属、不动杆菌属、芽孢杆菌属、苍白杆菌属和金

氏菌属是降解吡啶最丰富的菌群, 这与郑丽娟等对骆驼瘤胃内降解吡啶菌的研究结果相似^[2]。凌海波等^[27]从焦化废水中筛选降解喹啉的菌株中发现假单胞菌属(*Pseudomonas*)、黄色杆菌属(*Flavobacterium*)、短芽孢杆菌属(*Brevibacillus*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)是主要降解菌, 其中的假单胞菌属和芽孢杆菌属也是在本研究中骆驼瘤胃中降解喹啉的优势菌群。这在柏耀辉等^[28]在首钢和武钢焦化厂废水处理系统的活性污泥中分离的4株高效降解喹啉的微生物也均属于假单胞菌属。但与分离自绵羊瘤胃内的可降解双稠吡咯啉生物碱的厌氧弧菌属(*Anaerovibrio*)、脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)、巨球形菌属(*Megasphaera*)、普雷沃氏菌属(*Prevotella*)和 *Synergistes* 菌属存在显著的差异^[10]。同时, 在本研究中发现芽孢杆菌、棒状杆菌属、金氏菌属、莫拉克斯氏菌属和不动杆菌属是降解吡啶最丰富的菌群。

综上所述表明在骆驼瘤胃内降解吡啶的优势菌可能属于鞘氨醇杆菌属和不动杆菌属, 降解吡啶的优势菌主要属于芽孢杆菌属, 而降解喹啉的优势菌可能以赖氨酸芽孢杆菌属和鞘氨醇杆菌属为主。

参 考 文 献

- [1] Zhang XJ, Xie Z, Ma XJ. Domestic researches on the microbial degradation of the recalcitrant pollutant-quinoline. *Microbiology China*, 2014, 41(3): 476-481. (in Chinese)
张晓君, 谢珍, 马晓军. 难降解污染物喹啉微生物降解的国内研究进展. *微生物学通报*, 2014, 41(3): 476-481.
- [2] Zheng LJ, Ge FW, An DD, Fei YY, Zeng XC. Isolation and screening of pyridine-degrading strain in the digestive tract of camels. *Journal of Xiamen University (Natural Science)*, 2015, 54(1): 41-46. (in Chinese)
郑李娟, 葛风伟, 安登第, 费莹莹, 曾献春. 骆驼消化道中吡啶降解菌的分离筛选. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2015, 54(1): 41-46.
- [3] Zheng LJ, An DD, Fei YY, Tang Q, Zeng XC. Study on the biodegradation of pyridine by *Lactobacillus reuteri* from camel rumen extracts. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2015, 34(4): 361-366. (in Chinese)
郑李娟, 安登第, 费莹莹, 唐琴, 曾献春. 骆驼瘤胃乳酸菌对吡啶的降解研究. *食品与生物技术学报*, 2015, 34(4): 361-366.
- [4] Ren DJ, Yan KL, Liu YJ, Zhang XY, Lu XH. Biodegradation of indole and pyridine by white rot fungi in rice straw. *Environmental Pollution & Control*, 2006, 28(9): 658-661. (in Chinese)
任大军, 颜克亮, 刘延杰, 张晓昱, 陆晓华. 白腐菌在固体培养基下对吡啶和吡啶的降解. *环境污染与防治*, 2006, 28(9): 658-661.
- [5] Kohsari S, Mashayekhi M, Farajpour E. Quinoline biodegradation by *Bacillus licheniformis* strain CRC-75. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 2010, 29(2): 151-158.
- [6] Liu KL, Wang JQ, Bu DP. Annual review of ruminant nutrition in 2008-2009 I. Diversity and functionality of rumen microflora. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2010, 37(2): 5-14. (in Chinese)
刘开朗, 王加启, 卜登攀. 2008-2009 年反刍动物营养研究进展 I. 瘤胃微生物多样性与功能. *中国畜牧兽医*, 2010, 37(2): 5-14.
- [7] An DD, Zhu YL, Tang J, Ye YX, Zeng XC. Screening of harmine tolerance/degrading bacteria from camel rumen. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, 50(8): 1001-1007. (in Chinese)
安登第, 朱艳蕾, 唐静, 叶永霞, 曾献春. 骆驼瘤胃耐受/降解去氢骆驼蓬碱细菌的筛选. *微生物学报*, 2010, 50(8): 1001-1007.
- [8] Kaczynsky P, Adiya Y, von Wehrden H, Mijiddorj B, Walzer C, Güthlin D, Enkhbileg D, Reading RP. Space and habitat use by wild Bactrian camels in the Transaltai Gobi of southern Mongolia. *Biological Conservation*, 2014, 169: 311-318.
- [9] Cutrignelli MI, Calabrò S, Tudisco R, Zicarelli F, Gazaneo MP, Piccolo V. Comparison of buffalo rumen liquor and buffalo faeces as inoculum for the *in vitro* gas production technique. *Italian Journal of Animal Science*, 2005, 4(S2): 319-321.
- [10] Rattray RM, Craig AM. Molecular characterization of sheep ruminal enrichments that detoxify pyrrolizidine alkaloids by denaturing gradient gel electrophoresis and cloning. *Microbial Ecology*, 2007, 54(2): 264-275.
- [11] Wang J. Study on microbial community structure of nitrogen removal process in landfill bioreactor by using

