

研究报告

一株玉米秸秆纤维素分解菌株的分离鉴定及酶学性质

赵萍* 夏文旭 郭健 雷晨瑶 王聪 肖宇轩 丁毛毛 王雅

(微生物发酵与酶技术实验室 兰州理工大学生命科学与工程学院 甘肃 兰州 730050)

摘要:【目的】筛选分离可以分解玉米秸秆纤维素的菌株。【方法】采用平板稀释法从土样中分离纯化得到能够分解玉米秸秆纤维素的菌株,对分离得到的菌株进行生理生化及分子鉴定,同时以菌株 *Penicillium* spp. (CICC40361)作为对照,比较菌株纤维素酶和木质素酶的活性,研究不同因素对菌株纤维素酶活力的影响,确定菌株纤维素酶动力学常数 K_m 值。【结果】分离得到的菌株命名为 PL2#,经生理生化及分子鉴定后,确定菌株 PL2#为羊毛状青霉(*Penicillium lanosum*)。菌株 PL2#的纤维素酶和木质素酶活力高于对照菌株 *Penicillium* spp.;菌株 PL2#的最优酶活测定条件为:1% CMC 底物浓度, pH 4.8, 50 °C, 酶反应时间 60 min 以及 2 mL DNS 添加量。【结论】羊毛状青霉(*Penicillium lanosum*)菌株 PL2#比对照菌株 *Penicillium* spp.具有更好地降解玉米秸秆纤维素的性能。

关键词: 菌株, 玉米秸秆, 纤维素, 酶活

Isolation, identification of a strain decomposing corn stalk and characterization of its cellulose

ZHAO Ping* XIA Wen-Xu GUO Jian LEI Chen-Yao WANG Cong XIAO Yu-Xuan
DING Mao-Mao WANG Ya

(Laboratory of Microbial Fermentation and Enzyme Technology, School of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou, Gansu 730050, China)

Abstract: [Objective] The cellulose-decomposing strains for corn stalk were screened. [Methods] Agar dilution method was used to screen strains decomposing corn stalks from soil samples. Strains were identified by their morphological, physiological and biochemical properties and internal transcribed spacer sequence analysis. Then we compared the activities of cellulose and lignin degrading enzyme of the isolated strains with that of *Penicillium* spp. (CICC40361), studied the influence of different factors on cellulase activity, as well as the K_m values of the cellulase. [Results] A strain named PL2# was identified as *Penicillium lanosum*. The activities of cellulase and lignin enzyme of strain PL2# were higher than that of *Penicillium* spp. Conditions for optimal enzyme

Foundation item: Key Technologies R & D Program of China (No. 2011BAD15B03); Chunhui Project Foundation of Ministry of Education of China (No. Z2004-1-62014)

*Corresponding author: Tel: 86-931-2976650; Fax: 86-931-2973924; E-mail: pingzhaogdqg@163.com

Received: November 02, 2015; Accepted: February 23, 2016; Published online (www.cnki.net): March 11, 2016
基金项目: 国家科技支撑计划项目(No. 2011BAD15B03); 教育部春晖计划项目(No. Z2004-1-62014)

*通讯作者: Tel: 86-931-2976650; Fax: 86-931-2973924; E-mail: pingzhaogdqg@163.com

收稿日期: 2015-11-02; 接受日期: 2016-02-23; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-03-11

activity of strain PL2# was at 1% of carboxy methyl cellulose concentration, pH 4.8, 50 °C, enzyme reaction time 60 min and 2 mL of DNS (3,5-dinitrosalicylic acid) agent. **[Conclusion]** Strain PL2# (*Penicillium lanosum*) was better than the control strain *Penicillium* spp. in the degradation of corn straw cellulose.

