

刘亮, 杨金水, 黄娅茹, 等. 微生物种群间分工协作在木质纤维素转化中的研究进展[J]. 华中农业大学学报, 2024, 43(4): 33-40.  
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2024.04.005

## 微生物种群间分工协作在木质纤维素转化中的研究进展

刘亮, 杨金水, 黄娅茹, 姜婷婷, 余启军, 袁红莉

中国农业大学生物学院/畜禽生物育种全国重点实验室/农业农村部土壤微生物学重点实验室, 北京 100193

**摘要** 联合生物加工被认为是木质纤维素转化的最理想形式, 虽然通过代谢工程改造可以基于单一菌株实现联合生物加工, 但过高的代谢压力导致菌株转化效率并不理想。为了系统认识微生物种间分工和实现联合生物加工的理性设计, 本文聚焦于天然木质纤维素降解菌群中的种间分工, 从底物协同水解、营养因子交叉喂养和“糖骗子”限制的角度综述了目前物种间的分工协作模式, 介绍了物种分工在木质纤维素转化中的应用, 以及天然木质纤维素菌群中种间分工研究的挑战 and 未来发展方向, 为联合生物加工菌群的构建提供设计原则, 推动木质纤维素的高效转化。

**关键词** 微生物菌群; 种间分工; 木质纤维素转化; 联合生物加工; 人工菌群

**中图分类号** X172

**文献标识码** A

**文章编号** 1000-2421(2024)04-0033-08

在自然界中, 微生物多聚集在一起形成微生物群落<sup>[1]</sup>。相较于独立存在的微生物, 群落中不同物种通过分工协作, 不仅可以实现稳定共存, 而且在稳定性、鲁棒性和功能性方面具有明显优势<sup>[2]</sup>。当前, 大量组学研究表明天然微生物群落在复杂底物的转化<sup>[3]</sup>、动植物健康<sup>[4-5]</sup>, 以及食品的工业生产中<sup>[6-7]</sup>发挥重要功能。受到天然菌群中高效种间分工的启发, 众多研究者致力于构建人工菌群, 以期实现复杂底物的高效转化<sup>[8]</sup>。然而, 人工菌群的不稳定性制约了它们在工业生产中的应用。因此, 阐明天然菌群中不同物种间的分工协作, 对于设计、构建可控的合成菌群以实现廉价生物物质的高效转化具有重要意义。

木质纤维素是地球上储量最丰富的生物质原料, 同时也是最复杂的大分子物质<sup>[9]</sup>。将木质纤维素转化为乙醇、丁醇等燃料, 对于缓解环境和能源危机具有重要意义<sup>[10]</sup>。木质纤维素的转化通常包括预处理、产酶、糖化、发酵等过程, 但这一复杂的转化过程也导致了过高的成本, 使得生物质燃料在市场中缺乏竞争力<sup>[11-12]</sup>。因此, 简化转化过程、降低转化成本以及提高转化效率是目前木质纤维素大规模转化所面临的主要问题。随着研究的深入, 研究者发现将产酶、糖化和发酵过程整合, 一步化实现木质纤维素

向目标产物的转化可以有效降低成本, 提高转化效率, 这一过程也被称为联合生物加工 (consolidated bioprocessing, CBP)<sup>[13]</sup>。目前CBP的实现主要基于单一菌株和菌群策略。其中单一菌株策略可以利用天然菌株的多糖水解和发酵能力, 也可以通过代谢工程改造在木质纤维素降解菌中表达溶剂合成途径的相关基因, 或者在溶剂合成菌株中表达木质纤维素水解相关的酶类。然而, 单一菌株策略往往面临一些局限, 如菌株分泌的酶的种类有限, 只能水解木质纤维素中的部分组分, 难以实现木质纤维素的全组分利用。此外, 经过代谢工程改造后的菌株需要面临较高的代谢压力, 导致难以获得理想的转化效率。相比之下, 菌群策略是将产酶、发酵等代谢任务分配到不同物种中, 利用物种间的分工协作, 不仅可以获得更为丰富的酶系和更广泛的底物利用范围, 还可以降低单一菌株的代谢压力, 避免复杂的代谢工程改造, 实现木质纤维素的高效降解<sup>[2, 14]</sup>。尽管大量研究通过构建菌群进行木质纤维素的联合生物加工, 但群落结构和功能的稳定性并不理想<sup>[15]</sup>, 这也限制了菌群在实际生产中的应用。造成上述问题的主要原因是目前菌群的构建主要利用水解菌株为发酵菌株提供碳源的单向代谢联系<sup>[16-18]</sup>, 缺乏对物种间协同分工的系统设计。与人工构建的菌群相比, 天

收稿日期: 2024-05-31

基金项目: 畜禽生物育种全国重点实验室开放课题 (2024SKLAB6-7)

