耐高温木质素降解菌筛选及降解效果研究

郭玲玲[1]，江志阳[2*]，陶姝宇[3]，于　淼[1]，朱晓琳[4]，陈丽媛[1]
（1. 辽宁省微生物科学研究院，辽宁 朝阳　122000；2. 中国科学院 沈阳应用生态研究所，辽宁 沈阳　110016；
3. 辽宁省农业发展服务中心，辽宁 沈阳　110032；4. 辽宁恒润农业有限公司，辽宁 鞍山　114000）

摘　要　为提高育苗基质中废弃物木质素降解速率，在废弃物堆腐生产育苗基质高温阶段取样，筛选耐高温木质素降解菌，并对菌种进行鉴定，同时测定其对秸秆木质素和菌糠木质素的降解效果。获得了1株较好的木质素高温降解菌HZ11，鉴定为解淀粉芽胞杆菌（*Bacillus amyloliquefaciens*），结果显示，该菌株对秸秆木质素和菌糠木质素降解效果较好，50 ℃条件下，20 d木质素降解率分别为46.7%和42.4%。菌株HZ11在降解秸秆和菌糠方面具有很好的应用潜力，为利用农业废弃物生产育苗基质提供更加丰富的菌种资源，具有重要的参考价值。

关键词　解淀粉芽胞杆菌；耐高温；木质素；降解效果；菌种鉴定
中图分类号　Q939.96　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　1005－7021(2022)04－0064－06
doi:10.3969/j.issn.1005－7021.2022.04.008

Screening and Degradation Effect of High Temperature Resistant Lignin Degradable Bacteria

GUO Ling-ling[1], JIANG Zhi-yang[2*], TAO Shu-yu[3], YU Miao[1], ZHU Xiao-lin[4], CHEN Li-yuan[1]
(1. *Liaoning Acad. of Microbiol. Chaoyang* 122000; 2. *Shenyang Inst. of Appl. Ecol.*, *China Acad. of Sci.*, *Shenyang* 110016;
3. *Liaoning Prov. Agric. Devel. Serv. Ctr.*, *Shenyang* 110032; 4. *Liaoning Hengrun Agric. Co. LTD*, *Anshan* 114000)

Abstract　The aim of this study was to screen high temperature resistant lignin degradable bacteria. In this study, the agricultural biomass waste in seedling substrate was used as raw material to screen and identify the lignin degradable strains, and the degradation effects of the strains on straw lignin and bran lignin were measured. The results showed that a good lignin degradable strain HZ11 was obtained and identified as *Bacillus amyloliquefaciens*. It had a good degradation effect on straw lignin and bran lignin, and the lignin degradation rates were 46.7% and 42.4% within 20 d. Strain HZ11 has a good application potential, and it is worthy of further research in the future, so as to provide more abundant strain resources and theoretical basis for the resource utilization of agricultural waste.

Keywords　*Bacillus amyloliquefaciens*; high temperature resistant; lignin; degradation effect; strain seed identification

木质素是一种天然有机高分子聚合物，广泛存在于高等植物细胞壁中，具有溶解性差、难以被酸水解等特点，主要因其分子结构和化学性质较为复杂，含多种稳定的复杂键型，却不含易水解而重复的单元[1]。同时，木质素在细胞壁中对纤维素等起到保护作用，木质素的降解和半纤维素、纤维素的降解有着密切关联[2-3]。菌糠和秸秆中的木质纤维素含量高却降解困难，成为此类农业废

基金项目：辽宁省凌源市食用菌科技特派团项目(2021JH5/10400065)；辽宁省凌源市食用菌乡村振兴科技特派团项目(2021JH5/10400098)；辽宁省科技重大专项(2020JH1/10300006)；吉林省与中科院专项资金项目(2020SYHZ0044)；国家重点研发计划项目(2019YFD1100504)
作者简介：郭玲玲　女，副研究员，硕士。主要从事农业微生物研究与应用。E-mail：lnwsw2013@163.com
* 通讯作者。男，高级工程师，硕士。主要从事农业资源利用。E-mail：jiangzhiyang@iae.ac.cn
收稿日期：2022-08-16