- high-throughput sequencing and other molecular. Shanghai: Master's Thesis of East China Normal University, 2014. (in Chinese)
- 王洁. 高通量测序等分子生物学技术研究填埋场生物反应器脱氮微生物群落变化. 华东师范大学硕士学位论文, 2014.
- [12] Tamaki H, Wright CL, Li XZ, Lin QY, Hwang C, Wang SP, Thimmapuram J, Kamagata Y, Liu WT, Moustafa A. Analysis of 16S rRNA amplicon sequencing options on the Roche/454 next-generation titanium sequencing platform. *PLoS One*, 2011, 6(9): e25263.
- [13] Zhang CY, Hu GL, Cao HB. Characteristics and regulation measures of rumen environment of ruminants. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2010, 37(4): 18-20. (in Chinese)
- 张彩英, 胡国良, 曹华斌. 反刍动物瘤胃内环境的特点及调控措施. *中国畜牧兽医*, 2010, 37(4): 18-20.
- [14] Li XZ, Rui JP, Mao YJ, Yannarell A, Mackie R. Dynamics of the bacterial community structure in the rhizosphere of a maize cultivar. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 68: 392-401.
- [15] Edgar RC, Haas BJ, Clemente JC, Quince C, Knight R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics*, 2011, 27(16): 2194-2200.
- [16] Yin XQ, Wu DH, Han XM. Diversity of soil animals community in Xiao Hingan mountains. *Scientia Geographica Sinica*, 2003, 23(3): 316-322. (in Chinese)
- 殷秀琴, 吴东辉, 韩晓梅. 小兴安岭森林土壤动物群落多样性的研究. *地理科学*, 2003, 23(3): 316-322.
- [17] Ma KP, Liu YM. Measurement of biotic community diversity I: α diversity (Part 2). *Chinese Biodiversity*, 1994, 2(4): 231-239. (in Chinese)
- 马克平, 刘玉明. 生物群落多样性的测度方法 I: α 多样性的测度方法(下). *生物多样性*, 1994, 2(4): 231-239.
- [18] Gilbert JA, Field D, Swift P, Newbold L, Oliver A, Smyth T, Somerfield PJ, Huse S, Joint I. The seasonal structure of microbial communities in the Western English Channel. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(12): 3132-3139.
- [19] Chao A, Bunge J. Estimating the number of species in a stochastic abundance model. *Biometrics*, 2002, 58(3): 531-539.
- [20] Zhen P. Study on microecology of pit mud. Zigong: Master's Thesis of Sichuan University of Science & Engineering, 2010. (in Chinese)
- 甄攀. 窖泥微生态研究. 四川理工学院硕士学位论文, 2010.
- [21] Wei TY, Lin HX, Xie LH. Optimization of the conditions affecting PCR-SSCP analysis. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2002, 31(1): 22-25. (in Chinese)
- 魏太云, 林含新, 谢联辉. PCR-SSCP 分析条件的优化. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2002, 31(1): 22-25.
- [22] Zhang W, Zhu YL, Zhu XY, Dilibar T, Chen YF. Microbial community diversity and quantity of Xinjiang oligotrophic environment. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2013, 19(2): 370-374. (in Chinese)
- 张伟, 朱艳蕾, 朱晓莹, 迪里拜尔·托乎提, 陈一峰. 新疆贫营养环境微生物数量及多样性. *应用与环境生物学报*, 2013, 19(2): 370-374.
- [23] Liu JJ, Chen LJ, Wen DH, He YS, Qiao L, Xia M, Li Y. Biodegradation of pyridine in the slurry system. *Ecology and Environment*, 2006, 15(6): 1180-1184. (in Chinese)
- 刘江江, 陈吕军, 温东辉, 何玉山, 乔琳, 夏勉, 李毅. 泥浆体系中吡啶的生物降解研究. *生态环境*, 2006, 15(6): 1180-1184.
- [24] Bai YH, Sun QH, Zhao C, Wen DH, Tang XY. Microbial degradation and metabolic pathway of pyridine by a *Paracoccus* sp. strain BW001. *Biodegradation*, 2008, 19(6): 915-926.
- [25] Wang JC, Zhang XX, Fang MM, Wu WL, Zhao CC, Lu J. Isolation and identification of two pyridine-degrading strain. *Ecology and Environment*, 2008, 17(1): 117-121. (in Chinese)
- 王基成, 张秀霞, 房苗苗, 吴伟林, 赵朝成, 鲁军. 两株吡啶降解菌的分离与鉴定. *生态环境*, 2008, 17(1): 117-121.
- [26] Mohammed N, Onodera R, Or-Rashid MM. Degradation of tryptophan and related indolic compounds by ruminal bacteria, protozoa and their mixture *in vitro*. *Amino Acids*, 2003, 24(1/2): 73-80.
- [27] Ling HB, Zhang JD, Li HD. Study on practice of throwing preponderant bacteria to coke-plant wastewater degradation. *Energy Environmental Protection*, 2005, 19(5): 16-19, 38. (in Chinese)
- 凌海波, 张敬东, 李捍东. 投加高效菌种处理难降解焦化废水的实验研究. *能源环境保护*, 2005, 19(5): 16-19, 38.
- [28] Bai YH, Sun QH, Zhao C, Wen DH, Tang XY. Community characteristics of quinoline-degrading bacteria in coking wastewater treatment system. *China Environmental Science*, 2008, 28(5): 449-455. (in Chinese)
- 柏耀辉, 孙庆华, 赵翠, 温东辉, 唐孝炎. 焦化废水处理系统中喹啉降解菌的种群特征. *中国环境科学*, 2008, 28(5): 449-455.

