

## 几种耐热戴氏霉对秸秆的降解效果

王垚 罗韵 梁宗琦 韩燕峰\*

(贵州大学 真菌资源研究所 贵州 贵阳 550025)

**摘要:**【目的】测定 6 株戴氏霉(*Taifanglania*)的生长温度特性及其对秸秆的降解效果。【方法】通过定时测定不同培养温度下的菌落直径绘制 6 株戴氏霉菌株的生长曲线;采用苯胺蓝法、愈创木酚法和木质素磺酸钙降解试验测定其木质素降解能力;用羧甲基纤维素钠水解圈测定法和胞外酶活测定法判定其对纤维素的降解能力;以失重法和范氏洗涤剂法检测其对水稻秸秆的降解效果。【结果】所试的耐热戴氏霉菌株均能耐受 50 °C 的高温,并能产生纤维素酶,但不同菌株产生的木质素降解酶有所差异;均具有降解秸秆的能力,其中合川戴氏霉(*T. hechuanensis*) H08.1 菌株降解能力最强,其次是灰戴氏霉(*T. cinerea*) H57.1 菌株,其秸秆降解率分别为 50.2%和 42.2%。【结论】合川戴氏霉 H08.1 菌株和灰戴氏霉 H57.1 菌株在秸秆的降解利用上具有潜在开发价值。

**关键词:** 耐热真菌, 戴氏霉, 秸秆降解, 木质素降解酶, 纤维素酶

## Effect of several thermotolerant *Taifanglania* species on straw degradation

WANG Yao LUO Yun LIANG Zong-Qi HAN Yan-Feng\*

(Institute of Fungus Resources, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

**Abstract:** [Objective] The objectives were to characterize growth temperature of six *Taifanglania* strains and to determine the effect on straw degradation. [Methods] Temperature-growth of six *Taifanglania* strains was monitored by colony diameters at different temperatures. The aniline blue method and guaiacol method combined with degradation of calcium lignosulfonate were used to test their lignin-degrading capability. Hydrolysis spot diameter measurement method of CMC-Na and extracellular enzyme activity were employed to conjecture cellulose-degrading capability of strains. Then the effect on straw degradation was obtained through weight loss method and Van-Soest detergent. [Results] The tested thermotolerant fungi, *Taifanglania* spp. could grow at high temperature of 50 °C and produce cellulase. However, the lignin-degrading enzymes produced by different *Taifanglania* strains had some diversities. They were straw-degrading fungi, and *T. hechuanensis* H08.1 had higher capability than others, followed by *T. cinerea* H57.1, with straw degradation rates of 50.2%

**基金项目:** 科技部基础专项项目子项目(No. 2013FY110400); 贵州省优秀青年科技人才培养对象专项资金项目[No. 黔科合人字(2013) 05 号]; 贵州省科学技术基金项目(No. 黔科合 J 字[2012]2070 号); 贵州大学研究生创新基金项目(No. 研农 2014022)

\*通讯作者: Tel: 86-851-3856374; 信箱: swallow1128@126.com

收稿日期: 2014-09-03; 接受日期: 2014-11-14; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-11-21

and 42.2%, respectively. **[Conclusion]** *T. hechuanensis* H08.1 and *T. cinerea* H57.1 exhibited tremendous potential for straw degradation.

**Keywords:** Thermotolerant fungi, *Taifanglania*, Straw degradation, Lignin-degrading enzyme, Cellulase

有资料显示, 秸秆的世界年产量为20–30亿t, 我国秸秆年产量高达7亿t, 占全球秸秆总产量的20%–30%<sup>[1]</sup>。由于秸秆结构复杂, 短期内不易自然腐解, 故绝大部分以堆积、荒烧等形式直接倾入环境, 造成极大的环境污染和浪费<sup>[2]</sup>。秸秆堆肥腐熟是实现秸秆减量化、无害化和资源化的有效途径之一, 研究发现, 在堆肥初期创造微好氧环境, 加入(耐)高温的秸秆降解菌, 不但有助于秸秆的快速降解, 还可以缩短堆肥时间、减少环境污染、提高秸秆养分的保全率<sup>[3]</sup>。另外, 高温环境可以杀灭秸秆表面携带的有害病菌、虫卵和杂草种子, 降低有机物料中的毒性物质, 减少连作障碍以及病虫害的传播<sup>[4]</sup>。因此, 从自然界中寻找(耐)高温的、能够高效降解秸秆的微生物, 并将其应用于秸秆的生物处理具有良好的应用前景。

