

玉米秸秆纤维素降解菌的紫外-微波复合诱变及产酶条件优化

魏 炜,赵之璧,袁雅姝

(沈阳建筑大学市政与环境工程学院,辽宁 沈阳 110168)

摘要 目的 筛选出降解性能更好的玉米秸秆纤维素降解菌株,为秸秆生物降解提供理论依据。方法 利用刚果红染色法对菌株筛选分离并鉴定;通过复合诱变,获得降解性更好的菌株;采用单因素及正交试验测定不同条件下的羧甲基纤维素(CMC)酶活力和滤纸(FPA)酶活力,确定最佳产酶条件。结果 经复合诱变获得1株降解性较好的菌株 SF3-3,降解率比未诱变菌株提升 18.12%,比单独诱变菌株提升 10.84%;最适合产酶条件为温度 28 °C、pH 值 7.0、接种量 2%、转速 130 r/min。结论 紫外-微波复合诱变能更好地提升菌株对秸秆的降解性能,最佳的产酶条件能够实现降解性能的进一步提升。

关键词 秸秆降解菌;紫外;微波;复合诱变

中图分类号 TU-023;X172

文献标志码 A

Optimization of UV-Microwave Combined Induction and Enzyme Production Conditions of Cellulose-Degrading Bacteria for Maize Straw

WEI Wei, ZHAO Zhibi, YUAN Yashu

(School of Municipal and Environmental Engineering, Shenyang Jianzhu University, Shenyang, China, 110168)

Abstract: The corn straw cellulose degrading strains with preferable degradation performance were screened out to provide theoretical basis for straw biodegradation. The strains was screened, isolated and identified by Congo red staining method, and has better biodegradability through compound mutagenesis. The optimal enzyme production conditions were determined by the enzyme activity of carboxymethyl cellulose (CMC) and filter paper (FPA) under different conditions which were determined by single factor and orthogonal experiments. A strain SF3-3 with preferable biodegradability was obtained by compound mutagenesis, which was 18.12% higher than that by non mutagenesis and 21.68% higher than that by single mutagenesis; The optimal enzyme production conditions were temperature 28 °C, pH 7.0, inoculation amount 2%, and rotation speed

收稿日期:2021-03-12

基金项目:国家自然科学基金项目(51908377)

作者简介:魏炜(1960—),男,教授,博士,主要从事环境污染控制与修复、污水处理等方面研究。

130r·min⁻¹. So the degradation performance of the strain for corn straw can be improved by UV microwave compound mutagenesis, and the optimal enzyme production conditions can further improve this performance.

Key words: straw degrading bacteria; UV; microwave; compound mutagenesis

玉米秸秆在农业副产物中占比较大^[1-2],简单焚烧会造成大气污染和资源浪费,纤维素是玉米秸秆细胞壁的主要成分,结构较为复杂,质地结实紧密^[3],传统的物理和化学方法对秸秆降解的效率不高,而生物法降解可以弥补上述不足^[4-5]。高云航等^[6]从牛粪中筛选出一株纤维素酶活性较高的菌株 N12。高兆明等^[7]从厦门红树林泥样中筛选到一株纤维素酶产生菌 G21。李君君^[8]针对茶粕进行研究,从土壤、树叶和腐烂的树叶中筛选出了 L-1、L-2、L-3、L-4、L-5 和 L-6 纤维素降解菌株。鲁雄^[9]以甘蔗渣为唯一碳源,从厦门温泉样品中筛选出热稳定纤维素产生菌 XM70。王岩等^[10-11]以农村自然堆肥堆秸秆还田土为菌源,在 15℃ 低温的培养条件下成功筛选出单菌 54 株。景如贤等^[12]采取克氏碘液染色法从常年落叶的土壤中分离出高效降解菌。纤维素分解菌的筛选与鉴定是决定能否实现秸秆高效转化为葡萄糖的关键。因此,笔者以沈阳地区的土样为原料,利用刚果红染色法从中筛选出降解性能相对较好的两种菌株并进行鉴定,通过紫外-微波复合诱变筛选出降解性能更好的菌株,并对产酶条件进行了优化,为提升降解秸秆菌的性能提供了理论依据。