Keywords: Strain, Corn stalk, Cellulose, Enzyme activity

我国作为一个农业大国,农作物秸秆的年产量高达 8×10^8 多 t^[1],而大部分秸秆并未得到有效利用,并造成严重的环境污染^[2],解决该问题的方案之一则是将秸秆降解为可发酵性糖,并通过发酵将其转化为液体燃料及化工产品^[3]。自然界中广泛存在产纤维素酶的微生物,人们利用这些微生物处理一些含纤维素的物质,如污物分解、食品发酵、饲料制作以及用于医药、能源等行业^[4-5]。但是,纤维素酶的比活力一般都很低且产酶成本高,因此,筛选纤维素酶比活力高的菌株有着重要的意义。

纤维素酶是一种多组分酶,不同微生物合成的纤维素酶对纤维素的降解能力也不尽相同^[6]。木霉属(*Trichoderma*)由其产生的酶系比例协调,对纤维素的降解效果最好,是目前研究应用最广的菌株。此外,许多曲霉属菌株如黑曲霉(*Aspergillus niger*)等能产生高活力的纤维二糖酶,与木霉菌产生的酶配合使用,具有更好的降解效果^[7]。由于纤维素的结晶状和不溶性刚性结构使得酶解效率低,利用成本高,难于实现规模产业化。近年来,国内外对于产纤维素酶菌株筛选的报道虽较多,但大部分研究仍集中在对秸秆的降解上,且降解效果不佳^[8]。因此,进一步提高纤维素酶活性,深入研究降解机理,提高降解率是有效利用丰富且廉价的纤维素最佳途径。

本研究通过大量采集堆积落叶枯枝且潮湿霉变腐烂处土样,从土样中分离筛选出能在玉米秸秆无机盐筛选培养基中生长的菌落,进行多次反复筛选及纯化后,最终得到具有高纤维素酶活和木质素酶活的菌株,并与从商品纤维素酶中筛选的菌株对比,研究其纤维素酶特性,以期获得比市场现有的纤维素酶菌株活性更高的菌株,为工业化生产奠定基础。

1 材料与amp;方法

1.1 材料及培养基

土样:采自于兰州理工大学甲子坪山长期堆积落叶枯枝且潮湿霉变腐烂处。

玉米秸秆:由甘肃农业大学养殖场提供。玉米秸秆粉碎,过 120 目筛,备用。

商品纤维素酶菌株(*Penicillium* spp. CICC40361):由兰州理工大学生命科学与食品工程实验教学示范中心提供。

玉米秸秆无机盐筛选培养基(g/L)^[9]: $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 13.3, KH_2PO_4 4.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2, $(NH_4)_2SO_4$ 0.5, 琼脂 16.0, 蔗糖 20.0, 秸秆粉 4.0, pH 7.0, 1×10^5 Pa 灭菌 30 min。

纤维素-刚果红培养基(g/L)^[10]: 羧甲基纤维素钠 2.0, $(NH_4)_2SO_4$ 2.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5, K_2HPO_4 1.0, NaCl 0.5, 刚果红 0.4, 琼脂 20.0, pH 7.0, 1×10^5 Pa 灭菌 30 min。

液体培养基(g/L): $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 13.3, KH_2PO_4 4.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2, $(NH_4)_2SO_4$ 0.5, 秸秆粉 4.0, 1×10^5 Pa 灭菌 30 min。

DNS 显色剂:称取酒石酸钾钠 91.00 g 溶于 500 mL 水中,于溶液中依次加入 3,5-二硝基水杨酸 3.15 g,氢氧化钠 20.00 g,加热溶解;再加入重蒸酚 2.50 g,无水亚硫酸钠 2.50 g,搅拌使之溶解,冷却后定容至 1 L,贮于棕色瓶中,放置 7 d 后使用。

1.2 菌株的分离与纯化

称量 10 g 用四分法处理后的土样,加入装有 90 mL 无菌水和适量玻璃珠的三角瓶中,室温条件下,120 r/min 振荡 30 min 后静置,取其上清液作为菌悬液母液,梯度浓度稀释,涂布于 PDA 培养

基^[9]上, 28 °C 培养 3–5 d, 培养期间, 将长出的菌丝体或菌落分别接种到玉米秸秆无机盐筛选培养基上, 再次 28 °C 培养 3–5 d, 将再次长出的菌丝体或菌落转接到玉米秸秆无机盐筛选培养基上, 划线分离, 纯化菌株至纯种。将分离到的纯种菌株的孢子接种至纤维素-刚果红培养基上, 28 °C 恒温培养, 选择长势最好的一株菌株, 标记为: PL2#。