戴氏霉属(*Taifanglania* Z.Q. Liang, Y.F. Han, H.L. Chu & R.T.V. Fox)是由Liang等<sup>[5]</sup>于2009年建立的新属, 这类真菌大部分都耐高温并能分解木质纤维素, 在秸秆利用、垃圾处理 and 饲料添加剂等方面具有很好的发展潜力<sup>[6]</sup>。现已知叉戴氏霉[*T. furcata* (Z.Q. Liang, H.L. Chu & Y.F. Han) Z.Q. Liang, Y.F. Han & H.L. Chu]、灰戴氏霉[*T. cinerea* (Z.Q. Liang, H.L. Chu & Y.F. Han) Z.Q. Liang, Y.F. Han & H.L. Chu]和大孢戴氏霉[*T. major* (Z.Q. Liang, H.L. Chu & Y.F. Han) Z.Q. Liang, Y.F. Han & H.L. Chu]都能产生漆酶<sup>[7-8]</sup>, 可以降解秸秆中的木质素; 大孢戴氏霉(*T. major*)和合川戴氏霉[*T. hechuanensis* (Z.Q. Liang, H.L. Chu & Y.F. Han) Z.Q. Liang, Y.F. Han & H.L. Chu]具有纤维素酶活性<sup>[9-10]</sup>, 能降解秸秆中的纤维素。因此, 戴氏霉是一种非常值得关注的、能够降解农作物秸秆的新资源, 将其用于秸秆的降解研究具有一定的理论意义和应用价值。

本研究对6株戴氏霉菌株的生长温度进行了测定, 并初步考察了其降解秸秆的能力, 以期有效

提高秸秆中木质纤维素的利用率提供更多的菌种资源和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 菌株:** 试验菌株共6株, 保存于贵州大学真菌资源研究所(表1)。

**1.1.2 主要试剂:** 苯胺蓝、愈创木酚、木质素磺酸钙、DNS试剂、葡萄糖标准溶液、柠檬酸缓冲液、羧甲基纤维素钠、水杨苷购自Alfa Aesar公司; Whatman No.1滤纸、中性洗涤剂(用于测定木质纤维素含量)等参考文献[11]。产纤维素酶定性检测染色液<sup>[12]</sup>: 碘化钾(KI) 2 g、碘(I) 1 g、用蒸馏水充分混匀后定容至300 mL, 常温避光保存。

**1.1.3 培养基:** PDA培养基(g/L): 马铃薯200 (切块, 用水煮沸30 min, 取滤液), 葡萄糖20, 琼脂20, 蒸馏水补足1 L, pH自然。灭菌条件:  $1 \times 10^5$  Pa灭菌30 min。以下培养基灭菌条件与此相同。

表1 试验菌株的相关信息  
Table 1 The information of strains tested in the study

种名 Species	菌株编号 Strain No.	来源 Origin
<i>T. cinerea</i>	GZUIFR.H57.1	贵州大学真菌资源研究所
<i>T. major</i>	GZUIFR.H52.1	贵州大学真菌资源研究所
<i>T. major</i>	GZUIFR.H57.2	贵州大学真菌资源研究所
<i>T. furcata</i>	GZUIFR.H104.1	贵州大学真菌资源研究所
<i>T. hechuanensis</i>	GZUIFR.H08.1	贵州大学真菌资源研究所
<i>T. jiangsuensis</i>	GZUIFR.HC48.1	贵州大学真菌资源研究所

苯胺蓝培养基(g/L)<sup>[13]</sup>: 酵母膏10.0, 葡萄糖20.0, 苯胺蓝0.1, 琼脂18.0, pH自然。

愈创木酚培养基(g/L)<sup>[14]</sup>: PDA培养基中加0.04%浓度(质量体积比)的愈创木酚。

木质素磺酸钙液体培养基(g/L): 马铃薯200(切块, 用水煮沸30 min, 取滤液), 葡萄糖5, 木质素磺酸钙2, pH自然。

CMC 固体培养基(g/L): 羧甲基纤维素钠(CMC-Na) 5.0, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.0, 酵母粉 2.0, 琼脂 17.0, pH 自然。

CMC 液体培养基(g/L): CMC-Na 5.0, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.0, 酵母粉 2.0, pH 自然。

水稻秸秆液体发酵培养基(g/L): 马铃薯200(浸出液), 葡萄糖5, 水补足1 L, 分装后每250 mL三角瓶倒入100 mL培养基, 再分别加入4 cm左右的碎稻草秆1 g。

## 1.2 方法

**1.2.1 菌株生长温度测定<sup>[15]</sup>**: 设定5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55 °C作为实验温度, 所有培养温度均用水银温度计检测校正, 温度误差不超过2 °C。用打孔器沿着菌落边缘切取直径3 mm的圆形菌碟, 倒扣于PDA平板中央, 分别置于各设定温度下暗培养。每个处理设3次重复, 测定第5天的菌落生长直径。