1 实验

1.1 秸秆及土样

实验秸秆采自沈阳市张官桥下河畔处的玉米田,大多数秸秆已经腐烂,并被降解风干成碎屑状。实验土样采自沈阳建筑大学景观稻田、古树下,张官桥下玉米田、菜地,以及天柱山下等自然环境土壤。

1.2 主要试剂、培养基及仪器设备

试剂:浓度为 0.05 mol/L, pH 为 4.8 的

醋酸缓冲液; CMC-HAc 缓冲液; DNS 试剂^[13]; 质量浓度为 1 g/L 的葡萄糖标准液。

培养基:富集培养液^[14]; 羧甲基纤维素钠分离筛选培养基; 刚果红纤维素琼脂培养基^[15]; 滤纸条液体培养基^[16]; 羧甲基纤维素钠培养基。

仪器设备:烘箱; 恒温震荡培养箱; 鼓风干燥箱; 高速多功能粉碎机; 高压蒸汽灭菌锅; 冰箱; 高速离心机; 电磁炉; 生物显微镜等。

1.3 实验方法

菌株形态学鉴定采用革兰氏染色法^[17]并参考菌株鉴定手册; 菌株分子学鉴定采用细菌 16SrDNA 序列测序的方法。

采用 Van Soest 分析法测定纤维素降解率。

羧甲基纤维素(CMC)酶活力和滤纸(FPA)酶活力的测定依据下式:

$$A = \frac{CXV}{TV_1M} \quad (1)$$

式中:A 为 CMC 或 FPA 酶活力, U/mL; C 为还原糖质量浓度, g/L; X 为稀释倍数, 取 25; V 为总酶液体积, 取 10 mL; T 为作用时间, 取 30 min; V₁ 为参与反应的酶液体积, 取 0.5 mL; M 为葡萄糖分子量, 180。

2 结果与分析

2.1 菌株的筛选及鉴定

2.1.1 菌株的初筛

表 1 为 7 株纤维素降解菌透明圈直径 D、菌落直径 d 及其比值。

选取 D/d 值相对较大的菌株 I、菌株 IV、菌株 V 和菌株 VI4 种菌株进行滤纸条断裂实验。培养 15 d 的断裂情况如表 2 所示, 其中菌株 I 在第 6 d 开始断裂; 菌株 IV 和菌

株 V 虽然在前 9 d 断裂程度一样,但菌株 IV 在 12 d 断裂程度更深,菌株 V 在 12 d 没有变化。可见,菌株 I、菌株 IV 降解性相对较好。

表 1 7 株纤维素降解菌透明圈及菌落直径

Table 1 Clear circle and colony diameter of 7 cellulose degrading bacteria

原始菌株	D/mm	d/mm	D/d
I	46	25	1.84
II	33	28	1.18
III	32	26	1.23
IV	52	29	1.79
V	26	16	1.63
VI	9	6	1.50
VII	23	16	1.44

表 2 4 株降解菌的滤纸条断裂情况

Table 2 Break of filter paper of 4 strains of degrading bacteria

菌株	0 d	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d
I	-	-	+	++	++	+++
IV	-	-	-	+	++	+++
V	-	-	-	+	+	+
VI	-	-	-	-	+	+

注:“-”表示没有断裂;“+”表示出现断裂;“++”表示断裂程度较好;“+++”表示完全断裂。

选取滤纸条断裂情况较好的菌株 I、菌株 IV 进行刚果红液体验证实验,5 d 后观察发现:菌株 I 液体底部有大量红色沉淀,液体颜色变透明;菌株 IV 液体底部有少量红色沉淀,液体颜色变浅,仍有少量颜色。可见,菌株 I 对纤维素的降解性最好、菌株 IV 次之。

2.1.2 菌株 I 的复筛

初筛并不足以说明降解性能的优劣,还需要测定酶活力和降解率加以验证,测得的葡萄糖标准曲线如图 1 所示。

实验分别测出菌株 I、菌株 IV、菌株 V 的 CMC 酶活力、FPA 酶活力、吸光度及产糖量,将测定的吸光度值代入葡萄糖标准曲线中求出还原糖含量,用酶活力公式求出酶活力值,测得的纤维素降解率如表 3 所示,可以看出,