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

弃物有效开发利用的主要限制因素。因此,关于降解木质素的微生物相关研究逐渐成为关注热点。目前木质素降解菌的研究多集中于中低温菌,但在菌糠和秸秆等农业废弃物高温堆肥等特殊环境中此类菌株容易失活,其木质素降解效果随之受到很大影响[4]。因此,筛选高温耐受性高效木质素降解菌具有重要意义。自然界中木质素的降解主要依靠微生物完成,其中真菌研究最多,主要有原孢厚毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium Burdsall*)、白腐真菌、褐腐真菌、毛革盖菌(*Stereum hirsutum*(willd:Fr. S. F. Gray))、东方栓菌(*Trametes orientalis*(Yasuda)lmaz.)等[5-10]。但大多木质素降解真菌的研究仅停留在试验阶段,能够应用于生产的菌株实际效果都不够理想。与真菌相比,细菌生长迅速、适应性强、来源广泛、资源利用效率高,将细菌应用于木质素降解领域的研究值得深入探讨。本研究从育苗基质中筛选到了一株耐高温木质素降解菌,结合菌株形态、生理生化及分子测定结果,筛选菌株 HZ11 为解淀粉芽胞杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*),并对其进行了秸秆木质素和菌糠木质素降解效果的研究,降解率分别达到46.7%和 42.4%。本研究对于补充木质素降解菌种资源库、丰富解淀粉芽胞杆菌特性研究数据以及农业废弃物资源化有效利用具有重要的参考意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试样品 菌种筛选用样品粉采自辽宁土木启生物科技有限公司,在菌糠、秸秆、牛粪等堆腐生产育苗基质堆高温阶段采集样品粉,放入灭菌袋中带回实验室;玉米秸秆采自辽宁省凌源市三道河子金茂农业有限公司种植基地,用清水洗净玉米秸秆,65 ℃烘干后粉碎过 40 目筛,得秸秆粉,121 ℃灭菌 30 min 后,密封保存备用。

1.1.2 培养基 ①富集培养基:$MgSO_4$ 0.2 g,Na_2HPO_4 1.5 g,$(NH_4)_2SO_4$ 2.0 g,$CaCl_2$ 2.0 g,KH_2PO_4 1.5 g,玉米秸秆粉 10.0 g,蒸馏水定容至 1 L,pH 自然。②初筛固体培养基:碱性木素 2.0 g,$MgSO_4$ 0.5 g,Na_2HPO_4 0.2 g,KH_2PO_4 1.0 g,NH_4NO_3 1.33 g,琼脂 20 g,蒸馏水定容至 1 L。③NA 培养基:蛋白胨 10.0 g,牛肉膏 5.0 g,NaCl 5.0 g,琼脂 20.0 g,蒸馏水定容至 1 L,pH 7.2 ~ 7.4。④LB 液体培养基:酵母浸膏 5.0 g,牛肉浸膏 5.0 g,鱼粉蛋白胨 10.0 g,NaCl 5.0 g,蒸馏水定容至 1 L,pH 7.0 ~ 7.2。⑤LB 固体培养基:液体培养基加入琼脂粉 18.0 g。⑥苯胺蓝培养基:100 mL 固体 LB 培养基中加苯胺蓝 0.1 g。⑦复筛液体培养基:大豆蛋白胨 20.0 g,玉米粉 20.0 g,$CaCl_2$ 0.2 g,$MgSO_4$ 0.3 g,Na_2HPO_4 2.0 g,NaH_2PO_4 1.0 g,蒸馏水定容至 1 L,pH 7.0。⑧无机盐溶液:$(NH_4)_2SO_4$ 3 g,NaCl 0.5 g,KH_2PO_4 1 g,$MgSO_4$ 0.5 g,$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01 g,$CaCl_2$ 0.3 g,$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.015 g,$MnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.015 g,$CoCl_2$ 0.01 g,蒸馏水定容至 1 L。⑨秸秆固态发酵培养基:将无机盐溶液 6 mL 加入到 250 mL 三角瓶中,称取 2.0 g 秸秆粉加入装有上述溶液的三角瓶中。⑩菌糠固态发酵培养基:称取过 40 目筛的菌糠粉 2.0 g,其他条件同秸秆固态发酵培养基制作过程。