**1.2.2 菌株产木质素酶初测**: 将各菌株用打孔器沿着菌落边缘切取直径5 mm的圆形菌碟, 分别接种于苯胺蓝平板和愈创木酚平板, 40 °C避光培养5 d, 分别测定其氧化圈直径(*D*)和菌落直径(*d*), 计算产酶率(*D/d*)。苯胺蓝筛选平板用于木质素过氧化物酶(LiP)和(或)锰过氧化物酶(MnP)的检测<sup>[13]</sup>, 愈创木酚筛选平板则用来检测漆酶(Lac)的产生情况<sup>[14]</sup>, 每个处理设3次重复。

**1.2.3 菌株降解木质素能力复测**: 木质素磺酸钙标准曲线的绘制参照蒋挺大的操作方法<sup>[16]</sup>。用无菌生理盐水洗下各菌株孢子并配成10<sup>7</sup>的孢子悬液, 然后按5%的接种量接入装有100 mL木质素磺酸钙液体

培养基的250 mL三角瓶中, 40 °C、100 r/min摇床培养。分别于第0、2、4、6、8、10天测定其木质素磺酸钙含量。设置相同培养基、相同培养条件而不接菌为对照组, 每个菌株3个重复。木质素磺酸钙含量测定方法为: 用无菌吸管吸取2 mL发酵液, 于4 000 r/min离心5 min, 取上清液适当稀释后测定280 nm下吸光值, 最后根据木质素磺酸钙标准曲线进行换算。

**1.2.4 菌株产纤维素酶初测**: 将各菌株用打孔器沿长好的菌落边缘切取直径5 mm的圆形菌碟, 分别接种于CMC平板, 40 °C避光培养5 d, 用染色液(约5 mL)染色5 min后, 倒出染色液, 测定透明圈直径。

**1.2.5 菌株产纤维素酶复测**: 参照王宝林等的操作方法<sup>[17]</sup>。将各菌株的孢子悬液按10%的接种量接入装有50 mL CMC液体培养基的250 mL三角瓶中, 40 °C、100 r/min摇床培养, 然后分别在第1、3、5、7、9天测定粗酶液中滤纸酶活力(FPase)、内切酶活力(CMCase)和β-葡萄糖苷酶活力(β-Glucosidase)。滤纸酶活和内切酶活按照国际理论与应用化学协会(IUPAC)推荐的国际标准方法测定<sup>[18]</sup>, β-葡萄糖苷酶活的测定参照文献<sup>[19]</sup>。滤纸酶、内切酶和β-葡萄糖苷酶的酶活力单位定义为: 50 °C恒温条件下, 以水解反应中每分钟催化底物水解形成1 μmol葡萄糖的酶量为1个单位(IU)。

**1.2.6 秸秆发酵验证试验**: 将各菌株的孢子悬液按5%的接种量接入装有100 mL秸秆发酵培养基的250 mL三角瓶中, 35 °C、100 r/min摇床培养30 d(设置相同培养基、相同培养条件而不接菌为对照组)。发酵产物过滤取滤渣(包括秸秆和菌丝), 然后将秸秆、菌丝分离, 105 °C烘干至恒重, 分别称重, 计算秸秆降解率和单位质量菌丝的秸秆降解量。最后测定秸秆的木质素、半纤维素和纤维素降解率。木质素、半纤维素和纤维素含量的测定采用改进的范氏(Van Soest)分析法<sup>[11]</sup>。秸秆与菌丝的分离方法如下: 发酵产物过滤后, 滤渣包括成团的菌丝体、秸秆和菌丝的混合物, 先取出成团的菌丝体, 然后用镊子和不锈钢药匙小心刮下秸秆表面的菌丝, 将秸

秆、菌丝(包括成团的菌丝体)分别置于105 °C烘干至恒重;此时,若秸秆表面还存有菌丝,可以用镊子和不锈钢药匙进行第二次分离。

秸秆降解率(%)=(发酵前秸秆质量-发酵后秸秆质量)/发酵前秸秆质量×100。

木质素、半纤维素和纤维素降解率的计算公式同上。

**1.2.7 数据分析:**采用软件Microsoft Excel 2003和SPSS 20.0。

## 2 结果与分析

### 2.1 6株戴氏霉菌的生长温度特性

试验菌株包含了戴氏霉属的5个种(6个菌株),其生长温度曲线见图1。它们的最低生长温度均在20 °C以下,最适生长温度处于35–40 °C之间,而最高生长温度在50 °C左右,属于典型的耐热真菌(Thermotolerant fungi)。这些菌株虽然在50 °C高温下生长受到抑制,但将其移置于常温下继续培养,发现它们又能正常生长,表明50 °C还未能达到其致死温度。菌株的生长温度特性为后续试验的温度设定提供了参考依据。

### 2.2 菌株产木质素酶初测

由图2可以看出,灰戴氏霉(*T. cinerea*) H57.1菌株、大孢戴氏霉(*T. major*) H52.1菌株和H57.2菌株,以及叉戴氏霉(*T. furcata*) H104.1菌株在苯胺蓝平板和愈创木酚平板上均有颜色反应,这表明4株戴氏霉既能产生过氧化物酶类(LiP、MnP),又能产生漆