菌株 I、IV、V 的 CMC 酶活力分别是 $1.050 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.917 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.858 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$; FPA 酶活力分别为 $0.942 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.810 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.800 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$;纤维素降解率分别为 22.09%、15.73%、14.23%。由此可见,无论是 CMC 和 FPA 酶活力,还是降解率,菌株 I 都是最优的,与初筛的实验结果一致。

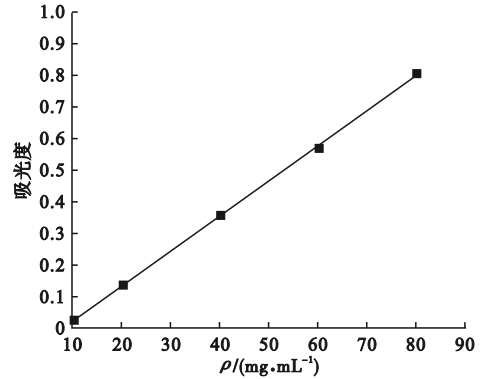


图 1 葡萄糖标准曲线

Fig. 1 Glucose standard curve

表 3 CMC 和 FPA 酶活力及降解率测定结果

Table 3 Results of CMC and FPA enzyme activity and degradation rate determination

原始菌株	CMC 酶活力/ ($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)	FPA 酶活力/ ($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)	纤维素降解率/%
I	1.050	0.942	22.09
IV	0.917	0.810	15.73
V	0.858	0.800	14.23

2.1.3 菌株 I 的 16SrDNA 分子学鉴定

对菌株 I 进行基因组 DNA 提取、16S 扩增、PCR 产物的检测,然后进行纯化、测序,最后进行 Ncbi-Blast 比对分析,完成 16S rDNA 基因分子鉴定。图 2 为对纤维素降解性能最好的菌株 I 的 16S rDNA 同源性系统发育树。根据 Blast 分析结果,菌株 I 与 *Streptomyces sp.* FZ92 亲缘关系最近,达到 99.93%;菌株 IV 与 *Streptomyces rubiginosus* 亲缘关系最近,达到 99.65%,由此初步判定菌株 I 为链霉菌。

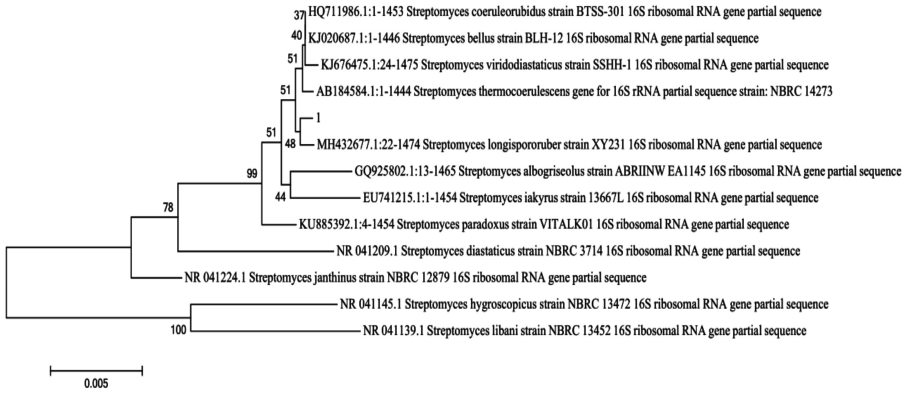


图2 菌株 I 的 16S rDNA 同源性的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of the 16S rDNA homology of strain I

2.2 菌株 I 的紫外诱变育种

2.2.1 菌株 I 的紫外诱变及初筛结果

制备孢子浓度为 1.0×10^8 个/mL 的菌悬液,置于紫外灯下进行常规处理,设定照射时间分别为 20 s,40 s,60 s,100 s,120 s;在不同照射时间取样,在涂布过程中避免被光照射,置于 40 °C 培养箱,暗培养 24 h,再见光培养 48 h。紫外照射产生的影响如图 3 所示。