1.1.3 主要试剂与仪器设备 藜芦醇、硫酸锰、硫酸镁、氯化钠、苯胺蓝、氯化钙(分析纯)。超净工作台(VS-1300L-U,苏州安泰);紫外可见分光光度计(T6 新悦,北京普析通用仪器有限责任公司);恒温摇床(SPH2102,上海世平);高压灭菌锅(LD2F-75L,上海申安);高速离心机(Hico21,上海生工);电热鼓风干燥箱(101-2BS,天津宏诺);马弗炉(上海唐河实业发展有限公司);电子天平(ME104E,上海梅特勒-托利多);生化培养箱(SPX-450,北京中仪国科)。

1.2 方法

1.2.1 耐高温木质素降解菌的富集 称取实验室保存的菌种筛选用样品粉 10 g 于锥形瓶中,加入 100 mL 富集培养基溶液,100 r/min、35 ℃培养 6 d。

1.2.2 木质素降解菌的初筛 用移液枪吸取 1 mL 锥形瓶中的上清液于 9 mL 无菌水试管中,充分摇匀后获得 10^{-1}稀释液,按上述方法制得 10^{-2} ~ 10^{-7}稀释液。吸取 10^{-3} ~ 10^{-7}稀释液各 100 μL 涂布于以碱性木素为唯一碳源的初筛固体培养基平板上,每一稀释梯度 3 次重复,35 ℃恒温培养 3 d。在相同条件下,分别挑取不同的菌落划线培养,做 3 组平行试验,直至菌落形态一致完成菌株纯化,4 ℃条件下 LB 试管培养基内保存待用。

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2.3 木质素降解菌的复筛 ①脱色圈试验方法:初筛菌种接种到苯胺蓝培养基,35 ℃避光培养5 d,测定蓝色培养基中菌落的脱色圈大小。②菌种活化和粗酶液提取:将纯化保存待用菌株扩培,35 ℃、NA 培养基活化菌株 24 h,活化菌株接种至复筛液体培养基,35 ℃培养 48 h 后,4 ℃、5 000 r/min 离心 8 min,吸取上清液为粗酶液。③木质素过氧化物酶活力测定:采用藜芦醇法。加入 1.0 mL 125 mmol/L、pH 3.0 的酒石酸钠缓冲液,0.2 mL 10 mmol/L 藜芦醇,加入 500 μL 粗酶液,再加入 500 μL 2 mmol/L 的 H_2O_2 溶液启动,30 ℃水浴 3 min,310 nm 处测定吸光度值。以每分钟每毫升粗酶液降低 0.1 个 *OD* 值表示一个酶活力单位。④锰过氧化物酶活力测定:采用 $MnSO_4$ 法。加入 3.4 mL 50 mmol/L、pH 4.5 的乳酸钠缓冲液,0.1 mL 1.6 mmol/L 的 $MnSO_4$ 溶液,加入 0.4 mL 粗酶液,再加入 0.1 mL 1.6 mmol/L 的 H_2O_2 溶液启动,37 ℃水浴 3 min,240 nm 处测定吸光度,每分钟吸光值增加 0.1 的酶量表示一个酶活力单位。

1.2.4 菌株分类鉴定 ①菌落和菌体形态观察:观察 NA 培养基上单菌落的光泽度、透明度、颜色、大小、形态、隆起形状、边缘特征等,挑取单菌落进行革兰染色后,置于光学显微镜下观察菌体形态。②生理生化特性测定:分别对菌株进行硝酸盐还原、甲基红、吲哚试验、脲酶试验、淀粉水解、明胶液化、过氧化氢酶、纤维素分解、葡萄糖发酵、甘露醇发酵等试验,并试验菌膜形成和固氮能力,每个处理 3 次重复。形态学特征和生理生化特性测定参照《伯杰细菌鉴定手册》(第 8 版)、《常见细菌系统鉴定手册》进行[11-12]。③分子鉴定:采用 DNA 提取试剂盒提取菌株的 DNA,采用琼脂糖凝胶电泳法分析 DNA 的纯度。以菌株基因组为模板,选取 16S rDNA 扩增的通用引物进行 PCR 扩增,PCR 反应体系(25 μL):2 × San *Taq* PCR Mix 12.5 μL,27F (25 μmol/L) 1 μL,1492R (50 μmol/L) 1 μL,DNA 模板(10 mmol/L) 1 μL,ddH_2O 9.5 μL。PCR 反应条件:预变性 95 ℃ 5 min;变性 95 ℃ 30 s,退火 55 ℃ 30 s,延伸 72 ℃ 2 min,循环 35 次;终延伸 72 ℃ 10 min。扩增及测序工作均由宝生物工程有限公司完成。将测得的序列在 NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)数据库中进行 BLAST 序列比对,并与已报道细菌菌株的 16S rDNA 序列同源性比较,并构建分析菌株系统发育进化树。