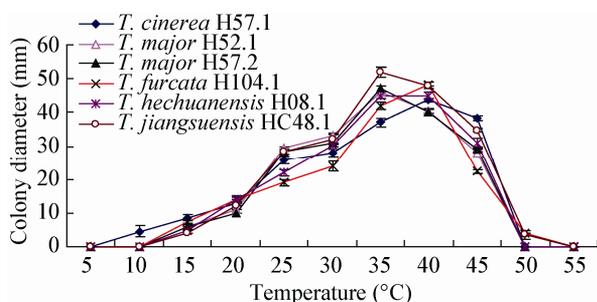


图1 6株戴氏霉菌的生长温度曲线

Figure 1 Temperature-growth curves of six *Taifanglania* strains

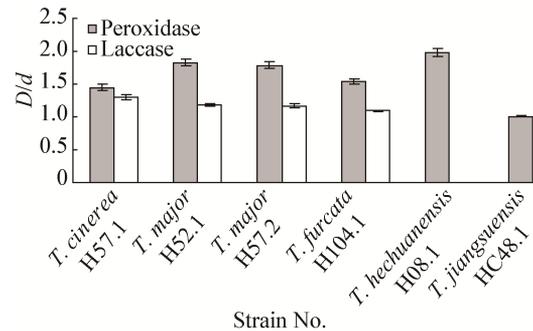


图2 6株戴氏霉产过氧化物酶类和漆酶差异比较

Figure 2 Comparison of peroxidase and laccase from six *Taifanglania* strains

注: D/d: 氧化圈直径与菌落直径之比。

Note: D/d: Ratio of oxidized zone diameter to colony diameter.

酶(Lac);而合川戴氏霉(*T. hechuanensis*) H08.1菌株和江苏戴氏霉(*T. jiangsuensis*) HC48.1菌株只在苯胺蓝平板上产生脱色圈,表明其能产生LiP和(或)MnP,但不能产生Lac。由氧化圈直径(D)与菌落直径(d)之比可以初步判断,产生过氧化物酶类能力最强的是菌株H08.1,其次是H52.1和H57.2,最弱的是HC48.1;而产漆酶能力最强的是菌株H57.1,其次是H52.1和H57.2。

### 2.3 不同菌株降解木质素能力比较

对木质素降解菌而言,筛选平板的颜色变化仅能初步反映菌株产木质素酶的能力,为了确切了解菌株降解木质素能力的强弱,还应结合定量木质素降解试验进一步验证。木质素磺酸钙含量与吸光值间的线性回归方程为 $y=2.444 2x+0.084 3$ ,相关系数 $R^2=0.999 7$ 。图3实验结果表明这些戴氏霉均能降解木质素,其中降解能力最好的菌株是H57.1,其次是H08.1,最弱的为HC48.1。

对照筛选平板的初测结果,发现菌株降解木质素的能力与它们木质素酶的产生能力密切相关: H57.1既能产生过氧化物酶类,又能产生漆酶且产漆酶能力最强,所以其木质素降解能力最好; H08.1虽然不产漆酶,但产生过氧化物酶类的能力最强,所以它的木质素降解能力也很强; HC48.1不产漆酶且产生过氧化物酶类的能力与其他菌株相比相对较弱,故木质素降解能力最弱。

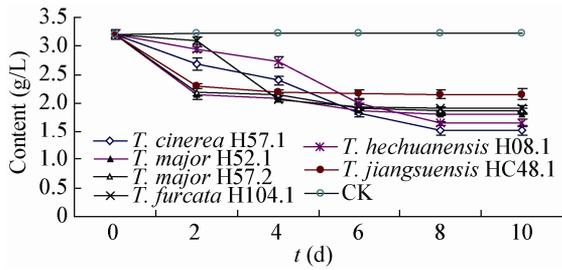


图3 6株戴氏霉菌对木质素的降解差异  
Figure 3 Difference of lignin degradation among six *Taifanglania* strains

2.4 菌株产纤维素酶初测

通过CMC平板染色, 戴氏霉6株试验菌株均能产生不同程度的水解圈(表2), 其中菌株H08.1纤维素水解圈直径最大, 达到了48.7 mm, 其次是H104.1和H57.1, HC48.1产生的水解圈最小。在某种程度上纤维素水解圈的大小代表了菌株产纤维素酶能力的强弱, 但还需液体发酵培养进一步验证菌株的纤维素酶活力。