刘亮, E-mail: liuliang@cau.edu.cn

通信作者: 袁红莉, E-mail: hlyuan@cau.edu.cn

然木质纤维素降解菌群具有更为复杂且精妙的种间分工,这种分工保证了菌群在结构和功能上的稳定性。因此,深入解析天然木质纤维素转化系统中的微生物种间分工机制,对于构建稳定的木质纤维素联合生物加工菌群具有重要指导作用。本文拟从底物协同降解、营养因子交叉喂养,以及“糖骗子”抑制等角度综述天然木质纤维素降解菌群中种间分工协作的研究进展,旨在为联合生物加工菌群的构建提供理论和技术依据,推动生物质资源的高效转化。

## 1 木质纤维素降解中的物种分工

木质纤维素主要由纤维素、半纤维素和木质素组成。纤维素是由葡萄糖单元通过 $\beta$ -1,4糖苷键链接形成的直链结构<sup>[19]</sup>。大部分半纤维素的主链由木糖通过 $\beta$ -1,4糖苷键链接形成,在其主链上包含大量阿拉伯糖、半乳糖以及其他单糖形成的侧链<sup>[20]</sup>。相较于纤维素,半纤维素更容易诱导物种间形成复杂的分工<sup>[21]</sup>。因此,本部分将重点探讨半纤维素降解过程中存在的分工协作。

### 1.1 菌群中不同成员间水解模式的分工

物种间水解模式的分工主要分为3种形式(图1)。在第1种形式中(图1A),菌群中不同物种表达、分泌不同的碳水化合物活性酶,并负责底物中不同结构的水解。菌株1分泌木聚糖酶,负责半纤维素主链的水解。菌株2分泌阿拉伯呋喃糖苷酶,负责水解通过 $\alpha$ -1,2和 $\alpha$ -1,3键与主链连接的阿拉伯糖侧链。菌株3则分泌半乳糖苷酶,负责水解与阿拉伯糖连接的侧链。在这种情况下,3类菌株对于底物的水解存在先后顺序。菌株2对于阿拉伯糖侧链的水解依赖于菌株3对于半乳糖侧链的去除,而菌株2对于阿拉伯糖侧链的水解又为菌株1来源的木聚糖酶提供了更多的作用位点。3类菌株通过分工协作可以高效地降解底物。

图1B展示了水解菌株间第2种水解模式的分工。菌群中不同物种基因组中包含了相同碳水化合物活性酶基因,菌株1基因组中包含了木聚糖酶基因和阿拉伯呋喃糖苷酶基因,菌株2中包含了阿拉伯呋喃糖苷酶基因和半乳糖苷酶基因,而菌株3中则包含了木聚糖酶基因和半乳糖苷酶基因。但是由于底物利用的偏好性,处于同一环境中的3类菌株分别只表达了木聚糖酶、阿拉伯呋喃糖苷酶及半乳糖苷酶。这种碳水化合物活性酶基因的选择性表达能够有效避免菌株间对于营养的竞争。近来,研究者利用6种

多糖混合的底物分析了菌株 *Bacteroides ovatus* 和 *B. thetaiotaomicron* 的底物利用偏好性,发现单独培养时,二者对多糖底物的利用偏好几乎一致,说明二者能够编码功能相同的碳水化合物活性酶。然而,当二者共培养时,菌株的底物利用偏好发生变化,*B. ovatus* 优先利用了其偏好的多糖底物,而 *B. thetaiotaomicron* 只能利用余下的底物进行生长<sup>[22]</sup>。这种在底物利用上的等级划分保证了菌群对于底物最大程度的利用,但是造成上述层级利用的机制目前仍有待揭示。