1.3 菌株的生理生化及分子鉴定

通过镜检观察菌株 PL2#的菌丝及分生孢子形态, 并结合《真菌鉴定手册》^[11], 将 PL2#的相应特征与检索表中对比, 对 PL2#进行形态学的初步分类。

利用 ITS rRNA 两端的引物 NS1 (5'-GTAGTCATATGCTTGTCTC-3')和 NS8 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')扩增菌株 PL2#的 ITS rRNA 基因, 并进行测序分析。筛选得到的菌株 PL2#的 PCR 扩增及 18S rRNA 基因序列测序均由英茂盛业测序公司完成。

PCR 扩增反应体系: 基因组 DNA 1.0 μL, 10×Buffer (含 2.5 mmol/L Mg²⁺) 2.5 μL, *Taq* 聚合酶 (5 U/μL) 0.5 μL, dNTPs (10 mmol/L) 1.0 μL, NS1 (10 μmol/L) 0.5 μL, NS8 (10 μmol/L) 0.5 μL, ddH₂O 19 μL。PCR 反应参数: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 120 s, 35 个循环; 72 °C 10 min; 4 °C 终止反应。反应终止后取 2 μL PCR 产物, 1% 琼脂糖电泳检测扩增效果。

将测序结果与 NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) GenBank 数据库进行同源性比对, 采用 MEGA 6.0 软件中的 Neighbor-Joining 法(自展值 1 000)构建系统进化树, 并根据形态学与分子序列特征来确定菌株 PL2#的种属。

1.4 菌株的酶活性测定

1.4.1 纤维素酶活的测定: 试验采用孢子接种, 用无菌水配成每毫升含 10⁸ 个分生孢子的悬浮液, 按 10% (体积比)的比例加入液体培养基中, 28 °C、150 r/min 恒温培养。同时做空白和平行对照。以商品纤维素酶菌株 *P. spp.*为对照, 将分离获得的菌株

PL2#与之对比, 进行酶学特性研究。液体培养 3、5、7、9、11 d 时测定纤维素酶活(CX 酶活和 FPA 酶活), 重复 3 次, 所测纤维素酶活减去微生物培养中所得还原糖。

(1) 纤维素酶 CX 活力单位的测定。取 4 支 15 mL 刻度的试管, 各加 0.2 mL 酶液; 其中 3 支作为测定管, 各管再加 1.8 mL CMC (1%), 另一支作为空白管, 同时加 pH 4.8 醋酸缓冲液 1.8 mL。置 50±0.5 °C 恒温水浴 60 min; 然后分别加入 DNS 显色液 2 mL; 放沸水浴锅反应 10 min, 冷却后定容至 15 mL, 以空白管调零点, 在 550 nm 吸收峰下用分光光度计测 OD 值。1 mL 酶液于 50 °C pH 4.8 条件下, 每分钟水解 1% CMC 溶液产生 1 μg 还原糖(以葡萄糖计)的酶量定义为 1 个 CX 酶活力单位。

(2) 纤维素酶 FPA 活力单位的测定。取 4 支 15 mL 刻度的试管, 各加 0.2 mL 酶液, 再加 pH 4.8 醋酸缓冲液 1.8 mL; 其中 3 支作为测定管, 各加 1 cm×6 cm 滤纸条, 充分浸泡置 50±0.5 °C 恒温水浴 60 min; 另一支作为空白管同时置 50±0.5 °C 恒温水浴 60 min; 然后分别加入 DNS 显色液 2 mL, 空白管同时加 1 cm×6 cm 滤纸条; 放沸水浴锅反应 10 min, 冷却后定容至 15 mL, 以空白管调零点, 在 550 nm 吸收峰下用分光光度计测 OD 值。1 mL 酶液于 50 °C pH 4.8 条件下, 每分钟水解 1 cm×6 cm 的滤纸(FPA)产生 1 μg 还原糖(以葡萄糖计)的酶量定义为 1 个 FPA 酶活力单位。

