

# 一株耐低温纤维素酶高产菌株的筛选、 鉴定和产酶的初步试验

黄玉兰 李征 刘晓宁 王培培 张杰\*

(四川大学生命科学学院资源微生物与微生物技术四川省重点实验室 四川 成都 610064)

**摘要:** 从若尔盖高寒湿地距表层 80 cm 处土壤中筛选出一株纤维素酶高产菌株 XW-1。根据形态学、生理生化特征以及 16S rDNA 核酸序列分析结果表明, 该菌属于缺陷短波单胞菌(*Brevundimonas* sp.)。对该菌产酶条件研究表明, XW-1 在含 0.5% CMC-Na 条件下, 20°C 培养 3 d 后出现最高酶活, 达到 15.6 U/mL。对其酶学性质初步研究表明, 该菌株所产纤维素酶的最适 pH 为 6.0, 最适反应温度为 20°C, 15°C 时相对酶活达到 80%, 并且在 5°C 时, 相对酶活仍能保持 56%。

**关键词:** 若尔盖高寒湿地, 低温纤维素酶, 短波单胞菌, 酶学性质

## Screening and Identification of a Cold-adapted Cellulase-producing Bacteria

HUANG Yu-Lan LI Zheng LIU Xiao-Ning WANG Pei-Pei ZHANG Jie\*

(Key Laboratory of Microbial-resources and Microbial-technology, College of Life Sciences,  
Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610064, China)

**Abstract:** Strain XW-1 producing extracellular cellulase was isolated from 80 cm depth under the surface layer at Zoige Plateau Alpine Wetland. It was identified as a *Brevundimonas* sp. by its morphological, the physiological and biochemical properties and 16S rDNA sequence analysis. The results of cellulose producing research showed that the optimum carbon source was 0.5% CMC-Na, the optimum temperature was 20°C. Under this condition, the highest cellulase activity reached to 15.6 U/mL in the third day. Enzymatic properties showed that the optimum pH value is 6.0 and the optimum reaction temperature is 20°C, the relative enzyme activity reach to 80% at 15°C, moreover, at 5°C the relative enzyme activity still reach to 56%.

**Keywords:** Zoige Alpine Wetland, Low cellulase, *Brevundimonas*, Enzymatic properties

众所周知, 能源短缺是当今世界面临的一个严峻问题。据资料显示, 石油、天然气在未来 60 年内将会用尽, 而煤炭在 2250 到 2500 年之间也将消耗

殆尽, 矿物燃料供应面临枯竭。因此, 传统能源的紧缺和有限性, 凸显出对新能源的开发和利用的必要性和紧迫性<sup>[1]</sup>。农作物秸秆的主要成分是纤维素, 我

国的纤维素资源极为丰富,每年农作物秸秆的产量达  $5.7 \times 10^8$  kg, 是一个巨大的、廉价的、无污染的可利用再生资源<sup>[2]</sup>。但是由于纤维素具有水不溶性的高结晶结构,其外围又被木质素包围,因此把它降解成可利用的葡萄糖十分困难,而现有的纤维素酶的酶解效率普遍偏低。当前,世界各国对新能源的开发都十分重视,因此,对纤维素酶的研究也越来越重要<sup>[3]</sup>。

纤维素酶是一类可广泛应用于医药、食品、棉纺、环保及可再生资源利用等领域的酶制剂<sup>[4]</sup>。能够降解纤维素的微生物有很多,目前的研究大多集中在木霉、里氏木霉、黑曲霉、白腐菌等几类菌群上,但这些菌种仍然存在着产酶成本高、酶活性不稳定、作用 pH 范围狭窄等问题,因此寻找更多、更高效、作用范围更广泛的新菌种是十分必要的<sup>[5-9]</sup>。迄今为止,研究者们大多把注意力集中在常温、高温纤维素酶的研究上,涉及低温纤维素酶的研究工作相对较少。普通纤维素酶最适作用温度多为 45°C–65°C,而低温纤维素酶的最适作用温度可低至 20°C<sup>[10]</sup>。由于反应温度较低,不但在低温条件下可以高效反应,而且在生产工艺中可以通过较低温度的热处理使酶失活,节约能量与费用,因此逐渐成为人们研究的新方向<sup>[11-12]</sup>。

若尔盖湿地气候属高原亚寒带大陆性季风气候,具有长冬无夏,春秋相连,寒冷干燥,日照充分,旱雨季分明,年较差及昼夜温差均较大的气候特点,年平均气温在 1.1°C–3.6°C 之间<sup>[13]</sup>。若尔盖草原是著名的高寒湿地,独特的气候孕育了多种特殊的微生物种类,有着不同于平原微生物酶的独特应用前景。本实验从若尔盖湿地距表层 80 cm 深处湿地土壤中分离得出一株具有在低温下高产纤维素酶活性的菌株 XW-1。从形态学、生理生化特性和 16S rDNA 生物学手段对其进行鉴定,并对 WX-1 产纤维素酶的条件以及粗酶液的性质进行初步研究,为低温纤维素酶生产菌株的研究提供了理论和实际价值。