2.5 菌株产纤维素酶复测

综合考虑滤纸酶、CMC酶和β-葡萄糖苷酶的酶

活力(图4), 发现6株戴氏霉试验菌株酶活均随着发酵时间的延长而逐渐增大, 在5-7 d达到最大值, 而后呈降低趋势; 其中最大滤纸酶活、最大CMC酶活均由菌株H08.1产生, 分别为1.68 IU/mL和9.25 IU/mL, 最大β-葡萄糖苷酶活由菌株H104.1产生, 达到3.48 IU/mL。这与初测结果基本符合。

2.6 秸秆发酵验证试验

用稻草秆作为培养基质, 液态发酵30 d, 以验证6株戴氏霉试验菌株对农作物秸秆的降解效果, 其结果见表3。结果显示, 秸秆降解率最大的菌株是H08.1、其次是H57.1, 分别为50.2%、42.2%; 秸秆降解率最小的菌株为H104.1和HC48.1, 也达到了28.3%和27.4%。单位质量菌丝的秸秆降解量也能很好地反映菌株降解秸秆的能力, 其结果与秸秆降解率大部分是一致的, 降解量最大的菌株也是H08.1, 其次是H57.1, 降解量最小的菌株为HC48.1。由此可知, 戴氏霉所有试验菌株均具有一定的秸秆降解能力, 但不同菌株间差异较大, 其中H08.1降解能力最强, 其次是H57.1。

表2 6株戴氏霉菌产纤维素酶能力比较  
Table 2 Comparison of cellulase from six *Taifanglania* strains

菌株 Strain	直径 Diameter (mm)	菌株 Strain	直径 Diameter (mm)
<i>T. cinerea</i> H57.1	45.3±1.2 <sup>b</sup>	<i>T. furcata</i> H104.1	46.0±1.0 <sup>b</sup>
<i>T. major</i> H52.1	42.7±0.6 <sup>c</sup>	<i>T. hechuanensis</i> H08.1	48.7±0.6 <sup>a</sup>
<i>T. major</i> H57.2	43.0±0.6 <sup>c</sup>	<i>T. jiangsuensis</i> HC48.1	40.7±0.6 <sup>d</sup>

注: 不同小写字母表示差异达到5%显著水平。

Note: Different lowercase letters mean significant difference at 5% level.

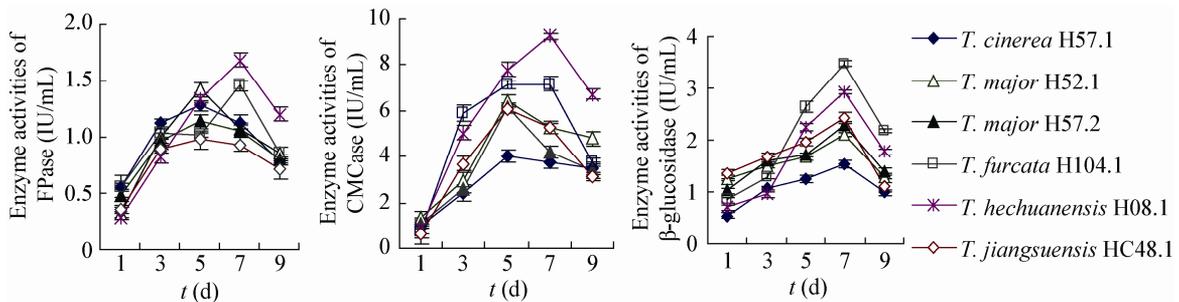


图4 6株戴氏霉菌产生的滤纸酶、CMC酶和β-葡萄糖苷酶的酶活力曲线  
Figure 4 The enzyme activity curves of FPase, CMCase and β-glucosidase from six strains tested

表3 6株戴氏霉菌对稻草秆的降解效果  
Table 3 The degradation effect of six strains on rice straw

菌株 Strains	秸秆降解率 Straw degradation rate (%)	D/M (g)	降解率 Degradation rate (%)		
			木质素 Lignin	半纤维素 Hemicellulose	纤维素 Cellulose
			0	0	0
CK	0	-	0	0	0
<i>T. cinerea</i> H57.1	42.2±2.10 <sup>Bb</sup>	0.999±0.013 <sup>Bb</sup>	43.8±0.83 <sup>Aa</sup>	50.4±1.80 <sup>Cc</sup>	34.8±2.37 <sup>Dd</sup>
<i>T. major</i> H52.1	31.3±3.23 <sup>Ccd</sup>	0.749±0.009 <sup>Ccd</sup>	22.7±2.07 <sup>Dd</sup>	50.7±2.32 <sup>Cc</sup>	40.7±2.79 <sup>Cc</sup>
<i>T. major</i> H57.2	34.8±1.35 <sup>BCc</sup>	0.732±0.016 <sup>Cd</sup>	24.9±0.87 <sup>Dd</sup>	53.2±0.97 <sup>BCbc</sup>	43.7±1.17 <sup>BCbc</sup>
<i>T. furcata</i> H104.1	28.3±3.87 <sup>Cd</sup>	0.801±0.005 <sup>Cc</sup>	34.5±1.74 <sup>Cc</sup>	55.6±2.40 <sup>Bb</sup>	46.5±1.87 <sup>Bb</sup>
<i>T. hechuanensis</i> H08.1	50.2±2.16 <sup>Aa</sup>	1.204±0.003 <sup>Aa</sup>	38.3±1.23 <sup>Bb</sup>	68.0±1.39 <sup>Aa</sup>	54.5±1.97 <sup>Aa</sup>
<i>T. jiangsuensis</i> HC48.1	27.4±3.21 <sup>Cd</sup>	0.634±0.084 <sup>De</sup>	18.3±2.14 <sup>Ee</sup>	53.3±2.07 <sup>BCbc</sup>	30.9±2.04 <sup>De</sup>