1.4.2 木质素酶活性的测定^[12]: 28 °C 恒温培养 3、5、7、9、11 d 时测定木质素酶活。以下试验做空白对照, 3 次重复。

(1) Lac 活力测定。室温下 0.5 mmol/L 的 ABTS 溶液 2 mL, 加入 2 mL 酶液启动反应, 测定波长在 420 nm 处吸光值的变化。1 个酶活力单位为每分钟 1 μmol 的 ABTS 被转化所需的酶量。

(2) LiP 活力测定。LiP 活力测定中选用的是苯胺蓝(Azure B), 反应条件为 0.160 mmol/L 苯胺蓝 500 μL, 125 mmol/L pH 3.0 的酒石酸钠缓冲液

1 mL, 500 μ L 粗酶液, 500 μ L 2 mmol/L H_2O_2 , 测定波长在 651 nm 处吸光值的变化。1 个酶活力单位为每分钟 1 μ mol 的苯胺蓝(Azure B)被转化所需的酶量。

(3) MnP 活力测定。室温下反应体系中 50 mmol/L、pH 4.5 的乳酸钠缓冲溶液 3.4 mL, 1.6 mmol/L 的 $MnSO_4$ 水溶液 0.1 mL 和酶液 0.4 mL, 加入 0.1 mL 1.6 mmol/L 的 H_2O_2 启动反应, 测定波长在 240 nm 处吸光值的变化。1 个酶活力单位为每分钟 1 μ mol Mn^{2+} 被转化所需的酶量。

1.4.3 各因素对菌株 PL2#纤维素酶活力测定的影响: 研究采用 CMC 为底物, DNS 法测定还原糖的生成量。用优化的试验测定条件对 CMC 底物浓度、反应时间、反应温度、反应 pH 和显色剂 DNS 用量加以控制, 以它们的影响值对纤维素酶活进行分析, 得到最优测定条件^[12]。

1.4.4 菌株 PL2#纤维素酶动力学常数 K_m 值的测定: 以 1 mL 1% (质量体积比) CMC-Na 溶液为底物, 加入 0.1 mL 酶液(500 mL 三角瓶装 150 mL 培养基, 按 10% 接种量, 28 $^{\circ}C$ 、150 r/min 培养 5 d, 5 000 r/min 离心 20 min, 弃菌体, 上清液即为粗酶液), 50 $^{\circ}C$ 恒温 60 min, 然后加入 2.0 mL DNS 试剂, 沸水浴煮 10 min, 冷却至室温后定容至 5.0 mL, 在 A_{550} 测光吸收, 以 1 mL 酶液每分钟产生 1 μ g 葡萄糖为一个酶活单位(U)^[13]。

2 结果与分析

2.1 菌株 PL2#的鉴定

2.1.1 PL2#的生理生化特征鉴定结果: 对照菌株 *P. spp.* (图 1A)的菌落均呈圆形, 有菌丝, 中央凸起, 无光泽, 不透明, 直径 2–4 mm, 菌落呈深绿色; 菌株 PL2#菌落(图 1B)均呈圆形, 有菌丝, 中央凸起, 无光泽, 不透明, 直径 3–6 mm, 菌落呈绿色偏白, 明显与对照菌株不同。菌株 PL2#的生理生化鉴定结果见表 1。PL2#能利用的碳源为半乳糖、乳糖、果糖、木糖, 能在 3%–7% NaCl 中生长, 硝酸盐反应阳性, 不能利用柠檬酸盐, 不能液化明胶, 不是厌氧生长, 能水解淀粉。结合