1.2.5 菌株木质素降解效果验证 取 1 支已培养好的菌种斜面,加入无菌水 5 mL,轻轻刮下琼脂表面菌体,将该菌体制成悬浮液并置于已灭菌预先放置玻璃珠的 50 mL 三角瓶中,充分振摇,用无菌水调整菌体浓度,最终菌体活菌数达到 10^7 cfu/mL。分别吸取上述悬浮液 1 mL 接种到秸秆固态发酵培养基、菌糠固态发酵培养基中,以不接菌种为对照,每个处理 3 次重复,50 ℃培养 20 d,65 ℃烘干至恒重,分别计算木质素降解率。木质素含量测定:将干净的坩埚放入马弗炉中,(575 ± 25) ℃灼烧至少 4 h。灼烧结束后,冷却称重。相同条件再次灼烧 1 h 后冷却称重。重复操作直至坩埚质量差前后两次小于 0.3 mg,记录此时坩埚的重量为 M_1。称量 300 mg 烘干的检测样品粉加入到锥形瓶中,再加入 72% 的硫酸溶液 3 mL 混匀,30 ℃水浴 60 min,期间缓慢搅拌,5 min 一次。水浴结束后,向瓶内加入去离子水并缓慢摇匀,使硫酸的浓度为 4%。密封锥形瓶后 121 ℃湿热灭菌 1 h。将冷却后锥形瓶中的液体倒入坩埚中真空抽滤,滤液备用。坩埚内剩余固体物质用去离子水冲洗,坩埚和固体物质 80 ℃烘干 5 h 后冷却称重。重复操作直至坩埚质量差前后两次小于 0.3 mg,记录坩埚和残留物重量为 M_2。将坩埚和固体物质放入马弗炉灼烧 30 h,冷却后称量坩埚与里面灰分的重量为 M_3。酸不溶木质素(%) = $((M_1 - M_2)/M) \times 100\%$,灰分(%) = $((M_3 - M_1)/M) \times 100\%$。式中,M:检测样品粉的重量(mg);$M_1$:坩埚的重量(mg);$M_2$:坩埚和残留物的重量(mg);$M_3$:坩埚和灰分的重量(mg)。酸溶木质素(%) = $((A \times B \times D)/(\varepsilon \times d \times M)) \times 100\%$。式中,A:吸光度;B:水解液;D:用 4% 的硫酸溶液稀释两倍(D = 2);ε:320 nm 下检测样品粉的吸收系数(ε = 30 mL/mg · cm);d:紫外可见分光光度计吸收池光程长(d = 1 cm)。木质素降解率(%) = $((C1 - C2)/C1) \times 100\%$。式中,C1 为对照木质素质量;C2 为加菌体悬液木质素质量。

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 结果与分析

2.1 耐高温木质素降解菌筛选结果

从样品粉中初筛得到木质素降解菌 20 株,通过对苯胺蓝脱色圈观察,选取其中褪色效果明显的菌种 6 株,测定其上清液木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶活力,结果表明,菌株 HZ11 脱色圈直径达 30.5 mm,木质素过氧化物酶和锰过氧化物酶活力分别达到 90.62 和 50.88 U/mL,酶活力明显高于其他菌株,作为接下来进行研究的优势菌种。

表 1　不同菌株脱色圈直径比较表

Table 1　Comparison of transparent ring diameters of different strain

菌株	脱色圈直径/mm
HZ03	24.4 ±0.5
HZ05	29.1 ±0.5
HZ08	27.5 ±0.9
HZ11	30.5 ±0.9
HZ16	25.9 ±1.5
HZ18	28.0 ±0.8