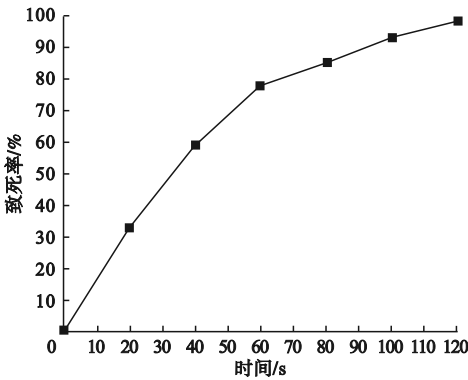


图3 紫外诱变的影响

Fig. 3 The influence of ultraviolet mutagenesis

从图 3 可以看出,孢子的致死率随着紫外线照射时间的延长而增加,当照射时间增至 60 s,80 s,120 s 时,致死率分别为 78%、85% 和 98%,选择 80s 为最佳照射时间进行筛选。选取 D_1/d_1 较大的 6 株菌种,分别命名为 SF1、SF2、SF3、SF4、SF5、SF6,进行固态发酵复筛实验。

2.2.2 菌株 I 的紫外诱变复筛结果

表 4 为紫外诱变后的复筛结果。可以看

出,菌株经过紫外诱变后,不论是 CMC 和 FPA 酶活力,还是对纤维素的降解效率,都有所提升,尤其是菌株 SF3 对纤维素的降解率达到 29.37%,与未诱变相比提升了 7.28%,因此选用菌株 SF3 进行复合诱变实验。

表 4 菌株 I 的微紫外诱变复筛结果

Table 4 Rescreening results of strain I by UV mutagenesis

单独诱变菌株	$D_1/$ mm	$d_1/$ mm	$\frac{D_1}{d_1}$	CMC 酶 活力/ ($U \cdot mL^{-1}$)	FPA 酶 活力/ ($U \cdot mL^{-1}$)	纤维素 降解 率/%
SF1	47	25	1.88	1.144	1.098	19.54
SF2	49	24	2.04	1.257	1.163	20.48
SF3	63	26	2.42	1.426	1.355	29.37
SF4	59	25	2.36	1.315	1.291	24.83
SF5	50	23	2.17	1.274	1.185	21.56
SF6	55	24	2.29	1.297	1.203	22.72

2.3 菌株 SF3 的紫外-微波复合诱变育种

菌株 SF3 的复合诱变时间对孢子的影响如图 4 所示。根据图 4 结果,选择 1 min 作为微波诱变时间进行复合诱变。

经紫外-微波复合诱变后的复筛结果如表 5 所示。从表 5 中可以看出,菌株经过复合诱变后,不论是对 CMC 和 FPA 酶活力,还是对纤维素降解效率的影响,与单独紫外诱变和未诱变相比都有了极大的提升,尤其是菌株 SF3-3 对纤维素的降解率达到

40.21%,与未诱变相比提升了18.12%,与单独紫外诱变相比提升了10.84%,且通过重复固态发酵,其稳定性较好,对纤维素的降解率始终保持在30.57%~40.21%。由此可见,紫外-微波复合诱变与传统的单独诱变相比效果更好。SF3-3可作为复合诱变产生的新菌株进行产酶条件优化。

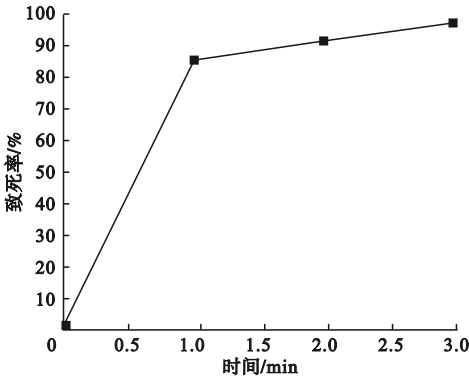


图4 复合诱变时间对孢子的影响

Fig. 4 Effect of compound mutagenesis time on spores

表5 紫外-微波复合诱变菌株的复筛结果

Table 5 Results of re-screening of UV-microwave combination mutagenic strains

复合诱变菌株	D_2/d_2 mm	d_2/d_2 mm	D_2/d_2 mm	CMC 酶活力/ ($U \cdot mL^{-1}$)	FPA 酶活力/ ($U \cdot mL^{-1}$)	纤维素降解率/ %
SF3-1	49	25	1.96	1.195	1.157	30.57
SF3-2	53	24	2.21	1.236	1.199	33.62
SF3-3	74	26	2.86	1.779	1.668	40.21
SF3-4	64	25	2.55	1.523	1.437	36.42
SF3-5	55	23	2.37	1.367	1.295	34.87
SF3-6	58	24	2.43	1.401	1.342	35.63