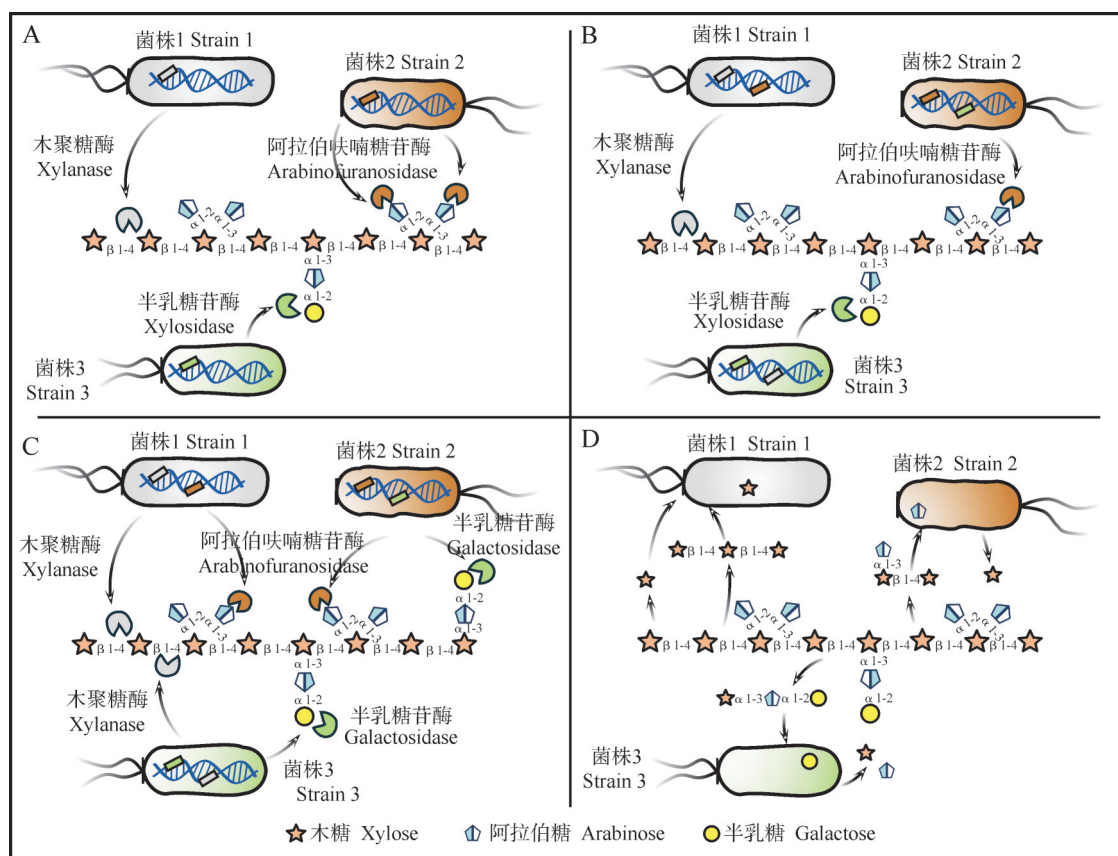
在第3种种间分工水解中(图1C),不同物种间同样存在功能基因冗余的现象,且在同一生境下,不同物种均分泌了功能冗余的碳水化合物活性酶。菌株1中分泌了木聚糖酶和阿拉伯呋喃糖苷酶,菌株2分泌了阿拉伯呋喃糖苷酶和半乳糖苷酶,而菌株3则分泌了木聚糖和半乳糖苷酶,但是上述功能冗余的酶却在底物偏好性上存在巨大差异。菌株1的木聚糖酶偏向于水解不含有阿拉伯糖侧链的木聚糖主链,而菌株3分泌的木聚糖酶需要识别阿拉伯糖侧链才能切割木聚糖主链。菌株1和2分泌的阿拉伯呋喃糖苷酶分别水解通过 $\alpha$ -1,2和 $\alpha$ -1,3键与主链连接的阿拉伯糖侧链。在这种分工形式下,不同物种利用同工酶间的精细差异完成了生态位的分化。CAZy数据库收录了不同家族的碳水化合物活性酶,但即使同一家族的酶也可能被划分到不同亚家族,展现出不同的水解模式和活性<sup>[23-24]</sup>。因此,即使根据宏基因组测序和序列相似性分析对菌群中碳水化合物活性酶进行家族归类,也很难准确定义蛋白的水解模式,这也阻碍了木质纤维素降解菌群中新型分工机制的发现。在后基因组时代,对环境和数据库中大量的碳水化合物活性酶进行功能鉴定是挖掘种间分工协作机制的必要手段<sup>[25]</sup>。

### 1.2 菌群成员在底物转运中的分工

除了底物水解层面的分工,在水解产物转运方面同样存在分工。以半纤维素为代表的结构性多糖在水解后会产生不同结构的寡糖,这些寡糖在分子量、分支程度和糖单元组成上的差异导致了不同菌株对不同寡糖的转运偏好性。如图1D所示,菌株1负责转运木糖和直链木寡糖,菌株2负责转运含有阿拉伯糖侧链的木寡糖,而菌株3则转运由木糖、阿拉伯糖和半乳糖构成的寡糖,不同菌株通过胞内的糖苷酶完成对寡糖的水解。此外,由于菌株2和3不能利用木糖,胞内积累的木糖会被分泌到环境中,被

菌株1利用。这种在转运上的差异也是菌群中形成高效分工的关键。目前类似的机制已在肠道菌群中发现。通过分析来源于11个属的13株益生菌对低聚半乳糖的利用,研究人员发现不同菌株对聚合度

较高的低聚半乳糖的转运存在差异,双歧杆菌能够更好地转运聚合度较高的寡糖。对菌株的基因组进行分析,发现造成这种差异的主要原因是菌株间转运系统的不同<sup>[26]</sup>。



A-C: 不同成员间水解模式的分工 Hydrolysis mode of division of labor between different members; D: 水解产物转运分工 Division in transport of hydrolysis product.