## 1 材料

### 1.1 样品采集

土壤于 2009 年 5 月 18 日采集自青藏高原若尔盖湿地日干乔牧场。选取距表层土壤 80 cm 深处,用

土钻取样。

### 1.2 培养基

**1.2.1 液体富集培养基(g/L):** CMC-Na 1.0, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.4, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.2, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01, 蛋白胨 0.1, 酵母膏 1.0。

**1.2.2 选择培养基(g/L):** K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5, MgSO<sub>4</sub> 0.25, CMC-Na 1.88, 刚果红 0.2, 琼脂 14.00, 明胶 2.00。

**1.2.3 发酵培养基(g/L):** NaCl 10, 蛋白胨 10, 酵母粉 5, CMC-Na 10。

## 2 实验方法

### 2.1 产纤维素酶菌株的分离

分别称取各采样地土壤 5 g, 加入含有 50 mL 富集培养基的 250 mL 三角瓶中, 25°C、160 r/min 培养 24 h 后, 取富集后的培养液分别稀释至  $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$  和  $10^{-6}$  倍, 涂抹至选择培养基平板上, 25°C 培养 24 h。选择能够生长、并且有明显透明水解圈的菌株接种于种子培养基中。

### 2.2 粗酶液的制备

接种 1 mL 种子培养基中菌液至装有 50 mL 发酵培养基的 250 mL 三角瓶中, 于 25°C 摇床中 160 r/min 培养 3 d, 收取菌液至 50 mL 离心管中, 4°C、4000 r/min 离心 10 min。上清液即为粗酶液。

### 2.3 酶活的测定

还原糖的测定利用 DNS 比色法<sup>[14]</sup>测定纤维素酶酶活(CMCA)以及滤纸酶酶活(FPA): 在 10 mL 试管中加入 CMC-Na 或者滤纸作为底物, 再加入 2 mL 粗酶液, 放入 30°C 水浴锅中反应 30 min。然后立即加入 DNS 终止反应, 充分摇匀后沸水浴 5 min, 取出冷却后用蒸馏水定容至 20 mL, 充分混匀, 在 540 nm 波长下测定吸光值。酶活定义: 每毫升粗酶液在 1 min 内催化底物生成 1  $\mu$ mol 葡萄糖所需要的酶量定义为 1 个酶活单位, 即 1 U/mL。

### 2.4 葡萄糖标准曲线的绘制

配制 1 g/L 葡萄糖母液。取 8 支洗净烘干的 25 mL 比色管, 分别按表 1 顺序加入各种试剂。混匀后, 向各管加入 2 mL DNS 溶液, 摇匀后沸水浴 5 min, 取出冷却后用蒸馏水定容至 25 mL, 充分摇匀。在分光光度计上(540 nm)进行比色测定, 测定各管光密度值。根据表 1 绘制葡萄糖标准曲线。

表 1 葡萄糖标准曲线的绘制  
Table 1 The development of the standard curve of glucose

项目 Item	葡萄糖含量 Sugar content (mg)	葡萄糖标准溶液 Standard solution of glucose (mL)	蒸馏水 Distilled water (mL)	OD 值 OD value
1	0.2	0.2	1.8	0.079
2	0.4	0.4	1.6	0.224
3	0.6	0.6	1.4	0.355
4	0.8	0.8	1.2	0.485
5	1.0	1.0	1.0	0.582
6	1.2	1.2	0.8	0.706
7	1.4	1.4	0.6	0.821
空白 Blank	0	0	2.0	0

2.5 表型形状的分析

2.5.1 形态学观察：在菌株生长平板上观察菌落形态。再经过革兰氏染色和芽孢染色<sup>[15]</sup>后，通过光学显微镜观察菌体形态特征。

2.5.2 生理生化鉴定：参照《伯杰氏细菌手册》第 8 版<sup>[16]</sup>相关内容进行。

2.6 菌株分子生物学鉴定

提取 WX-1 菌株基因组 DNA<sup>[17]</sup>作为 PCR 扩增模板，按照 Yao-wei Fang<sup>[18]</sup>等报道的方法扩增菌株 16S rDNA。目的片段经电泳回收后，与 pMD18-T 载体在 16℃ 过夜连接，随后转化大肠杆菌后测序。测定序列后，将测定的序列提交 GenBank 数据库进行相似性比较分析，并用 MEGA 4.1 软件进行同源性分析。

2.7 产酶条件的优化

2.7.1 不同诱导碳源对 XW-1 菌株产酶的影响：在发酵培养基中分别加入 1% 的 CMC-Na、滤纸、麸皮作为诱导碳源，在 50 mL 发酵液中接种 1% XW-1 菌液，于 25℃、160 r/min 培养 3 d 后测得 CMCA 和 FPA 酶活性。