2.4 产酶条件优化

2.4.1 不同温度对酶活力的影响

温度直接影响到菌株的生理活性。一般真菌的最佳发酵温度在25℃左右,细菌在30℃左右。因此,设定实验温度分别为20℃、25℃、28℃、30℃、35℃。将菌株接种于pH为7.0的50 mL培养基中,分别在以上温度条件下130 r/min振荡培养4 d,制

备粗酶液,测定CMC及FPA活力,结果如图5所示。

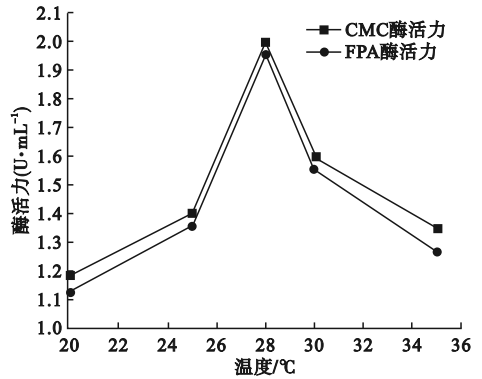


图5 温度对CMC和FPA酶活力的影响

Fig. 5 Effect of temperature on CMC and FPA enzyme activity

由图5可知,温度对CMC和FPA酶活力影响较大,在其他条件相同时,CMC和FPA酶活力均呈先升高后降低的趋势。当温度达到28℃,CMC和FPA酶活力均达到最大值,分别为1.996 U/mL和1.951 U/mL,在此温度下,菌株的酶促反应速率达到较高,产酶条件达到最佳。在低于25℃和高于30℃时,由于温度较为极端导致菌株部分酶失活变性,在一定程度上抑制了CMC和FPA的酶活力,尤其是在20℃时CMC和FPA酶活力均达到最低值,分别为1.184 U/mL和1.126 U/mL。因此可将后续实验的温度设置为28℃。

2.4.2 不同培养基初始pH值对酶活力的影响

培养基初始pH值改变产酶效果的机理是由于pH可以改变菌株细胞内部的电荷量,在一定程度上影响了酶的构造及酶促反应的速率。设定发酵培养基初始pH分别为4.0、5.0、6.0、7.0、8.0和9.0,将培养过夜的菌种分别接种于50 mL培养基中,再分别在28℃条件下,130 r/min振荡培养4 d后制备粗酶液,测定CMC及FPA酶活力,图6为测定结果。

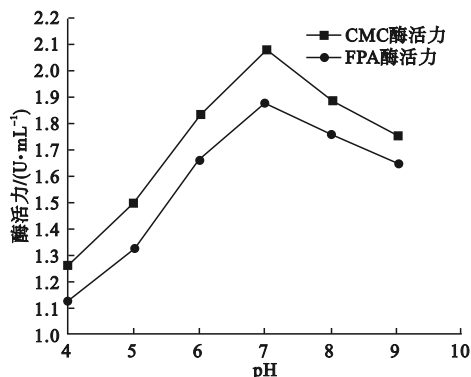


图6 pH对CMC和FPA酶活力的影响

Fig. 6 Effect of pH on CMC and FPA enzyme activity

由图6可知,培养基初始pH值对CMC和FPA的酶活力的影响较大,从图中可以看出,在其他条件都相同的情况下,CMC和FPA酶活力呈现先升高再降低的趋势,且不同pH下的酶活力差异也比较显著,因此表明培养基初始pH对菌株的CMC和FPA酶活力影响较大。当pH值呈酸性时,酸性越强酶活力越低,当pH为4.0时,CMC和FPA酶活力达到酸性条件下也是整体条件下的最低值,分别为1.260 U/mL和1.126 U/mL;当pH升高至中性时,酶活力有了明显的提高,其中当培养基初始pH值达到7.0时,CMC和FPA酶活力达到最大分别为2.072 U/mL和1.871 U/mL;继续升高pH达到碱性时,酶活力逐渐降低,直到pH达到9.0时,CMC和FPA酶活力达到碱性条件下的最低值,分别为1.753 U/mL和1.646 U/mL。由此可见,酸性条件下对菌株酶活力的影响程度要强于碱性。最适培养基初始pH值为7.0。