图1 菌群中不同成员降解利用半纤维素过程中的分工协作<sup>[21]</sup>

Fig. 1 The division of labor among different members of the microbiota in degrading hemicellulose

## 2 营养因子间的交叉喂养

在木质纤维素降解菌群中,降解菌除了通过协同降解为非降解菌提供碳源,也能为非降解菌提供氨基酸、维生素等营养因子(图2A)。Jiang等<sup>[27]</sup>对木质纤维素转化菌群进行研究时,发现菌群中木质纤维素降解菌 *Trichoderma asperellum* 可以为乳酸菌 *Lactobacillus paracasei* 提供色氨酸、酪氨酸和谷氨酰胺;利用上述种间分工,构建了包含 *T. asperellum* 和 *L. paracasei* 的人工菌群,成功实现了由纤维素(avicel)向乳酸的高效转化。然而,对于降解菌来说,同时提供碳源和营养因子会造成过高的代谢压力,从而导致菌株在菌群中丰度降低,最终引发系统崩溃。相较于上述情况,由非降解菌提供营养因子能够使

菌群物种间形成更为明确的代谢分工(图2B)。在对蜜蜂肠道菌群进行研究时,研究人员发现 *Bifidobacteria* 和 *Gilliamella* 通过降解花粉中的半纤维素为非降解菌株提供碳源,非降解菌通过为上述菌株提供氨基酸来建立代谢反馈<sup>[28]</sup>。类似的机制在哺乳动物肠道菌群中已被普遍报道,菌群中降解菌株通过水解膳食纤维为整个肠道菌群提供碳源,一些非降解菌在利用上述水解产物的同时向外分泌氨基酸。这种代谢上的相互制约对于稳定群落结构至关重要,一旦抑制非降解菌的氨基酸合成能力,降解菌在菌群中的丰度也会随之降低,从而导致整个菌群系统的崩溃<sup>[29-30]</sup>。虽然降解菌和非降解菌间建立互惠的代谢反馈对于菌群系统至关重要,但是目前这种代谢分工在包括厌氧发酵系统、堆肥环境等木质纤维

素降解生境的研究中却未得到广泛重视,在木质纤维素转化菌群的构建中也未得到充分应用,这也是导致人工菌群结构和功能失衡的重要因素。

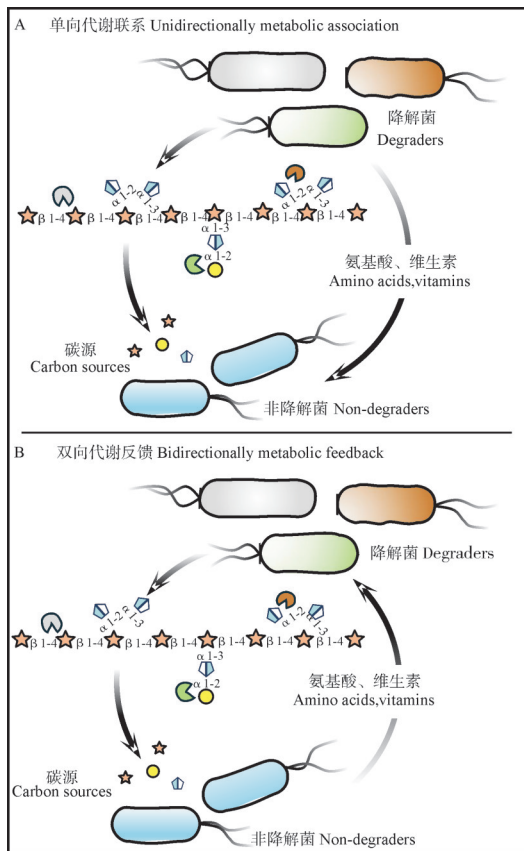


图2 木质纤维素降解菌群中氨基酸、维生素的交叉喂养  
Fig. 2 The cross-feeding of amino acids and vitamins within lignocellulolytic consortia

### 3 木质纤维素转化菌群中“糖骗子”的控制

在木质纤维素降解菌群中,参与底物降解的菌株通常被称为“贡献者”,“贡献者”通过分工水解底物向环境中释放单糖或寡糖,这些能被菌群中其他成员直接利用的碳源也被称为“公共货物”。除此之外,菌群中不参与底物降解的菌株则被称为“糖骗子”,“糖骗子”对菌群中“公共货物”的剥夺会造成“贡献者”在菌群中的投资没法得到相应的回报。因此,在木质纤维素降解菌群中限制“糖骗子”的丰度是维持菌群高效功能的关键<sup>[31]</sup>。目前,木质纤维素降解菌群中“贡献者”和“糖骗子”的丰度在理论上遵循“投资与回报原则”,即“糖骗子”主要利用木质纤维素中含量较低的糖类(如果糖、半乳糖),而“贡献者”则主要利用木质纤维素中的主要糖类(如葡萄