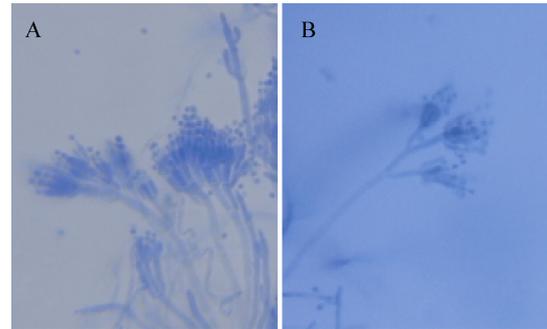


图 1 菌株 PL2#和 *P. spp.* 的显微照片(400 \times , 棉蓝染色)
Figure 1 The morphology of the strain PL2# and *P. spp.* (400 \times , cotton blue staining)

注: A: 菌株 *P. spp.* 的菌丝分生孢子梗及分生孢子显微照片; B: 菌株 PL2#的菌丝分生孢子梗及分生孢子显微照片。

Note: A: The strain *P. spp.*; B: The strain PL2#.

表 1 菌株 PL2#的生理生化特征
Table 1 Physiological and biochemical characteristics of strain PL2#

项目 Items	结果 Results
硝酸盐还原 Nitrate reduction	+
厌氧生长 Anaerobic growth	-
淀粉水解 Starch hydrolysis	+
明胶液化 Gelatin liquefaction	-
柠檬酸盐 Citrate production	-
3% NaCl 生长 Growth at 3% NaCl	+
5% NaCl 生长 Growth at 5% NaCl	+
7% NaCl 生长 Growth at 7% NaCl	+
半乳糖发酵 Galactose fermentation	+
果糖发酵 Fructose fermentation	+
乳糖发酵 Lactose fermentation	+
木糖发酵 Xylose fermentation	+
甘露糖发酵 Mannose fermentation	-

注: +: 阳性; -: 阴性。

Note: +: Positive reaction; -: Negative reaction.

镜检, 初步确认该株菌株为青霉。

2.1.2 18S rRNA 基因鉴定结果: 测序结果得到一条 525 bp 的序列, 将所得序列通过 MEGA 6.0 软件与 GenBank 中收录的同源性较高的菌株部分序列进行系统进化树的构建(图 2), 最终确定该菌株为羊毛状青霉(*Penicillium lanosum*)。菌株 PL2#的部分序列已提交至 GenBank, 登录号为 JX536388。

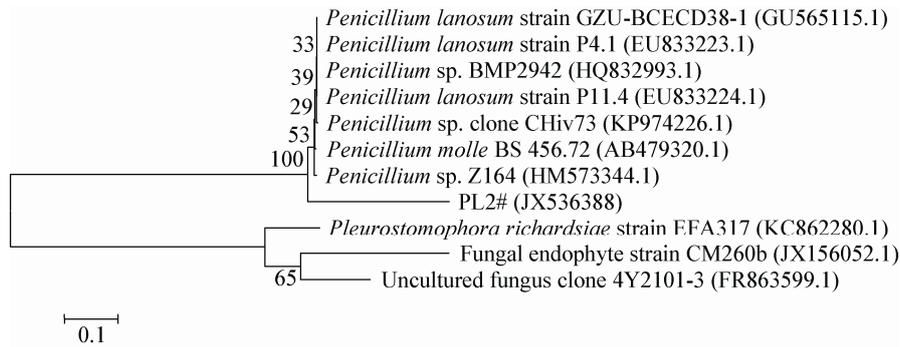


图 2 菌株 PL2# 的 18S rRNA 基因序列系统发育分析

Figure 2 The analysis of sequence phylogenetic of 18S rRNA gene of strain PL2#

Note: Numbers in parentheses represent the sequences accession number in GenBank. Numbers at the nodes indicate the bootstrap values on Neighbor-Joining analysis of 1 000 resampled data sets. Bar (0.1) represents sequence divergence.