2.4.3 不同接种量对酶活力的影响

将菌株分别按1%、2%、4%、6%、8%、10%的接种量接种于50 mL、初始pH值为7.0的培养基中,在28℃、130 r/min的条件下振荡培养4 d后取发酵液,测定CMC及FPA活力,以确定最佳接种量(见图7)。

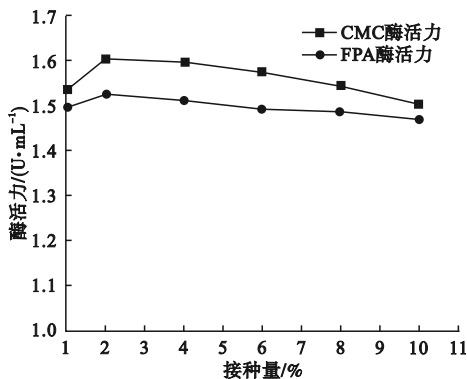


图7 接种量对CMC和FPA酶活力的影响

Fig. 7 Effect of inoculation amount on CMC and FPA enzyme activity

从图7中可知,接种量对酶活力的影响不是很大,随接种量呈先升高再下降的趋势,在其他条件相同时,该菌的接种量为2%时,其CMC和FPA酶活力均达到最大值,分别为1.603 U/mL和1.523 U/mL,当接种量超过2%时,菌株的酶活力逐渐降低,尤其是当接种量达到10%时,其CMC和FPA酶活力均达到最低值,分别为1.501 U/mL和1.465 U/mL,接种量的增加导致酶促反应无法正常进行,在一定程度上抑制了产酶效果,因此最适接种量为2%。

2.4.4 不同转速对酶活力的影响

将菌株以接种量为2%接种到初始pH值为7.0发酵培养基中,分别设定摇床转速为100 r/min、130 r/min、148 r/min、180 r/min,均置于28℃条件下振荡培养4 d后取发酵液,测定CMC及FPA活力,图8为实验结果。

由图8可知,转速对CMC和FPA酶活力的影响不是很大,在其他条件相同时,该菌的最适转速为130 r/min,其CMC和FPA酶活力均达到最大值,分别为1.642 U/mL和1.563 U/mL,当转速低于100 r/min和高于180 r/min时,在一定程度上抑制了产酶效果,且在转速达到180 r/min时,CMC和FPA酶活力均达到最小值,分别为1.599 U/mL和1.489 U/mL,造成酶活力较

低的原因是过快的转速可能改变菌株细胞变性或使之失活,在一定程度上影响了酶促反应速率,因此,该菌株的最适宜转速为130 r/min。

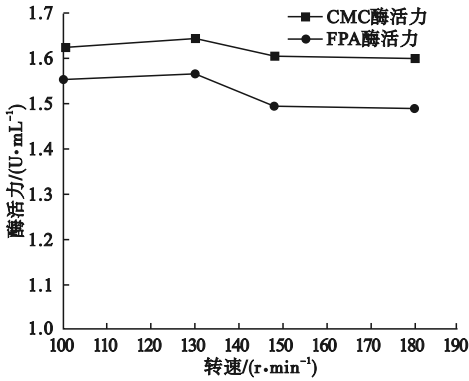


图8 转速对CMC和FPA酶活力的影响

Fig. 8 Effect of rotational speed on CMC and FPA enzyme activity

2.5 正交试验及验证

由于诱变后的 *Streptomyces* sp. FZ92C 的CMC和FPA酶活会受到多种因素的影响,因此要确定一个最佳的反应条件。将培养时间设置为4d,设计了正交试验,各因素水平表如表6所示。