糖、木糖)<sup>[32]</sup>。但上述原则仅限于理论,在实际研究中并未得到证实,而且维持“投资与回报原则”的微生物学机制仍有待揭示。在人工菌群的构建中,利用水解菌株为发酵菌株提供碳源,从而完成木质纤维素的转化是常用策略。在该过程中,发酵菌株通常扮演“糖骗子”的角色,发酵菌株对碳源的过度利用无疑会造成降解菌株可用碳源的减少,进而导致其丰度降低、系统崩溃。针对人工菌群构建中的这一问题,Wen等<sup>[33]</sup>依据菌株间转运系统的差异提供了一种解决方案,分别以*Clostridium cellulovorans*和*C. beijerinckii*为水解菌株和发酵菌株构建菌群,并进行了一系列代谢改造。在*C. cellulovorans*中,敲除了乙酸激酶和乳酸脱氢酶,过表达丁酸激酶,强化菌株利用葡萄糖合成丁酸的能力;在*C. beijerinckii*中,强化了菌株利用木糖和丁酸的能力,确保菌株能够合成丁醇。在该系统中*C. cellulovorans*水解碱处理的玉米芯,产生葡萄糖和木糖,葡萄糖被自身利用,而木糖则被*C. beijerinckii*利用,避免了菌株间对碳源的竞争;溶剂最终产量能够达到22.1 g/L,其中丙酮4.25 g/L,丁醇11.5 g/L,乙醇6.37 g/L。然而,天然高效木质纤维素降解菌群中是否存在其他限制“糖骗子”丰度的机制仍有待进一步挖掘,在人工菌群构建中的应用仍有待深入验证。

### 4 种间分工协作在木质纤维素转化中的应用

考虑到真菌在木质纤维素降解上的出色能力,以真菌为水解菌株,并衔接发酵菌株已成为人工菌群构建的策略之一。一般而言,真菌对木质纤维素的降解往往发生在好氧条件下,而乙醇等生物燃料的发酵则需要厌氧条件。为了同时满足二者对生态位的需求,研究人员设计出一种多物种生物膜反应器。在该系统中,真菌附着于硅胶膜上,氧气通过硅胶膜向系统内传递时被真菌消耗,从而为系统中的厌氧菌提供厌氧环境。利用这一系统,Brethauer等<sup>[12]</sup>构建了由*T. reesei*和*Saccharomyces cerevisiae*组成的人工菌群,以稀酸预处理的小麦秸秆为底物时,该系统的乙醇产量达到9.8 g/L。在此基础上,Shahab等<sup>[16]</sup>对该系统进一步优化,在*T. reesei*后面衔接兼性厌氧菌*Lactobacillus pentosus*。*L. pentosus*一方面继续消耗未被*T. reesei*消耗的氧气,为后续短链脂肪酸发酵菌株提供厌氧环境;另一方面将*T. reesei*水解产生的葡萄糖、木糖及寡糖转化为乳酸,乳

酸进一步被厌氧菌 *C. tyrobutyricum*、*Veillonella critei* 和 *Megasphaera elsdenii* 转化为短链脂肪酸。在该系统中, 1.102 t 的山毛榉木可以转化成 196 kg 的丁酸。这种将木质纤维素水解产生的多种可溶性糖转化为乳酸的形式可以保证下游脂肪酸发酵菌株碳源利用的高效性。

此外, 在不依赖于物理屏障的情况下, 好氧菌和厌氧菌之间也能自发形成各自不同的生态位。以 *Clostridium* 为例, 作为具有工业应用潜力的溶剂合成菌属, *Bacillus* 来源的菌株常被用来与 *Clostridium* 共培养, 为后者提供厌氧环境。然而, *Bacillus* 却无法与 *Clostridium* 稳定共存, 从而导致群落结构崩塌<sup>[34-35]</sup>。因此, 在人工菌群构建时需要不同菌群成员对非生物参数(如氧浓度、pH 和温度)具有重叠的耐受范围。

## 5 天然木质纤维素转化菌群中种间分工研究的挑战与展望

虽然天然木质纤维素转化菌群(如厌氧消化菌

群)已经为人类社会的发展带来了巨大的经济和环境效益。然而, 由于复杂的物种组成和互作网络, 这些天然菌群被视为“黑匣子”, 导致对天然菌群中种间分工的研究仍然困难重重。利用木质纤维素材料进行多次传代富集可以从复杂的天然菌群中获得具有特定功能的稳定菌群, 富集后的菌群不仅可以部分保留天然菌群中的种间协作关系, 而且更易于调控<sup>[8]</sup>。因此, 对天然菌群进行富集已成为研究菌群中物种分工协作的有效形式。在前期研究中, 农业农村部土壤微生物学重点实验室利用秸秆从堆肥环境中富集得到了一个高效木质纤维素转化菌群 EMSD5<sup>[36]</sup>。该菌群能够高效转化玉米芯和玉米秸秆等木质纤维素底物合成异丙醇。初步研究发现该菌群中好氧菌可以通过消耗氧气为厌氧菌提供适宜的生境, 而厌氧菌之间则通过底物的协同转化完成对异丙醇的合成<sup>[37]</sup>(图3)。对该菌群的进一步研究将有望挖掘更为精妙的种间分工机制, 为人工菌群的构建提供理论依据。