2.7.2 诱导碳源含量对 XW-1 菌株产酶的影响：在 250 mL 三角瓶中，分别接种 1% XW-1 菌液于 CMC-Na 含量 0.1%、0.3%、0.5%、0.7%、0.9%、1.1% 的 50 mL 发酵培养基中。25℃、160 r/min 培养 3 d 后测定产酶量。

2.7.3 发酵温度对 XW-1 菌株产酶的影响：在含有 50 mL 发酵培养基的 5 个 250 mL 三角瓶中，接种 1% 的 XW-1 菌液，分别置于 5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃、40℃ 摇床，160 r/min 培养 3 d

后测定酶活。  
2.7.4 培养时间对 XW-1 菌株生长及产酶的影响：在 250 mL 三角瓶中，分别接种 1% 的 XW-1 菌液于 50 mL 发酵培养基中，置于 20℃ 摇床，160 r/min 培养 6 d，每隔 12 h 取样测定菌株生长量及纤维素酶活性。

2.8 酶学性质初步研究

2.8.1 温度对酶活力的影响：分别测定粗酶液在 5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃、40℃、45℃、50℃ 时的 CMCA 和 FPA 酶活。

粗酶液在 5℃、10℃、20℃、30℃、40℃、50℃ 条件下分别保温 0.5、1、1.5、2、2.5 h 后，在 20℃ 测定剩余酶活力。

2.8.2 初始 pH 对酶活力的影响：分别测定粗酶液在 pH 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液体系下的 CMCA 和 FPA 酶活。

将酶在上述不同 pH 下保温 1 h 后，在最适温度和最适 pH 下测定剩余酶活力。

2.8.3 金属离子对酶活力的影响：在酶反应体系中各加入 0.01 mol/L K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup> 金属离子，然后测定酶活。

3 结果与分析

3.1 菌株的筛选

经过筛选，选出 3 株产纤维素酶活性较高的菌株，结果如表 2 所示。其中以 XW-1 水解圈最大，活性最高，取 1 mL XW-1 菌液加入装有 50 mL 发酵培养基的 250 mL 三角瓶中，25℃、160 r/min 培养 3 d 后，测定酶活为 15.4 U/mL。以此作为后续研究对象。XW-1 水解圈如图 1 所示。

3.2 菌株 XW-1 的形态学特征

XW-1 菌株在培养基中培养 3 d 后，形成 3.5 mm 左右菌落，菌落为扁平圆形，表面光滑，边缘整齐，湿润，呈白色乳状，不透明。经光学显微镜观察菌株呈短杆状，两端渐细，单鞭毛。

表 2 产纤维素酶菌株筛选结果  
Table 2 Screening results of bacteria producing cellulose

菌株编号 Number	菌落直径 Colony diameter (mm)	水解圈直径 Hydrolysis diameter (mm)	形成 Formation (mm/d)	酶活(U) Enzyme activity (U)
XW-1	3.4	44.6	10.3	15.4
XW-2	3.8	33.7	7.48	11.3
XW-3	3.7	31.4	6.93	11.1

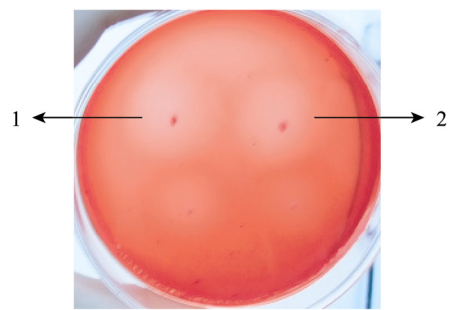


图 1 XW-1 菌株刚果红水解圈  
Fig. 1 Hydrolyzed circle of XW-1 by Congo-red  
注: 1、2: XW-1 菌株水解圈.  
Note: 1,2: Hydrolyzed circle of XW-1 by Congo-red.

3.3 菌株 XW-1 的生理生化特征  
部分生理生化结果见表 3。

3.4 菌株 XW-1 的 16S rDNA 鉴定  
以 XW-1 菌株 DNA 为模板扩增该菌 16S rDNA, 与 T 载体连接后测序得到 1050 bp 的序列。于 GenBank 数据库中序列进行 BLAST 比对后, 利用 MEGA 4.1 软件构建系统进化树, 结果如图 2 所示。XW-1 与 *Brevundimonas* sp. 相似性达 98%。结合 XW-1 的菌落形态特征、生理生化结果以及 16S rDNA 分析, 初步鉴定 XW-1 菌株为缺陷短波单胞菌。

3.5 菌株 XW-1 产酶条件的优化  
3.5.1 诱导碳源对 XW-1 产酶能力的影响: 预实验中, 采用 LB 培养基作为发酵培养基, 因为 LB 培养基适合大多数细菌生长, 能使菌株快速成倍扩增, 达到较优化的产酶状态。但在 25℃、160 r/min 培养 3 d 后测纤维素酶活为 0, 推定 XW-1 所产纤维素酶为诱导酶。