2.2 菌株 PL2# 的酶活特性

2.2.1 菌株 PL2# 的纤维素酶活力: 图 3 和图 4 分别是菌株 PL2# 和 *P. spp.* 液体培养时的 CX 酶活力和 FPA 酶活力随着发酵时间的变化情况。由图 3 和 4 可知, 其中菌株 PL2# 在培养第 5 天出现最大 CX 酶活和 FPA 酶活, 分别为 27.01 mg/L 和 5.99 mg/L。对照菌株 *P. spp.* 在培养第 7 天出现最大 CX 酶活和 FPA 酶活, 分别为 16.46 mg/L 和 5.08 mg/L。由此可知, 菌株 PL2# 的最高纤维素酶活比 *P. spp.* 高, 分解纤维素能力比 *P. spp.* 强。

2.2.2 菌株 PL2# 的木质素酶活力: 通过对菌株 PL2# 和 *P. spp.* 分别进行木质素酶活的测定结果 (表 2) 可知, 菌株 PL2# 和 *P. spp.* 都有木质素酶活, 其中 Lac 酶、LiP 酶活和 MnP 酶活最高的菌株是 PL2#。由此可知, 菌株 PL2# 和 *P. spp.* 都有木质素分解能力, 其中菌株 PL2# 分解木质素能力相对较高。

2.2.3 影响菌株 PL2# 纤维素酶活力因素的测定: 由表 3 可知, 仅改变底物 CMC 的浓度, 在 0.50%–1.25% 浓度范围内, 1% 的 CMC 底物浓度对纤维素酶活的检测最为有利, 原因可能是 1% 的 CMC 底物浓度恰好能和纤维素酶完全反应; 仅改变反应时间, 结果 60 min 时纤维素酶能与 CMC 底物完全反应, 随着反应时间的增加酶活没有显著的提高; 仅改变反应温度, 结果温度为 50 °C 时对纤维素酶

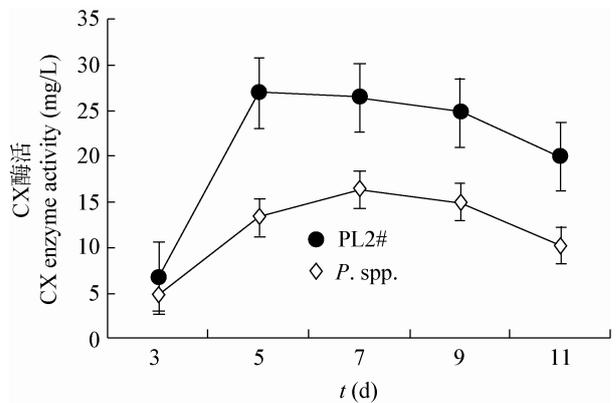


图 3 菌株 PL2# 和 *P. spp.* 的 CX 酶活力比较

Figure 3 Comparison of activities of CX enzyme of strain PL2# and *P. spp.*

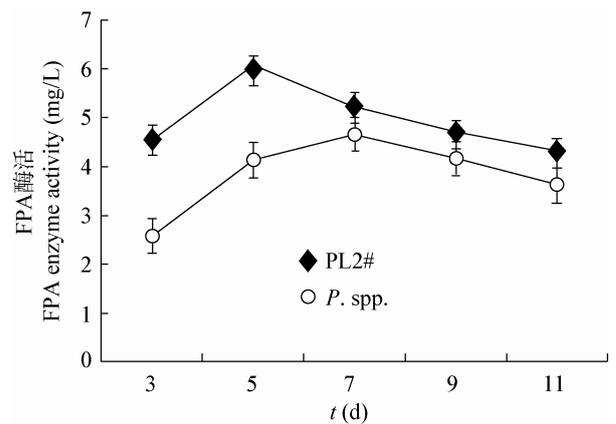


图 4 菌株 PL2# 和 *P. spp.* 的 FPA 酶活力比较

Figure 4 Comparison of activities of FPA enzyme of strain PL2# and *P. spp.*

表2 菌株 PL2#和 *P. spp.* 的木质素酶活比较
Table 2 Comparison of activities of lignin enzyme between the strain PL2# and *P. spp.*

Time (d)	PL2#			<i>P. spp.</i>		
	Lac	LiP	MnP	Lac	LiP	MnP
3	1.833	1.233	1.877	0.600	0.667	0.713
5	2.433	2.633	2.100	0.700	2.533	1.167
7	3.766	4.293	4.367	1.533	5.466	1.867
9	2.367	11.500	3.800	1.356	10.867	0.533
11	1.957	9.239	2.851	1.087	8.663	0.457