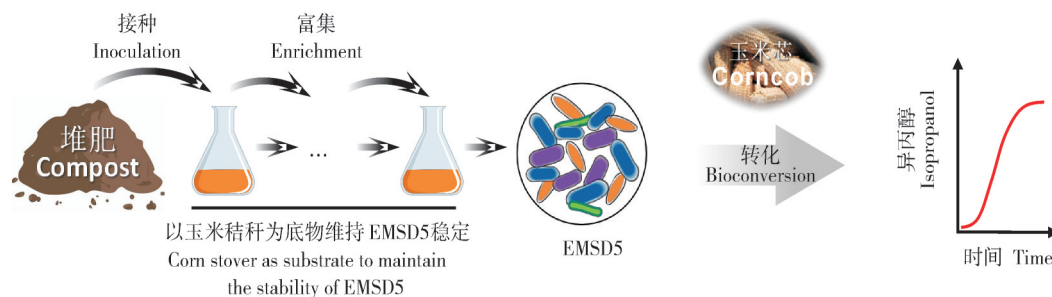


图3 从堆肥中富集获得稳定的木质纤维素转化菌群 EMSD5, 高效转化玉米芯合成异丙醇

Fig. 3 The stable lignocellulose-converting microbial community EMSD5, enriched from compost, efficiently converts corncob into isopropanol

随着测序技术的快速发展, 对菌群进行宏基因组测序、Binning 拼接和宏转录组分析可以在一定程度上解析天然木质纤维素降解菌群中的物种分工与协作<sup>[38-41]</sup>。目前单细胞测序已被广泛应用于哺乳动物单细胞的转录组分析<sup>[14]</sup>, 但由于 RNA 含量低和缺乏去腺苷酸化 mRNA, 单细胞转录组测序技术在原核细胞研究中的应用面临极大挑战<sup>[42]</sup>。未来单细胞转录组测序技术在原核生物系统研究中的不断成熟将有助于更深入地理解微生物群落中微生物基因表达、代谢功能和种间分工。此外, 结合基因组全尺度建模 (genome scale models, GSMs) 和流平衡分析 (flux balance analysis, FBA) 可以很好地预测单一微生物的代谢通量<sup>[43-44]</sup>, 而且在由双菌构成的人工菌群中也有很好的应用<sup>[45]</sup>。通过对模型的构建和不断优化, 以及菌群中不同物种高精度基因组的生成, 将

有望通过 GSMs 和 FBA 对复杂菌群中的种间代谢交流进行预测和分析。尽管组学技术和计算机建模技术取得了飞速进步, 但天然木质纤维素转化菌群中种间协作关系的研究仍受限于菌株的分离培养。目前, 自然界中大多数菌种难以直接分离, 因此, 即便我们能够深入解析天然菌群中的种间互作关系, 如何分离这些互作菌株, 并基于此构建高效、稳定、可控的人工菌群, 仍然是一条充满挑战的长路。

## 参考文献 References

- [1] KOST C, PATIL K R, FRIEDMAN J, et al. Metabolic exchanges are ubiquitous in natural microbial communities [J]. *Nature microbiology*, 2023, 8(12): 2244-2252.
- [2] QIAN X J, CHEN L, SUI Y, et al. Biotechnological poten-