表 3 XW-1 菌株部分生理生化特征 Table 3 Partly biochemical and physiological characteristics of the strain XW-1			
项目 Item	结果 Result	项目 Item	结果 Result
鞭毛染色 Flagella stain	+	葡萄糖发酵 Glucose fermentation	+
过氧化氢酶 Catalase test	+	硝酸盐还原 Nitrate reduction test	-
淀粉水解 Starch hydrolysis	-	硫化氢生成 H <sub>2</sub> S production	-
吡啶实验 Indole test	-	明胶水解 Gelation hydrolysis	-
穿刺培养 Stab culture	兼性厌氧	V-P 实验 V-P test	+
革兰氏染色 Gram stain	-	芽孢染色 Spore stain	-

注: +: 阳性; -: 阴性。  
Note: +: Positive; -: Negative.

在 LB 培养基中加入 1% 不同的诱导碳源, 同样条件下培养后测定酶活, 结果如图 3 所示, XW-1 菌株在 CMC-Na 和麸皮作为诱导碳源的时候 CMCA 和 FPA 酶活均为最高, 分别可达到 15.3 U/mL 和 13.2 U/mL 左右, 而利用滤纸作唯一碳源时, 酶活则偏低, 还不到 9 U/mL, 这说明酶对水溶性底物有较高的活力, 这与何特等人的研究也是相一致的<sup>[19]</sup>。因此, 实验表明, CMC-Na 是 XW-1 菌株的最佳诱导碳源。

3.5.2 诱导碳源含量对 XW-1 产酶能力的影响: 分别以 0.1%、0.3%、0.5%、0.7%、0.9%、1.1% 的 CMC-Na 为碳源, 加入 50 mL 发酵培养基中, 置于 250 mL 三角瓶中, 25℃、160 r/min 培养 3 d 后, 测定 CMCA

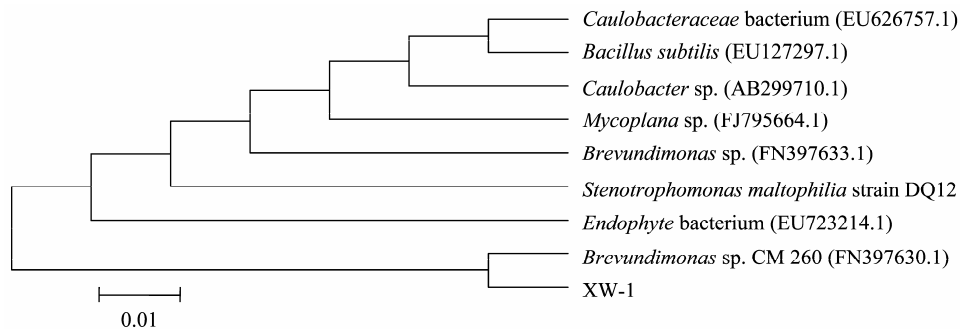


图 2 XW-1 菌株的系统进化树  
Fig. 2 Phylogenetic tree of strain XW-1  
注: 线段 0.01 表示序列差异的分支长度; 括号中的序号为 GenBank 数据库中的登录号。  
Note: Bar = 1% nucleotide divergence. Those in parentheses are the GenBank accession number.

和 FPA 酶活。结果如图 4 所示,当 CMC-Na 含量为 0.5% 时产酶能力达到最高,测得 CMCA 酶活为 15.4 U/mL, FPA 酶活为 13.3 U/mL。CMC-Na 浓度高于 0.5% 后对产酶能力的影响不大,因此选择 0.5% CMC-Na 作为最适碳源浓度。