表3 各因素对菌株 PL2#纤维素酶活力测定的影响
Table 3 Effect of various factors on the activity of cellulase in PL2#

各因素 Various factors	酶活 Enzyme activity (mg/L)	
CMC concentration (%)	1.25	25.54
	1.00	26.50
	0.75	23.80
	0.50	17.82
Reaction time (min)	30	20.48
	60	26.50
	90	27.20
	120	27.32
Reaction temperature (°C)	40	18.58
	45	23.24
	50	26.50
	55	25.12
pH	4.0	24.56
	4.5	25.20
	5.0	25.82
	5.5	24.96
DNS (mL)	1.0	16.28
	1.5	24.16
	2.0	26.50
	2.5	24.48

活的测定最好, 温度太低达不到纤维素酶最大反应酶活条件, 温度太高可能会使纤维素酶失活; 仅改变反应 pH, 发现 pH 在 4.0–5.5 之间对酶活没有明显影响, 因此试验采用 pH 为 4.8 的测定条件; 仅改变 DNS 添加量时, 发现当 DNS 添加量达到 2 mL 时酶活最高, 随着 DNS 添加量增加, 酶活力值减少, 原因可能是 2 mL 的 DNS 用量使纤维素酶与底物 CMC 反应产生的葡萄糖完全显色。

2.2.4 纤维素酶动力学常数 K_m 值的测定: 将底物(CMC-Na)终浓度分别调到 0.75、1.00、1.25、1.75、2.25 和 2.5 g/L, 按酶活力测定方法测定还原糖以计算酶反应的初速度。以底物浓度的倒数(1/S)为横坐标, 酶反应初速度的倒数(1/V)为纵坐标, 作 Lineweaver-Burk 双倒数图。得线性方程为: $y=1.4574x+4.1976$, 可求得米氏常数 K_m 为 0.22 g/L, 酶最大反应速率 V_{max} 为 0.15 mg/(min·mL)。

3 结论与讨论

(1) 从土样中筛选得到多株具有纤维素分解能力的菌株, 最终确定 1 株以玉米秸秆粉为碳源且具有较高的纤维素分解能力和一定量的木质素分解能力的菌株 PL2#。经生理生化鉴定及 PCR 测序法测序后, 确定菌株 PL2#为羊毛状青霉(*Penicillium lanosum*)。

(2) 将菌株 PL2#和对照菌株 *P. spp.* 分别接种至液体培养基中, 结果发现菌株 PL2#能快速生长, 并在第 5 天纤维素酶活最大, 而对照菌株 *P. spp.* 则是在第 7 天纤维素酶活最大。其原因可能是不同纤维素分解菌对环境的适应和利用率不同, 且不同菌株具有不同纤维素酶系和产酶速度。综合比较, 在碳源仅为玉米秸秆时, 菌株 PL2#的纤维素酶和木质素酶活力均高于对照菌株 *P. spp.*, 表现出更好的生产性能和应用价值。

(3) 通过优化菌株 PL2#的酶活测定条件确定最优测定条件为: 1% CMC 底物浓度, pH 4.8, 50 °C, 酶反应时间 60 min 以及 2 mL DNS 添加量。