- tial and applications of microbial consortia[J/OL]. *Biotechnology advances*, 2020, 40: 107500 [2024-05-31]. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107500>.
- [3] YU K, YI S, LI B, et al. An integrated meta-omics approach reveals substrates involved in synergistic interactions in a bisphenol A (BPA)-degrading microbial community[J/OL]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 16 [2024-05-31]. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0634-5>.
- [4] HACQUARD S, GARRIDO-OTER R, GONZÁLEZ A, et al. Microbiota and host nutrition across plant and animal Kingdoms[J]. *Cell host & microbe*, 2015, 17(5): 603-616.
- [5] TRIVEDI P, LEACH J E, TRINGE S G, et al. Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health[J]. *Nature reviews microbiology*, 2020, 18(11): 607-621.
- [6] BLASCHE S, KIM Y, MARS R A T, et al. Metabolic cooperation and spatiotemporal niche partitioning in a kefir microbial community[J]. *Nature microbiology*, 2021, 6(2): 196-208.
- [7] SUN H, CHAIL J, FANG G Y, et al. Metabolite-based mutualistic interaction between two novel clostridial species from pit mud enhances butyrate and caproate production[J/OL]. *Applied and environmental microbiology*, 2022, 88(13): e0048422 [2024-05-31]. <https://doi.org/10.1128/aem.00484-22>.
- [8] PENG X N, GILMORE S P, O'MALLEY M A. Microbial communities for bioprocessing: lessons learned from nature[J]. *Current opinion in chemical engineering*, 2016, 14: 103-109.
- [9] PAUL S, DUTTA A. Challenges and opportunities of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion[J]. *Resources, conservation and recycling*, 2018, 130: 164-174.
- [10] ROBERTSON G P, HAMILTON S K, BARHAM B L, et al. Cellulosic biofuel contributions to a sustainable energy future: choices and outcomes[J/OL]. *Science*, 2017, 356(6345): eaal2324 [2024-05-31]. <http://dx.doi.org/10.1126/science.aal2324>.
- [11] LIU Y J, LI B, FENG Y G, et al. Consolidated bio-saccharification: leading lignocellulose bioconversion into the real world[J/OL]. *Biotechnology advances*, 2020, 40: 107535 [2024-05-31]. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107535>.
- [12] BRETHAUER S, STUDER M H. Consolidated bioprocessing of lignocellulose by a microbial consortium[J]. *Energy & environmental science*, 2014, 7(4): 1446-1453.
- [13] SINGHANIA R R, PATEL A K, SINGH A, et al. Consolidated bioprocessing of lignocellulosic biomass: technological advances and challenges[J/OL]. *Bioresource technology*, 2022, 354: 127153 [2024-05-31]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127153>.
- [14] LILLINGTON S P, LEGGIERI P A, HEOM K A, et al. Nature's recyclers: anaerobic microbial communities drive crude biomass deconstruction[J]. *Current opinion in biotechnology*, 2020, 62: 38-47.
- [15] GILMORE S P, LANKIEWICZ T S, WILKEN S E, et al. Top-down enrichment guides in formation of synthetic microbial consortia for biomass degradation[J]. *ACS synthetic biology*, 2019, 8(9): 2174-2185.
- [16] SHAHAB R L, BRETHAUER S, DAVEY M P, et al. A heterogeneous microbial consortium producing short-chain fatty acids from lignocellulose[J/OL]. *Science*, 2020, 369(6507): eabb1214 [2024-05-31]. <https://doi.org/10.1126/science.abb1214>.
- [17] ZUROFF T R, XIQUES S B, CURTIS W R. Consortia-mediated bioprocessing of cellulose to ethanol with a symbiotic *Clostridium phytofermentans*/yeast co-culture[J/OL]. *Biotechnology for biofuels*, 2013, 6(1): 59 [2024-05-31]. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-59>.
- [18] PARK E Y, NARUSE K, KATO T. One-pot bioethanol production from cellulose by co-culture of *Acremonium cellulyticus* and *Saccharomyces cerevisiae*[J/OL]. *Biotechnology for biofuels*, 2012, 5(1): 64 [2024-05-31]. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-5-64>.
- [19] BROWN R M Jr, SAXENA I M. Cellulose biosynthesis: a model for understanding the assembly of biopolymers[J]. *Plant physiology and biochemistry*, 2000, 38(1/2): 57-67.
- [20] SMITH P J, WANG H T, YORK W S, et al. Designer biomass for next-generation biorefineries: leveraging recent insights into xylan structure and biosynthesis[J/OL]. *Biotechnology for biofuels*, 2017, 10: 286 [2024-05-31]. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0973-z>.
- [21] LINDEMANN S R. A piece of the pie: engineering microbiomes by exploiting division of labor in complex polysaccharide consumption[J]. *Current opinion in chemical engineering*, 2020, 30: 96-102.
- [22] TUNCIL Y E, XIAO Y, PORTER N T, et al. Reciprocal prioritization to dietary glycans by gut bacteria in a competitive environment promotes stable coexistence[J/OL]. *mBio*, 2017, 8(5): e01068-17 [2024-05-31]. <https://doi.org/10.1128/mbio.01068-17>.
- [23] MEWIS K, LENFANT N, LOMBARD V, et al. Dividing the large glycoside hydrolase family 43 into subfamilies: a motivation for detailed enzyme characterization[J]. *Applied and environmental microbiology*, 2016, 82(6): 1686-1692.
- [24] ASPEBORG H, COUTINHO P M, WANG Y, et al. Evolution, substrate specificity and subfamily classification of glycoside hydrolase family 5 (GH5)[J/OL]. *BMC evolutionary biology*, 2012, 12: 186 [2024-05-31]. <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/12/186>.
- [25] HELBERT W, POULET L, DROUILLARD S, et al. Discovery of novel carbohydrate-active enzymes through the rational exploration of the protein sequences space[J]. *PNAS*, 2019, 116(13): 6063-6068.