表6 正交试验因素水平表

Table 6 Factor level table of orthogonal test

因素水平	温度/℃	接种量/%	初始pH值	转速/(r·min ⁻¹)
1	28	1	5.0	100
2	30	2	6.0	130
3	35	4	7.0	148

正交试验极差越大,说明影响就越大。正交试验结果如表7所示,从表7中4种单因素CMC与FPA正交试验的极值实验结果可以看出,对两种酶活力影响最大的是温度,其次是培养基pH值,再次是接种量,最后是转速。

通过正交试验得出的结果确定最佳条件:温度为28℃、接种量为2%、pH值为6.0、转速为130 r/min,此时的CMC酶活力为1.812 U/mL,FPA酶活力为1.812 U/mL。单

因素试验得出的最佳试验条件:温度为28℃、接种量为2%、pH值为7.0、转速为130 r/min,CMC酶活力为2.072 U/mL,FPA酶活力为1.464 U/mL。由此可见单因素试验得出最佳条件时的CMC和FPA酶活力要高于正交试验最佳条件时的CMC和FPA酶活力,因此最佳产酶条件:温度为28℃、接种量为2%、pH值为7.0、转速为130 r/min。

表7 正交试验结果表

Table 7 Results of orthogonal test

结果	温度	接种量	初始pH值	转速
R_{CMC}	0.512	0.179	0.463	0.135
R_{FPA}	0.528	0.191	0.439	0.171

3 结论

(1)从张官桥下玉米地筛选出来的两株降解菌经16S rDNA鉴定均为链霉菌属菌种,菌株I与*Streptomyces* sp. FZ92亲缘关系为99.93%;菌株IV与*Streptomyces rubiginosus*亲缘关系99.65%,且菌株I的降解性能最好,达12.08%。

(2)对菌株I进行紫外-微波复合诱变,得到1株纤维素降解性能最好、对秸秆降解效率达到40.21%的菌株SF3-3,与未诱变株相比降解率提升了18.12%,与单独紫外诱变株相比降解率提升了10.84%,复合诱变极大地提高了菌株的降解性能。

(3)两种酶活力的影响因素强弱依次为:温度、培养基初始pH值、接种量、转速;复合诱变后的菌株SF3-3的最佳产酶条件:温度为28℃、接种量为2%、pH值为7.0、转速为130 r/min。

参考文献

- [1] 孙丽娜,马欣雨,刘克斌,等. 秸秆的微生物处理处置及强化技术研究进展[J]. 沈阳大学学报(自然科学版),2018,30(3):188-195.
(SUN Lina, MA Xinyu, LIU Kebin, et al. A review on research advances on microbial treatment and strengthening techniques of crop