Diversity of camel rumen bacteria degrading nitrogen heterocyclic compounds

Weiwei Zhuang¹, Lijuan Zheng², Xianchun Zeng^{3*}

¹ Key Laboratory of Species Diversity Application and Control in Xinjiang, College of Life Sciences, Key Laboratory of Plant Stress Biology in Arid Land, Xinjiang Normal University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

² Urumqi City Occupation Technical Secondary School, Urumqi 830001, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

³ School of Laboratory Medicine, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, Sichuan Province, China

Abstract: **[Objective]** As a typical desert animal, camel can eat pungent poisonous plants that are not eaten by other animals, and without affecting their normal physiological metabolism. Many studies found that phytotoxic substances in plants eaten by camel have similar chemical structure to that of pyridine, quinolone, indole and other heterocyclic compounds. However, few studies explored the biodiversity of bacteria degrading potentially heterocyclic compounds in camel rumen. **[Methods]** We used pyridine, quinolone and indole as the only carbon and nitrogen resources, and five generations of enrichment culture method to cultivate camel rumen bacteria, and used high throughput sequencing (Illumina Miseq) to sequence the total DNA of the five generations culture broth. **[Results]** Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Planctomycetes and Firmicutes constitute the highest abundance of five categories of camel rumen bacteria degrading heterocyclic compounds. The dominant bacteria of degrading pyridine, quinolone, indole may belong to *Sphingobacterium* and *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Lysinibacillus* and *Sphingobacterium*. **[Conclusion]** Camel rumen has heterocyclic compounds degrading bacteria.

Keywords: Digestive tract of camels, pyridine, quinolone, indole, biodiversity

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31160028), by the Doctoral Scientific Research Foundation of Xinjiang Normal University (XJNUBS1607), by the Joint Funds of Xinjiang (U1503101) and by the Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2016D01B049)

*Corresponding author. E-mail: zengxc2004@163.com

Received: 19 October 2016; Revised: 10 February 2017; Published online: 2 March 2017