- [26] BÖGER M, VAN LEEUWEN S S, LAMMERTS VAN BUEREN A, et al. Structural identity of galactooligosaccharide molecules selectively utilized by single cultures of probiotic bacterial strains[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2019, 67(50):13969-13977.
- [27] JIANG Y J, LIU Y S, YANG X Y, et al. Compartmentalization of a synergistic fungal-bacterial consortium to boost lactic acid conversion from lignocellulose via consolidated bioprocessing[J]. Green chemistry, 2023, 25(5):2011-2020.
- [28] ZHENG H, PERREAU J, POWELL J E, et al. Division of labor in honey bee gut microbiota for plant polysaccharide digestion[J]. PNAS, 2019, 116(51):25909-25916.
- [29] ZENGLER K, ZARAMELA L S. The social network of microorganisms: how auxotrophies shape complex communities[J]. Nature reviews microbiology, 2018, 16:383-390.
- [30] RAKOFF-NAHOUM S, FOSTER K R, COMSTOCK L E. The evolution of cooperation within the gut microbiota[J]. Nature, 2016, 533(7602):255-259.
- [31] SMITH P, SCHUSTER M. Public goods and cheating in microbes[J]. Current biology, 2019, 29(11):R442-R447.
- [32] JIMÉNEZ D J, DINI-ANDREOTE F, DEANGELIS K M, et al. Ecological insights into the dynamics of plant biomass-degrading microbial consortia[J]. Trends in microbiology, 2017, 25(10):788-796.
- [33] WEN Z Q, MINTON N P, ZHANG Y, et al. Enhanced solvent production by metabolic engineering of a twin-clostridial consortium[J]. Metabolic engineering, 2017, 39:38-48.
- [34] WU P F, WANG G Y, WANG G H, et al. Butanol production under microaerobic conditions with a symbiotic system of *Clostridium acetobutylicum* and *Bacillus cereus*[J/OL]. Microbial cell factories, 2016, 15: 8[2024-05-31]. <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0412-z>.
- [35] MAI S, WANG G Y, WU P F, et al. Interactions between *Bacillus cereus* CGMCC 1.895 and *Clostridium beijerinckii* NCIMB 8052 in coculture for butanol production under nonanaerobic conditions[J]. Biotechnology and applied biochemistry, 2017, 64(5):719-726.
- [36] LV Z W, YANG J S, YUAN H L. Production, purification and characterization of an alkaliphilic endo- $\beta$ -1, 4-xylanase from a microbial community EMSD5[J]. Enzyme and microbial technology, 2008, 43(4/5):343-348.
- [37] LIU L, YANG J S, YANG Y, et al. Consolidated bioprocessing performance of bacterial consortium EMSD5 on hemicellulose for isopropanol production[J/OL]. Bioresource technology, 2019, 292: 121965 [2024-05-31]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121965>.
- [38] JIA Y Y, NG S K, LU H Y, et al. Genome-centric metatranscriptomes and ecological roles of the active microbial populations during cellulosic biomass anaerobic digestion[J/OL]. Biotechnology for biofuels, 2018, 11: 117 [2024-05-31]. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1121-0>.
- [39] VANWONTERGHEM I, JENSEN P D, RABAEY K, et al. Genome-centric resolution of microbial diversity, metabolism and interactions in anaerobic digestion[J]. Environmental microbiology, 2016, 18(9):3144-3158.
- [40] SOLDEN L M, NAAS A E, ROUX S, et al. Interspecies cross-feeding orchestrates carbon degradation in the rumen ecosystem[J]. Nature microbiology, 2018, 3(11): 1274-1284.
- [41] PENG X F, WILKEN S E, LANKIEWICZ T S, et al. Genomic and functional analyses of fungal and bacterial consortia that enable lignocellulose breakdown in goat gut microbiomes[J]. Nature microbiology, 2021, 6(4):499-511.
- [42] ZHANG Y, GAO J X, HUANG Y Y, et al. Recent developments in single-cell RNA-seq of microorganisms[J]. Biophysical journal, 2018, 115(2):173-180.
- [43] ROBERTS S B, GOWEN C M, BROOKS J P, et al. Genome-scale metabolic analysis of *Clostridium thermocellum* for bioethanol production[J/OL]. BMC systems biology, 2010, 4: 31 [2024-05-31]. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-4-31>.
- [44] MILNE C B, EDDY J A, RAJU R, et al. Metabolic network reconstruction and genome-scale model of butanol-producing strain *Clostridium beijerinckii* NCIMB 8052[J/OL]. BMC systems biology, 2011, 5: 130 [2024-05-31]. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-5-130>.
- [45] SALIMI F, ZHUANG K, MAHADEVAN R. Genome-scale metabolic modeling of a clostridial co-culture for consolidated bioprocessing[J]. Biotechnology journal, 2010, 5(7): 726-738.

## Progress on division of labor and cooperation among microbes in lignocellulose conversion

LIU Liang, YANG Jinshui, HUANG Yaru, JIANG Tingting, YU Qijun, YUAN Hongli

*College of Biology/National Key Laboratory of Livestock and Poultry Breeding/  
Ministry of Agriculture and Rural Affairs Key Laboratory of Soil Microbiology,  
China Agricultural University, Beijing 100193, China*

**Abstract** Consolidated bioprocessing (CBP) is considered as the most ideal form for lignocellulose conversion. Although the modification of metabolic engineering can achieve CBP based on a single strain, excessive metabolic pressure alone leads to the suboptimal transformation efficiency of strain. This article focused on the interspecific division in the microbial community of degrading natural lignocellulosic to systematically understand the interspecific division of labor and realize the rational design of CBP. The current patterns of interspecific division of labor were reviewed in terms of the synergistic hydrolysis of substrate, the cross-feeding of nutritional factors, and the restriction of “sugar cheaters”. The application of interspecific division of labor in lignocellulose conversion, the challenges and development directions of studying interspecific division in microbial communities of natural lignocellulose were introduced. It will provide principles for designing the construction of a microbial community with consolidated bioprocessing to promote the efficient biotransformation of lignocellulose.

**Keywords** microbial communities; interspecific division of labor; lignocellulose conversion; consolidated bioprocessing; synthetic consortium

(责任编辑:葛晓霞)