表 2　不同菌株木质素降解酶活力检测结果

Table 2　Detection results of lignin degradable enzymes capacity of different strains

菌种	藜芦醇酶活力/($U \cdot mL^{-1}$)	$MnSO_4$ 酶活力/($U \cdot mL^{-1}$)
HZ03	39.45 ±7.23	48.63 ±2.96
HZ05	78.29 ±3.67	50.10 ±4.05
HZ08	60.24 ±7.49	32.62 ±2.79
HZ11	90.62 ±3.66	50.88 ±4.18
HZ16	41.27 ±6.28	36.62 ±2.88
HZ18	85.55 ±4.38	49.09 ±3.98

2.2 菌株 HZ11 鉴定

2.2.1　菌株 HZ11 的形态学及生理生化特征　图 1、图 2 所示菌落和菌体细胞形态,菌株 HZ11 在 NA 培养基上的菌落特征:雪花状、纯白色、无光泽、不透明、表面干燥、有大量褶皱、外缘不规则。显微镜下革兰染色观察阳性、菌体较小、呈杆状,有芽胞。菌株 HZ11 生理生化特征检测结果如表 3 所示。

2.2.2　16S rDNA 序列测定分析与系统发育进化树构建　登陆 NCBI 网站,将测出的序列通过 16S rDNA 序列同源性比较,进行 BLAST 在线分析。菌株 HZ11(编号 JZ18562)与解淀粉芽胞杆菌的 16S rDNA 序列同源性达到 100%。从 GenBank 中选择序列相似菌株,应用 Bioedit 7.0 和 Mega 软件进行多重比较后构建系统发育树(图 3),鉴定菌株 HZ11 为解淀粉芽胞杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)。

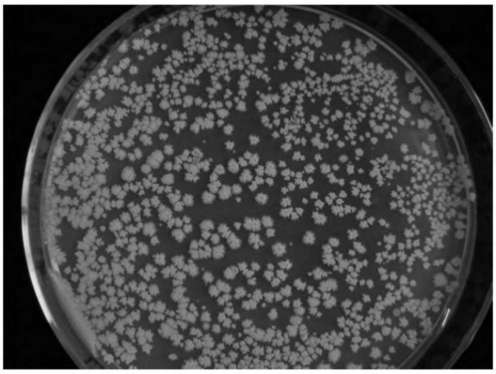

图 1　菌株 HZ11 菌落形态

Fig. 1　Colony morphology of strain HZ11

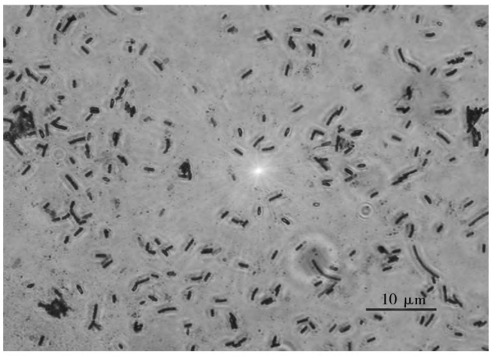

图 2　菌株 HZ11 细胞形态

Fig. 2　Cell morphology of strain HZ11

表 3　菌株 HZ11 的生理生化特征

Table 3　Physiological and biochemical characteristics of strain HZ11

生化试验	结果	生化试验	结果
V-P	+	柠檬酸盐	+
吲哚	−	甲基红	−
菌膜形成	+	脲酶	+
固氮能力	+	明胶液化	+
过氧化氢酶	+	纤维素分解	+
葡萄糖发酵	+	还原硝酸盐	+
甘露醇发酵	+	淀粉水解	+

注:“ + ”表示阳性,“ − ”表示阴性

2.2.3　菌株 HZ11 木质素降解能力测试结果　分别将菌株 HZ11 加入到秸秆固态发酵培养基和菌糠固态发酵培养基,50 ℃培养 20 d,以未接菌的

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

秸秆和菌糠为对照,测试菌株对秸秆和菌糠木质素的降解效果。表4结果表明,加入菌株 HZ11 的秸秆和菌糠培养基质木质素质量明显降低,与对照组比较差异达显著水平;玉米秸秆木质素降解率46.7%,菌糠木质素降解率42.4%,表明菌株 HZ11 对秸秆和菌糠木质素均有较好的降解作用。