注: D/M: 单位质量菌丝的秸秆降解量. 表中同列不同小写字母表示差异达到5%显著水平, 同列不同大写字母表示差异达到1%显著水平.

Note: D/M: Straw degradation amount per gram of mycelium. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences at 5% level and different uppercase letters in the same column mean significant differences at 1% level.

分别比较试验菌株对秸秆木质素、半纤维素和纤维素的降解率, 发现各菌株对木质素的降解效果差异明显, 其中H57.1的木质素降解率最大, 其次是H08.1, HC48.1降解率最小, 它们的木质素降解率分别为43.8%、38.3%和18.3%。这与前期木质素降解能力的测定结果相符合。验证试验的结果还表明, 各菌株对半纤维素均有很好的降解效果, 其中以H08.1的半纤维素降解率最大, 达到了68.0%。纤维素降解效果最好的菌株是H08.1, 其次是H104.1, 其降解率分别为54.5%和46.5%。此外, 菌株产纤维素酶的测定结果与上述降解秸秆纤维素的试验结果基本一致, 这表明菌株对纤维素的降解能力与其产纤维素酶的能力密切相关。

### 3 讨论

国内外一些学者的研究表明<sup>[20-21]</sup>, 在进行好氧堆肥时, 通过接种高温秸秆降解菌剂, 可以加速堆体升温, 加快堆肥底物中木质纤维类物质的分解, 从而缩短堆肥腐熟的周期。本研究的戴氏霉菌试验菌株均能降解秸秆, 还能耐受50℃的高温, 属于典型的耐高温型秸秆降解菌, 其温度适应能力较强; 在进行秸秆好氧堆肥、缩短堆肥时间等方面具

有潜在的应用价值。而且, 试验菌株中合川戴氏霉(*T. hechuanensis*) H08.1和灰戴氏霉(*T. cinerea*) H57.1, 其秸秆降解率分别达到了50.2%和42.2%, 明显高于李海红等<sup>[22]</sup>筛选到的一组高温混合菌(发酵30 d秸秆降解率为34.23%), 它们在提高秸秆降解率上的应用前景值得进一步研究。

目前, 影响人们对农作物秸秆高效利用的关键问题之一是木质素的阻碍作用<sup>[13]</sup>。关于降解木质素的微生物, 近年来的研究主要局限于担子菌类白腐真菌, 事实上在土壤、堆肥等系统中木质纤维素的转化绝不仅仅是担子菌作用的结果, 许多子囊菌的作用也不容忽视<sup>[23]</sup>。戴氏霉作为一种丝状子囊菌, 可以产生过氧化物酶类(LiP、MnP), 部分种还能产生漆酶(Lac), 具有很好的木质素降解能力, 尤其是灰戴氏霉(*T. cinerea*) H57.1, 其秸秆木质素降解率已达43.8%, 高于许多已报道的菌株<sup>[23-25]</sup>。郁红艳等<sup>[23]</sup>从土壤中分离得到一株筒青霉(*Penicillium simplicissimum*), 对稻草木质素的降解率为14.94%。王洪媛等<sup>[24]</sup>通过多种筛选方法获得的高效秸秆降解菌扩张青霉W4, 其木质素降解率达33.79%。梁军锋等<sup>[25]</sup>获得的木质素高效降解菌Tf1 (凤尾菇,

*Pleurotus sajor-caju*)对小麦秸秆发酵30 d后,木质素降解率为38.4%。灰戴氏霉H57.1的木质素降解能力值得在秸秆资源的开发利用中开展更深入的研究。

由于秸秆成分的复杂性,其降解需要不同的酶系来共同完成。现研究表明<sup>[26-28]</sup>,一些丝状真菌都能分泌降解木质纤维素的酶系,但单个菌株分泌酶的种类不全,对不同来源的木质纤维素的分解能力也存在不同程度的差异,故绝大部分丝状真菌的菌株降解基质的水平远低于混合菌株。本研究也发现,秸秆降解效果较好的合川戴氏霉(*T. hechuanensis*) H08.1 虽然产过氧化物酶类的能力很强,但却不能产生漆酶;而灰戴氏霉(*T. cinerea*) H57.1 虽然既能产生过氧化物酶类又能产生漆酶,但产生过氧化物酶类的能力并不强。若以两菌组合发酵共同降解秸秆,将很可能产生协同作用,从而实现秸秆的快速降解。因此,通过混菌发酵(戴氏霉与其他秸秆降解菌之间、以及戴氏霉不同菌种之间进行共培养)的方法来提高戴氏霉对秸秆的降解效率也不失为一条可行的值得考虑的途径。