- straw [J]. Journal of Shenyang university (natural science), 2018, 30(3):188-195.)
- [2] 刘先才, 平英华, 韩柏和, 等. 秸秆综合利用技术装备发展中存在的问题及对策[J]. 安徽农学通报, 2019, 25(增刊1):105-108.
(LIU Xiancai, PING Yinghua, HAN Baihe, et al. Problems and countermeasures in the development of straw comprehensive utilization technology and equipment [J]. Anhui agronomy science bulletin, 2019, 25(S1):105-108.)
- [3] WYK J. Biotechnology and the utilization of biowaste as a resource for bioproduct development [J]. Trends in biotechnology, 2001, 19(5):172-177.
- [4] SOARES F L, MELO I S, DIAS A F, et al. Cellulolytic bacteria from soils in harsh environments [J]. World journal of microbiology & biotechnology, 2012, 28(5):2195-2203.
- [5] MARJAMAA K, TOTH K, BROMANN P A, et al. Novel penicillium cellulases for total hydrolysis of lignocellulosics [J]. Enzyme and microbial technology, 2013, 52(6):358-369.
- [6] 高云航, 张喜宏, 王巍, 等. 牛粪中纤维素分解菌的分离鉴定及其产酶条件优化研究[J]. 中国畜牧兽医, 2014, 41(3):151-156.
(GAO Yunhang, ZHANG Xihong, WANG Wei, et al. Study on isolation, identification and enzyme-producing conditions optimized of cellulolytic bacteria in ox drug [J]. China animal husbandry & veterinary medicine, 2014, 41(3):151-156.)
- [7] 高兆明. 红树林纤维素降解菌和菌群及其相关酶类的研究[D]. 济南: 山东大学, 2011.
(GAO Zhaoming. Research on cellulolytic microorganisms, microbial consortia and relative cellulases in mangrove ecosystems [D]. Ji'nan: Shandong University, 2011.)
- [8] 李君君. 高效降解茶粕纤维素菌株的筛选[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2010.
(LI Junjun. Screening of fungi for efficient degradation of cellulose in oil-tea-cake [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2010.)
- [9] 鲁雄. 热稳定纤维素酶产生菌(群)筛选鉴定及酶活性质研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2012.
(LU Xiong. Screening and identification of thermostable cellulose-degrading bacteria consortium and studies on its enzymes activity [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2012.)
- [10] 王岩. 低温发酵菌群筛选及其特效研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
(WANG Yan. Effects of low-temperature fermentation flora screening and research [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2014.)
- [11] 单德鑫, 王岩, 张颖. 低温菌群筛选及对温度的影响[J]. 东北农业大学学报, 2015, 46(6):40-46.
(SHAN Dexin, WANG Yan, ZHANG Ying. Screening of low temperature fermentation bacteria and effect of temperature [J]. Journal of northeast agricultural university, 2015, 46(6):40-46.)
- [12] 景如贤, 张志宇, 贾培, 等. 纤维素降解菌株 D2 的分离鉴定及其产酶影响因素的研究[J]. 河南大学学报(自然科学版), 2020, 50(6):675-683.
(JING Ruxian, ZHANG Zhiyu, JIA Pei, et al. Isolation and identification of cellulosedegrading strain bacillus sp. D2 and its influencing factors on enzyme production [J]. Journal of Henan university(natural science), 2020, 50(6):675-683.)
- [13] 魏炜, 孙船洋, 潘俊, 等. 响应曲面法对玉米秸秆稀酸水解还原糖条件的优化[J]. 沈阳建筑大学学报(自然科学版), 2019, 35(6):1136-1142.
(WEI Wei, SUN Boyang, PAN Jun, et al. Optimization of corn straw cellulose dilute acid hydrolytic into reducing sugar by response surface methodology [J]. Journal of Shenyang jianzhu university (natural science), 2019, 35(6):1136-1142.)
- [14] 张必周, 高聚林, 于晓芳, 等. 玉米秸秆低温降解菌的分离与鉴定及复配菌降解效果研究[J]. 玉米科学, 2020, 28(6):168-175.
(ZHANG Bizhou, GAO Julin, YU Xiaofang, et al. Isolation and identification of corn stover decomposing microbe under low temperature and the decomposing effect of microbial consortium [J]. Journal of maize sciences, 2020, 28(6):168-175.)
- [15] 廖咏梅, 王佳婧. 纤维素分解菌的分离与筛选[J]. 西华师范大学学报(自然科学版), 2013, 34(3):241-245.
(LIAO Yongmei, WANG Jiajing. Isolation and screening of cellulose-decomposing microorganisms [J]. Journal of China west normal university (natural sciences), 2013, 34(3):241-245.)
- [16] 刘最, 何丽芳, 陈晓华, 等. 纤维素降解菌的筛选、酶活及对稻草秸秆的降解研究[J]. 纤维素科学与技术, 2018, 26(2):46-52.
(LIU Zui, HE Lifang, CHEN Xiaohua, et al. Study on screening cellulose-degrading fungi and its enzyme activity and the effect on the degradation of rice straw [J]. Journal of cellulose science and technology, 2018, 26(2):46-52.)
- [17] 包衍, 王晓辉, 张伟琼, 等. 纤维素分解菌的选育及酶活测定[J]. 生物学杂志, 2007, 24(2):56-58.
(BAO Kan, WANG Xiaohui, ZHANG Weiqiong, et al. Screening of cellulolytic microbes and determination of cellulase activity [J]. Journal of biology, 2007, 24(2):56-58.)

(责任编辑:王国业 英文审校:唐玉兰)