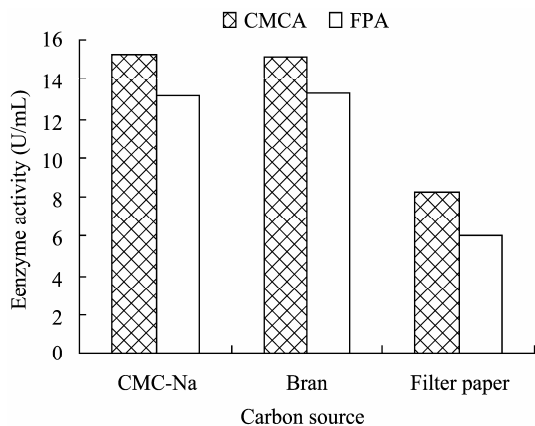


图 3 不同碳源对 XW-1 产酶活性的影响

Fig. 3 The effect of different carbon source on enzyme activity of XW-1

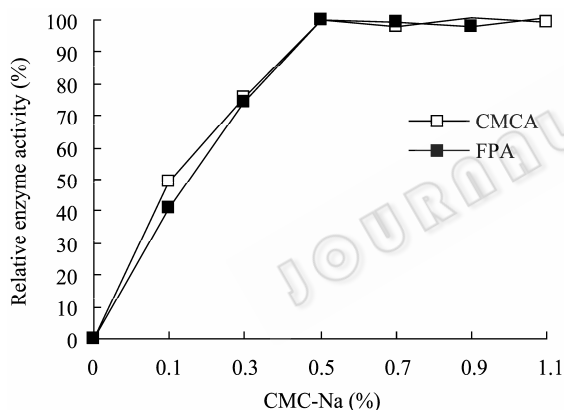


图 4 碳源含量对 XW-1 产酶活性的影响

Fig. 4 The effect of carbon source content on enzyme activity of XW-1

**3.5.3 发酵温度对 XW-1 产酶能力的影响:** 在含有 50 mL 发酵培养基的 5 个 250 mL 三角瓶中,接种 1% 的 XW-1 菌液,分别置于 5°C、10°C、15°C、20°C、25°C、30°C、35°C、40°C 摇床,160 r/min 培养 3 d 后测定 CMCA 和 FPA 酶活。结果如图 5 所示,XW-1 在 20°C 培养下产酶能力最强,高于 30°C 后产酶能力受到抑制。但在低温时,XW-1 仍保持较高活性:10°C 培养时产酶能力为 20°C 培养的 75%,并且 5°C 培养时产酶能力仍能达到 60%。因此,XW-1 菌株属于耐冷菌。

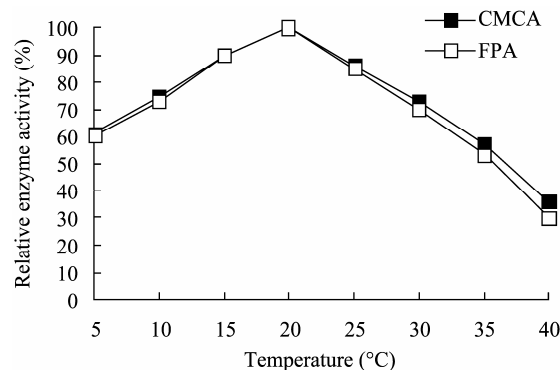


图 5 温度对 XW-1 产酶活性的影响

Fig. 5 The effect of temperature on enzyme activity of XW-1

**3.5.4 培养时间对 XW-1 菌株生物量以及产酶能力的影响:** 在最佳培养温度 20°C,最佳诱导碳源 CMC-Na 含量 0.5% 的发酵培养基中,160 r/min 培养 3 d,每隔 12 h 测量 XW-1 菌株生长量以及所产酶活。

时间对菌株生长影响的结果如图 6 所示,该菌株培养至 36 h 左右进入稳定期,72 h 左右进入衰亡期。

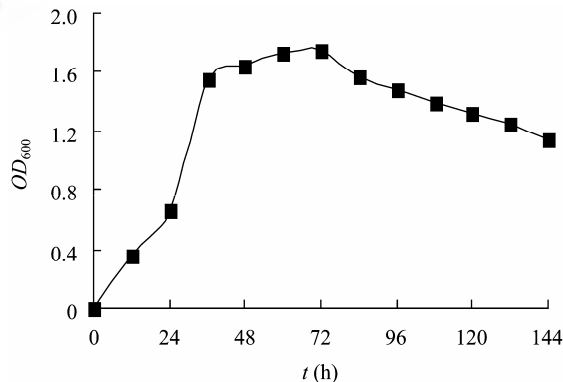


图 6 培养时间对 XW-1 菌株生长的影响

Fig. 6 Effect of culturing time on growth of strain XW-1

培养时间对产酶能力影响的结果如图 7 所示,XW-1 从培养 24 h 后开始产酶,产酶能力逐渐提高,到 72 h 左右产酶能力达到最高值,最大酶活达 15.6 U/mL,随后逐渐降低。估计菌株进入衰退期,产酶能力减弱。后期培养基中营养物质缺乏以及菌株的一些副产物也是导致产酶能力降低的原因。

### 3.6 XW-1 菌株酶学活性的初步研究

**3.6.1 温度对酶活力的影响:** 结果如图 8 所示,XW-1 所产纤维素酶在 20°C 时有最高活性,当温度

高于 30℃ 后, 酶活迅速下降。5℃ 时相对酶活为 56%, 远高于其他低温纤维素酶产生菌活性。由此说明 XW-1 所产酶作用温度较低, 能实用于特殊的工业环境。

温度对酶的影响如图 9 所示, 该酶在 5℃ 时稳定性最好, 温度低于 25℃ 时, 酶活保持稳定。温度高于 25℃ 后, 酶活快速下降, 40℃ 保温 2.5 h 后相对酶活只有 6.8%, 说明 XW-1 菌株所产酶对热敏感。