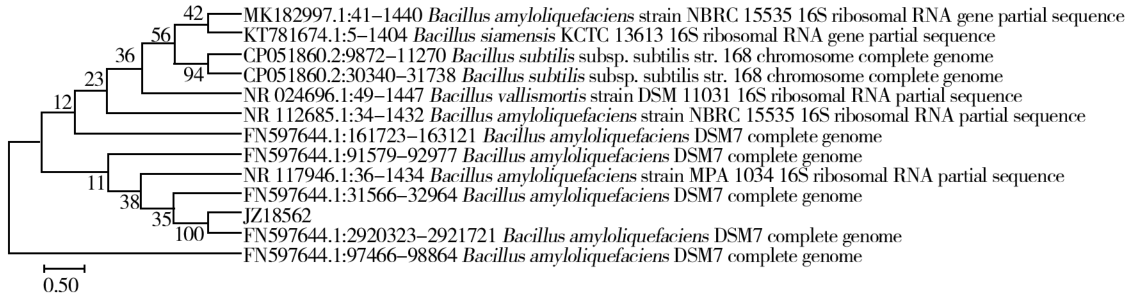

图3 菌株 HZ11 的16S rDNA 系统发育进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of 16S rDNA of strain HZ11

表4 菌株 HZ11 对秸秆和菌糠木质素的降解效果

Table 4 Degradation effect of strain HZ11 on straw and mushroom substrate

处理	秸秆		菌糠	
	木质素/mg	降解率/%	木质素/mg	降解率/%
接种HZ11	162.3 ± 15.2^{Bb}	46.7	93.9 ± 16.2^{Bb}	42.4
CK	300.5 ± 20.0^{Aa}	–	220.7 ± 14.6^{Aa}	–

注:同一列不同小写字母表示差异显著水平达到5%,同列不同大写字母表示差异显著水平达到1%,"–"代表无降解率

3 讨 论

近年来,利用微生物降解木质素成为高效利用生物质资源的研究热点,细菌中的芽胞杆菌(*Bacillus cohn*)具有定殖率高、容易培养、抗逆性强等优势,同时芽胞杆菌因生产工艺简单、产品稳定、存储期长、使用方便、安全环保,实现产业化的潜力巨大,更具实际应用价值而倍受学者们关注。研究发现部分细菌通过代谢降解、改变结构、矿化产生 CO_2 等作用降解木质素[13-17]。王毅等[18]研究发现了一株枯草芽胞杆菌能够降解木质素;王纳贤等[19]筛选出的一株淀粉芽胞杆菌经发酵培养后木质素降解率能够达到35%以上。本研究分离筛选到能高效降解木质素的菌株 HZ11 为解淀粉芽胞杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*),此结果与上述研究均印证了芽胞杆菌有望成为应用于工业化生产的木质素高效降解优良菌种研究的重要方向。

韩月颖[20]筛选的嗜麦芽窄食单胞菌 LS-1,经过20 d 发酵后,木质素降解率达36.14%;张芳芳等[21]测定亚黑管孔菌 ZT-307 和桦栓孔菌 ZT-153 对玉米秸秆酸不溶木质素降解效率分别为13.60%和21.87%;戚业强[22]研究了优势菌株 *W. dispersa* DY5 在玉米秸秆固体发酵60 d 后木质素降解率为34%;宋丽丽等[23]得出硬毛粗盖孔菌(*Funalia trogii*(Berk.) Bondartsev & Singer)预处理玉米秸秆的木质素降解率为33.99%。本研究接种菌株 HZ11 的秸秆和菌糠培养基试验结果表明,发酵20 d 后,秸秆和菌糠木质素降解率分别达到46.7%和42.4%,木质素降解效果明显高于上述研究。与未接种菌株的对照组相比较,加入菌株 HZ11 的培养基试验组木质素含量降低均达到显著水平。同时,菌株 HZ11 不仅能够高效降解木质素,还能够耐受50 ℃的高温。可见,菌株 HZ11 无论是在秸秆、菌糠等农业废弃物高温环境下好氧堆肥、生物饲料发酵等处理,还是在促进生物质资源高效利用等方面都具有潜在的应用价值。

参考文献:

[1] 苏正川,熊仁科,罗小艳,等.解淀粉芽孢杆菌的作用及其产品开发[J].农药科学与管理, 2019,40(6):21-30.