## 参 考 文 献

- [1] Liu JS. Analyses on the distribution pattern of the crop-straw resource and the status quo of its application in China[D]. Beijing: Master's Thesis of China Agricultural University, 2005 (in Chinese)  
刘建胜. 我国秸秆资源分布及利用现状的分析[D]. 北京: 中国农业大学硕士学位论文, 2005
- [2] Meng JY, Feng FY, Liu XH, et al. Screening of a cellulose-decomposing *Actinomyces* strain and its enzyme-producing conditions[J]. Journal of Microbiology, 2011, 31(4): 47-51 (in Chinese)  
孟建宇, 冯福应, 刘向红, 等. 1株纤维素降解菌的筛选及产酶条件研究[J]. 微生物学杂志, 2011, 31(4): 47-51
- [3] Zhou YF, Zhan FQ, Hou XQ, et al. Isolation and characterization of four cellulose-decomposing thermophilic fungal strains from Xinjiang[J]. Microbiology China, 2011, 38(2): 206-213 (in Chinese)  
周亚飞, 詹发强, 侯新强, 等. 棉秸秆降解高温菌株的筛选及产酶分析[J]. 微生物学通报, 2011, 38(2): 206-213
- [4] Wang YM. Screening for high-temperature cellulose-degrading strains and effect of the compositive microbial inoculants on crop straw degradation[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Agricultural University, 2013 (in Chinese)  
王元明. 高温纤维素降解菌的筛选及其复合菌剂对秸秆降解效果的研究[D]. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2013
- [5] Liang ZQ, Han YF, Chu HL, et al. Studies on the genus *Paecilomyces* in China V. *taifanglania* gen. nov. for some monophialidic species[J]. Fungal Diversity, 2009, 34: 69-77
- [6] Han YF, Liang JD, Dong X, et al. Research progress on *Taifanglania*[J]. Guizhou Agriculture Sciences, 2010, 38(3): 76-78 (in Chinese)  
韩燕峰, 梁建东, 董旋, 等. 戴氏霉属的利用研究进展[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(3): 76-78
- [7] Chu HL. Studies on the thermophilic *Paecilomyces* and some species which produce laccase[D]. Guiyang: Master's Thesis of Guizhou University, 2005 (in Chinese)  
初华丽. 高温拟青霉资源及其产漆酶菌株的研究[D]. 贵阳: 贵州大学硕士学位论文, 2005
- [8] Zhang YW, Qiu SY, Han YF, et al. Screening of fungal strains with laccase and optimization and identification of the strain with high-yield laccase[J]. Microbiology China, 2014, 41(2): 251-257 (in Chinese)  
张延威, 邱树毅, 韩燕峰, 等. 产漆酶菌株筛选及一株产酶菌株的优化与鉴定[J]. 微生物学通报, 2014, 41(2): 251-257
- [9] Zhang YW, Chen WH, Wang YR, et al. Screening on cellulase from thermophilic *Taifanglania* spp.[J]. China Brewing, 2013, 32(3): 45-47 (in Chinese)  
张延威, 陈万浩, 王玉荣, 等. 嗜热戴氏霉真菌产纤维素酶的筛选[J]. 中国酿造, 2013, 32(3): 45-47
- [10] Han YF, Wang BL, Chen WH, et al. Condition optimization of cellulase-producing activity of *Taifanglania hechuanensis*[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2012, 40(7): 109-110 (in Chinese)  
韩燕峰, 王宝林, 陈万浩, 等. 合川戴氏霉菌株产纤维素酶活力的条件优化[J]. 贵州农业科学, 2012, 40(7): 109-110
- [11] Liu S. Screening of straw degradation strains under medium-low temperature and their degradation effects on crop straw[D]. Beijing: Master's Thesis of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2011 (in Chinese)  
刘爽. 中低温秸秆降解菌的筛选及其秸秆降解效果研究[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2011
- [12] Kasana RC, Salwan R, Dhar H, et al. A rapid and easy method for the detection of microbial cellulases on agar plates using gram's iodine[J]. Current Microbiology, 2008, 57(5): 503-507
- [13] Wu W, Dun BQ, Jiang XP, et al. Separation and filtration of high effective lignin-degradation fungi[J]. Food Science and Technology, 2008, 33(3): 22-25 (in Chinese)  
吴薇, 顿宝庆, 姜训鹏, 等. 高效木质素降解菌的分离筛选[J]. 食品科技, 2008, 33(3): 22-25
- [14] Wang YL, Zhu T, Deng ZX. Using o-methoxyphenol to fast screen laccase produced fungus[J]. Biotechnology, 2007, 17(2): 40-42 (in Chinese)  
王宜磊, 朱陶, 邓振旭. 愈创木酚法快速筛选漆酶产生菌[J]. 生物技术, 2007, 17(2): 40-42
- [15] Asgari B, Zare R. The genus *Chaetomium* in Iran, a phylogenetic