**3.6.2 pH 对酶活力的影响:** 结果如图 10 所示, 粗酶液在 pH 5.0 到 7.0 之间都能保持较高的酶活, 在 pH 6.0 时酶活最高。

将酶在 5℃ 不同 pH 下保温 1 h 后, 在最适 pH 6.0 和最适温度 20℃ 下测定剩余酶活力, 结果如图 11 所示。XW-1 菌株所产酶在 pH 6.0–8.0 时较稳定, pH 升高或降低, 稳定性均有所下降。

**3.6.3 金属离子对酶活力的影响:** 在自然 pH、20℃ 反应温度下, 分别加入 0.01 mol/L  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、

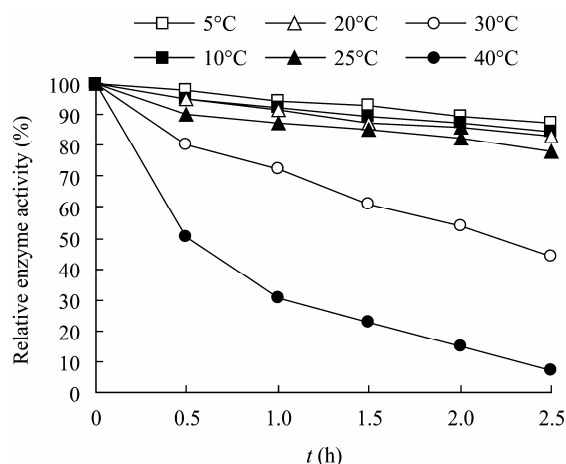


图 9 温度对酶稳定性的影响

Fig. 9 Effects of temperatures on stability of cellulose

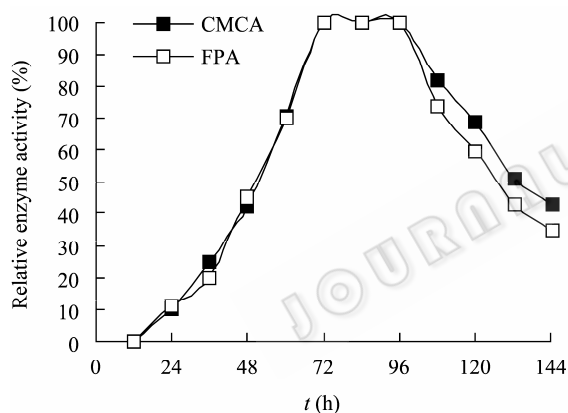


图 7 培养时间对 XW-1 产酶活性的影响

Fig. 7 The time course of enzyme formation

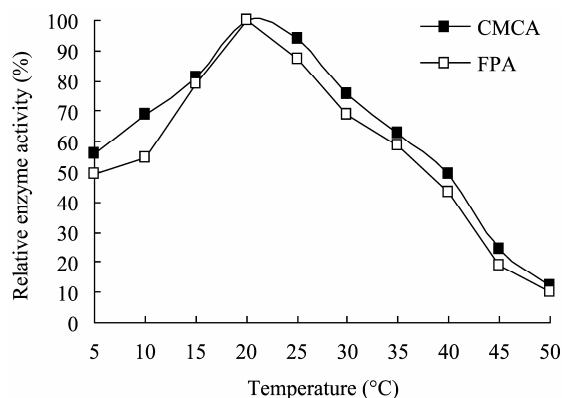


图 8 温度对 XW-1 酶活性的影响

Fig. 8 The effect of temperature on activity of XW-1

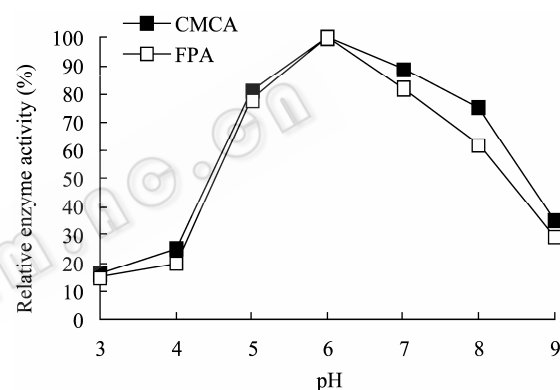


图 10 pH 对 XW-1 酶活性的影响

Fig. 10 The effect of pH on enzyme activity of XW-1

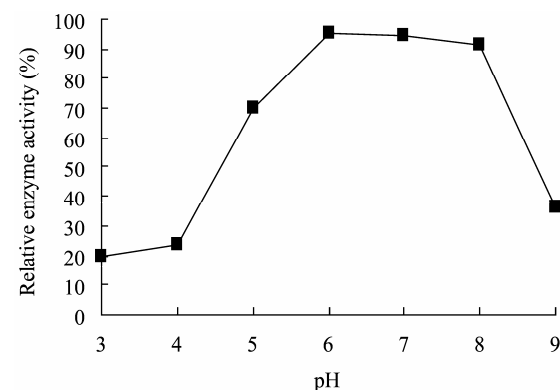


图 11 pH 对酶稳定性的影响

Fig. 11 Effects of pH values on stability of cellulose

$Fe^{3+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Pb^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ 金属离子, 然后测定酶活。结果如表 4 所示,  $K^+$ 、 $Fe^{3+}$ 、 $Mn^{2+}$ 对酶活力有促进作用,  $Ca^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Pb^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 对酶活力有抑制作用, 而  $Mg^{2+}$ 对酶活力并无太大影响。