(4) 纤维素分解菌株能将纤维素转化为还原糖, 进而发酵生产乙醇等生物能源^[14]。木质素分

解菌株将木质素分解后是否能增加乙醇的产量, 以及在半固态培养中, 不同条件下所测的最高酶活是否对工业生产有应用价值, 有待进一步的试验研究。

参考文献

- [1] Zhang EH, Pan XL, Wang XF, et al. Degradation of corn straw stalk fiber composite bacteria breeding and its enzyme activity[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2015, 52(4): 712-717 (in Chinese)
张二红, 潘晓亮, 王新峰, 等. 降解玉米秸秆纤维素复合菌的选育及其酶活研究[J]. 新疆农业科学, 2015, 52(4): 712-717
- [2] Zhao FY, Fan NJ, Zhu JC, et al. Isolation and characterization of an efficient cellulose-decomposing strain YN1[J]. Microbiology China, 2010, 37(4): 496-502 (in Chinese)
赵方圆, 范宁杰, 朱建春, 等. 纤维素高效降解菌 YN1 的筛选及其降解特性[J]. 微生物学通报, 2010, 37(4): 496-502
- [3] Han S, Zhao Y, Song TS, et al. Isolation of cellulose-decomposing strains and analysis of enzymatic characteristics of cellulase[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2013, 22(4): 172-177 (in Chinese)
韩硕, 赵岩, 宋天顺, 等. 纤维素分解菌的筛选和酶学性质分析[J]. 西北农业学报, 2013, 22(4): 172-177
- [4] Qaisar S, Zohra RR, Aman A, et al. Enhanced production of cellulose degrading CMCase by newly isolated strain of *Aspergillus versicolor*[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 104: 199-203
- [5] Raghuvanshi S, Deswal D, Karp M, et al. Bioprocessing of enhanced cellulase production from a mutant of *Trichoderma asperellum* RCK2011 and its application in hydrolysis of cellulose[J]. Fuel, 2014, 124: 183-189
- [6] Xiong DM, Zhou HL. Research progress in cellulose-degrading bacteria community[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2011(5): 94-97 (in Chinese)
熊冬梅, 周红丽. 纤维素降解菌群的研究进展[J]. 酿酒科技, 2011(5): 94-97
- [7] Zhang LY, Wang HH, Pan T, et al. Isolation of cellulase-producing strains and optimization of cellulase-producing conditions[J]. Journal of Cellulose Science and Technology, 2015, 23(2): 1-7 (in Chinese)
张丽影, 汪寒寒, 潘婷, 等. 产纤维素酶菌株的筛选及产酶条件优化[J]. 纤维素科学与技术, 2015, 23(2): 1-7
- [8] Liu QL, Zhang JX, Ge WJ, et al. The Screening and identification of a cellulose degrading fungus and its straw degradating capability[J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(6): 82-86,35 (in Chinese)
刘起丽, 张建新, 葛文娇, 等. 一株产纤维素酶真菌的筛选及其对秸秆的降解效果研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(6): 82-86,35
- [9] Shen P, Fan XR, Li GW. Microbiology Experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2004: 214-222 (in Chinese)
沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 214-222
- [10] Zhang YH, Wang J, Zhang W, et al. An improved differential medium for cellulose decomposing microorganisms[J]. Journal of Cellulose Science and Technology, 2004, 12(1): 33-36 (in Chinese)
张宇昊, 王颀, 张伟, 等. 一种改进的纤维素分解菌鉴别培养基[J]. 纤维素科学与技术, 2004, 12(1): 33-36
- [11] Wei JC. Fungal Identification Manual[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1979 (in Chinese)
魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979
- [12] Guo J. The separation and purification of strains of cellulose and lignin decomposition[D]. Lanzhou: Master's Thesis of Lanzhou University of Technology, 2011 (in Chinese)
郭健. 纤维素和木质素分解菌株的分离筛选及纯化[D]. 兰州: 兰州理工大学硕士学位论文, 2011
- [13] Qian MY, Zhang J, Liu JK, et al. New method for fermenting diluted-acid lignocellulosic hydrolysate to ethanol[J]. Acta Energetica Solaris Sinica, 2006, 27(6): 618-622 (in Chinese)
钱名宇, 张晶, 刘继开, 等. 木质纤维素稀酸水解液乙醇发酵的新方法[J]. 太阳能学报, 2006, 27(6): 618-622
- [14] Fan H, Liang JF, Zhao R, et al. Effect of carbon and nitrogen sources on lignin degradation ability and enzyme activity of dual-cultured, lignin-degrading fungi[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2010, 29(7): 1394-1398 (in Chinese)
范寰, 梁军锋, 赵润, 等. 碳氮源对复合木质素降解菌木质素降解能力及相关酶活的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(7): 1394-1398