- study including six new species[J]. *Mycologia*, 2011, 103(4): 863-882
- [16] Jiang TD. Lignin[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2001 (in Chinese)  
蒋挺大. 木质素[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001
- [17] Wang BL, Wang YR, Chen WH, et al. Screening of cellulose-producing strains from *Chrysosporium* spp. and *Myceliophthora* spp. and its response to temperature[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2013, 41(5): 79-82 (in Chinese)  
王宝林, 王玉荣, 陈万浩, 等. 产纤维素酶金孢与毁丝霉菌株的筛选及温度对其产酶的影响[J]. *贵州农业科学*, 2013, 41(5): 79-82
- [18] Ghose TK. Measurement of cellulase activities[J]. *Pure and Applied Chemistry*, 1987, 59(2): 257-268
- [19] Qin Y, Zhang Y, Zhu J, et al. Screening and identification of a fungal  $\beta$ -glucosidase and the enzymatic synthesis of gentiooligosaccharide[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2011, 163: 1012-1019
- [20] Tengerdy RP, Szakacs G. Bioconversion of lignocellulose in solid substrate fermentation[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2003, 13: 169-179
- [21] Huang DY, Lu WJ, Wang HT, et al. Application of high-efficient cellulose utilization microorganisms in co-composting of vegetable wastes and flower stalk[J]. *Environmental Science*, 2004, 25(2): 145-149 (in Chinese)  
黄得扬, 陆文静, 王洪涛, 等. 高效纤维素分解菌在蔬菜-花卉秸秆联合好氧堆肥中的应用[J]. *环境科学*, 2004, 25(2): 145-149
- [22] Li HH, Wang Q, Yuan YX, et al. A high-temperature composite microbe for degrading of lignin and cellulose[J]. *Journal of Xi'an Polytechnic University*, 2013, 27(1): 83-87 (in Chinese)  
李海红, 王巧, 袁月祥, 等. 一组高温混合菌对木质素纤维素的降解[J]. *西安工程大学学报*, 2013, 27(1): 83-87
- [23] Yu HY, Zeng GM, Huang GH, et al. Lignin degradation by *Penicillium simplicissimum*[J]. *Environmental Science*, 2005, 26(2): 167-171 (in Chinese)  
郁红艳, 曾光明, 黄国和, 等. 简青霉 *Penicillium simplicissimum* 木质素降解能力[J]. *环境科学*, 2005, 26(2): 167-171
- [24] Wang HY, Fan BQ. Screening of three straw-cellulose degrading microorganism[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, 50(7): 870-875 (in Chinese)  
王洪媛, 范丙全. 三株高效秸秆纤维素降解真菌的筛选及其降解效果[J]. *微生物学报*, 2010, 50(7): 870-875
- [25] Liang JF, Zhang HS, Zhang KQ, et al. Study on the screening of the lignin-degrading fungus and the degradation of straws[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2009, 24(5): 206-209 (in Chinese)  
梁军锋, 张洪生, 张克强, 等. 木质素降解菌的筛选及对秸秆的降解研究[J]. *华北农学报*, 2009, 24(5): 206-209
- [26] Li CS, Guo SX. Studies and applications on microbial mixed fermentation[J]. *Microbiology China*, 2004, 31(3): 156-161 (in Chinese)  
李春笋, 郭顺星. 微生物混合发酵的研究及应用[J]. *微生物学通报*, 2004, 31(3): 156-161
- [27] Yang LF, Xie GS, Wang ZH, et al. Isolation and identification of high-efficiency lignocellolytic strains for bioconversion of banana pseudostem and leaves[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2001, 22(3): 70-77 (in Chinese)  
杨礼富, 谢贵水, 王真辉, 等. 木质纤维素酶高产菌株的筛选和鉴定[J]. *热带作物学报*, 2001, 22(3): 70-77
- [28] Huang Q, Huang FH, Jiang ML, et al. The selection of lignin-degrading fungus and the straw fermentation by mixed strains[J]. *China Biotechnology*, 2008, 28(2): 66-70 (in Chinese)  
黄茜, 黄凤洪, 江木兰, 等. 木质素降解菌的筛选及混合菌发酵降解秸秆的研究[J]. *中国生物工程杂志*, 2008, 28(2): 66-70