表4 金属离子对酶活力的影响  
Table 4 Effect of metallic ions on enzyme activity of XW-1

金属离子 Metallic ions	相对酶活(%) Relative enzyme activity (%)	
	CMCA	FPA
对照 Control	100.0	100.0
Ca <sup>2+</sup>	86.5	84.3
Cu <sup>2+</sup>	65.3	67.2
Fe <sup>3+</sup>	137.0	129.0
Mg <sup>2+</sup>	98.7	101.0
Pb <sup>2+</sup>	57.3	50.1
Zn <sup>2+</sup>	83.7	80.1
K <sup>+</sup>	120.6	119.3
Mn <sup>2+</sup>	125.8	122.5

## 4 讨论

纤维素酶的来源非常广泛,真菌、细菌和放线菌等在一定条件下都能产生纤维素酶,原生动物、软体动物、昆虫和植物的一些组织等也能产生纤维素酶。微生物以外的生物生产纤维素酶缺乏大规模应用的实际意义,在生产中采用微生物生产则是最为方便和有效的方法。而低温纤维素酶反应温度较低,在低温环境下可以高效反应,节约能量与费用,因此成为最近纤维素酶研究的一个新方向,极具开发前景。

本实验在若尔盖湿地表层下 80 cm 处土壤中筛选出 3 株产纤维素酶能力较强的菌株,其中 XW-1 酶活最强,因此作为本实验的研究对象。虽然采样环境中氧气缺少,但是经过有氧培养后,发现产酶能力远远高于无氧条件下,因此,本实验采取有氧培养。对 XW-1 产酶条件研究表明,有氧培养下 XW-1 在诱导碳源含量为 0.5% CMC-Na 发酵培养基中,20℃ 时培养 3 d 产酶达到最大值 15.6 U/mL。通过生理生化、16S rDNA 鉴定,初步确定该菌为缺陷短波单胞菌。缺陷短波单胞菌一般分布于自然界的土壤及河湖中<sup>[20]</sup>,它产生的有机磷酸酯水解酶可以水解有机磷酸酯类,用于降解有机磷类药物的神经毒性作用<sup>[21]</sup>。但是目前尚无缺陷短波单胞菌产低温纤维素酶的报道,本实验是对缺陷短波单胞菌产低温纤维素酶首次研究。在 5℃ 低温时,该菌株纤维素酶活性仍能保持 56%,远远高于同等温度下吕明生等人对低温纤维素酶产生菌的研究,他们研究的菌株在 10℃ 保持较高酶活<sup>[22-23]</sup>。XW-1 菌株表现出对高寒气候的很强适应性,这也是若尔盖高寒湿

地独特的地理环境所孕育出来的特性,因此 XW-1 在低温工业环境中更具开发潜力。

由于 XW-1 在低温下既保持高催化效率又具有较高稳定性,在环境保护中可应用于土壤中残留物质纤维素的降解,对自然界物质循环起重要作用。在纺织工业中可以应用于生物抛光和石洗工艺等过程中,能降低温度上的工艺难度,而且低温酶的快速自发失活还可提高产品的机械抗性。在食品工业中,低温纤维素酶可以应用于提取果汁和蔬菜汁,既提高浸出率、缩短浸出时间,又因为过程处于低温而保护食品的营养成分。因此可以本菌为出发菌株,再通过诱变或运用现代生物技术手段克隆其纤维素酶基因,为嗜/耐冷纤维素酶工业化应用奠定基础。