[2] Wu K,Fang Z,Guo R,et al. Pectin enhances bio-control efficacy by inducing colonization and secre-tion of secondary metabolites by *Bacillus amyloliquefa*-ciens SQY 162 in the rhizosphere of tobacco[J]. PloS one,2015,10(5): e0127418.

[3] 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.

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[4] 晋果果,翁海波,李萍萍,等.高温木质素降解菌 *Geobacillus caldoxylosilyticus* J16 的筛选及其产酶发酵性质研究[J].中国农学通报,2011,27(8):334-339.

[5] 张力,邵喜霞,韩大勇.白腐真菌木质素降解酶系研究进展[J].吉林畜牧兽医,2009,51(30):9-12.

[6] 孙正茂,肖克宇.真菌木质素降解酶系的研究进展[J].广东饲料,2006,15(2):41-43.

[7] 吴坤.木质素生物降解研究进展[J].河南农业大学学报,2000,34(34):349-354.

[8] 邓勋,宋瑞清,闵凯,等.高效选择性降解稻草木质素的菌株及其产酶特性的研究[J].吉林农业大学学报,2009,31(4):390-397.

[9] 黄慧,申源源,陈宏.黄孢原毛平革菌对玉米秸秆木质素的降解研究[J].西南大学学报(自然科学版),2011,33(7):93-96.

[10] 蒋荣清,袁兴中,曾光明,等.一组高效木质素降解复合菌的筛选[J].应用与环境生物学报,2010,16(2):247-251.

[11] 布坎南 RE,吉本斯 NE.伯杰细菌鉴定手册(第 8 版)[M].中国科学院微生物研究所《伯杰系统鉴定手册》编译组译.北京:科学出版社,1984.

[12] 东秀珠,蔡妙英.常见细菌系统鉴定手册[M].北京:科学出版社,2001:62-63.

[13] Kirk TK, Schultz El, Conmnors WJ, et al. Influence of culture parameters on lignin metabolism by *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Archives of Microbiology, 1978, 117: 277-285.

[14] Carol AC. Bacterial associations with decaying wood: a review [J]. Interational Biodetertoration & Biodegradation, 1996, 37(1): 101-107.

[15] Tuomela M, Vikman M, Hatakka A, et al. Biodegradation of lignin in a compost environment: areview [J]. Bioresource Technology, 2000, 72(2): 169-183.

[16] 高尚,陈诚,陶芳,等.白腐真菌产木质素降解酶及固定化载体研究[J].华东师范大学学报(自然科学版), 2009(2): 72- 77.

[17] 王玉万,徐文玉.木质纤维素基质发酵物中半纤维素、纤维素和木质素的定量分析程序[J].微生物学通报, 1987, 13(2): 82-84.

[18] 王毅,刘云国,习兴梅,等.枯草芽孢杆菌降解木质纤维能力及产酶研究[J].微生物学杂志, 2008, 28(4): 1-6.

[19] 王纳贤,郭晓军,李娜,等.产芽孢木质素降解菌株 N13 的分离鉴定[J]. 畜牧与饲料科学,2009, 30(9): 7-9.

[20] 韩月颖.低温木质素降解菌的筛选、代谢产物分析及秸秆降解效果评价[D].长春:吉林农业大学,2021.

[21] 张芳芳,张桐,戴丹,等.高效木质素降解菌的筛选及其对玉米秸秆的降解效果[J].菌物学报, 2021, 40(7): 1869-1880.

[22] 戚业强.木质素降解菌株的筛选及其降解秸秆木质素的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2021.

[23] 宋丽丽,魏涛,张静涛,等.硬毛粗盖孔菌预处理对玉米秸秆酶水解及组分变化的影响[J].中国酿造,2017,36(2):106-110.

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net