## 参 考 文 献





- [1] 胡青丹. 必须正视能源短缺对和谐社会的影响. 江南论坛, 2009.
- [2] 郝月, 杨翔华, 张晶, 等. 秸秆纤维素分解菌的分离筛选. 中国农学通报, 2005, 21(7): 58-60.
- [3] 汪维云, 朱金华, 吴守一. 纤维素科学及酶的研究进展. 江苏理工大学学报, 1998, 19(3): 20-28.
- [4] Lynd LR, Wei Mer PJ, Zyl WHV, et al. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 2002, 66(3): 506-577.
- [5] 张平平, 刘宪华. 纤维素生物降解的研究现状与进展. 天津农学院学报, 2004(3): 48-54.
- [6] 于婷, 傅永福. 纤维素乙醇发展的现状与对策. 中国农业科技导报, 2008, 10(S1): 35-40.
- [7] 王文华, 刘娅, 江英. 绿色木霉产特定纤维素酶条件优化研究. 中国酿造, 2008(13): 25-26.
- [8] Picart P, Diaz P, Pastor FI. Cellulase from two *Penicillium* sp. strain isolated from subtropical forest soil: production and characterization. *Lett App Microbiol*, 2007, 45(1): 108-113.
- [9] 肖舸, 雷芳. 一株产纤维素酶绿色木霉的筛选及发酵条件优化. 四川大学学报: 自然科学版, 2004, 41(2): 422-425.
- [10] Akila G, Chandra TS. A novel cold-tolerant *Clostridium* strain PXYL1 isolated from a psychrophilic cattle manure digester that secretes thermolabile xylanase and cellulose. *FEMS Microbiol Lett*, 2003(219): 63.
- [11] 曾胤新, 俞勇, 陈波, 等. 低温纤维素酶产生菌的筛选、



- 鉴定、生长特性及酶学性质. 高技术通讯, 2005, **15**(4): 58–62.
- [12] HOU Yun-hua, WANG Tian-hong, LONG Hao, *et al.* Novel cold-adaptive *Penicillium* strain FS010 secreting thermo-labile xylanase isolated from yellow sea. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2006, **38**(2): 142–149.
- [13] 郭洁, 李国平. 若尔盖气候变化及其对湿地退化的影响. 高原气象, 2007, **26**(2): 422–428.
- [14] 董晓燕. 生物化学实验. 北京: 化学工业出版社, 2003: 34–36.
- [15] 方心芳. 应用微生物学实验法. 北京: 中国轻工业出版社, 1993: 160–161, 222–224.
- [16] 布坎南 RE, 吉本斯 NE. 伯杰氏细菌鉴定手册. 第8版. 北京: 科学出版社, 1984: 474–482.
- [17] Kuwahara T, Norimatsu L, Nakayama H, *et al.* Genetic variation in 16S-23S rDNA internal transcribed spacer regions and the possible use of this genetic variation for molecular diagnosis of bacteroides species. *Microbiol Immunol*, 2001, **45**(3): 191.
- [18] FANG Yao-wei, LU Zhao-xin, LU Feng-xia, *et al.* A newly isolated organic solvent tolerant *Staphylococcus saprophyticus* M36 produced organic solvent-stable lipase. *Current Microbiology*, 2006(53): 510–515.
- [19] 何特, 李妮, 黄小菲, 等. 青藏高原高寒湿地产纤维素酶菌株的分离、鉴定和产酶的初步研究. 中国农业科技导报, 2009, **11**(4): 45–61.
- [20] Penning MM, Shim H, Raushel FM, *et al.* High resolution X-ray structures of different metal-substituted forms of phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta*. *Biochemistry*, 2001, **40**(9): 2712–22.
- [21] Gill I, Ballesteros A. Degradation of organophosphorous nerve agents by enzyme polymer nanocomposites: efficient biocatalytic materials for personal protection and large scale detoxification. *Biotechnol Bioeng*, 2000, **70**(4): 400–410.
- [22] 王玢, 汪天虹, 张刚, 等. 产低温纤维素酶海洋嗜冷菌的筛选及研究. 海洋科学, 2003, **27**(5): 42–45.
- [23] 吕明生, 吕凤霞, 房耀维, 等. 低温纤维素酶产生菌的筛选、鉴定及酶学性质初步研究. 食品科学, 2007, **28**(12): 235–239.

## 征订启事

### 2010 年中科院微生物所期刊联合编辑部联合征订全面启动!

	《微生物学报》月刊(每月 4 日出版), 单价 55.00 元, 全年定价 660 元。刊号: ISSN 0001-6209; CODEN WSHPA8。国内邮发代号: 2-504; 国外邮发代号: BM67。
	《生物工程学报》月刊(每月 25 日出版), 单价 65.00 元, 全年定价 780 元。刊号: ISSN 1000-3061; CODEN SGXUED。国内邮发代号: 82-13; 国外邮发代号: BM5608。
	《微生物学通报》月刊(每月 20 日出版), 单价 48.00 元, 年价 576 元。刊号: ISSN 0253-2654; CODEN WSWPDI。国内邮发代号: 2-817; 国外邮发代号: BM413。
	《菌物学报》双月刊(单月 15 日出版), 单价 80 元, 全年定价 480 元。刊号: ISSN 1672-6472; CODEN JXUUAЕ。国内邮发代号: 2-499; 国外邮发代号: Q723。
订阅	欢迎广大读者直接与本刊发行部联系订购, 我们将按期免费为您邮寄。
	汇款地址: (100101)北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中科院微生物所 B401
	收信人: 《 》编辑部; 电话: 010-64807521; E-mail: bjb@im.ac.cn
	请在附言处注明“订刊费”及所订期刊名称、年代、卷、期和数量。