

低温秸秆降解复合微生物菌剂的研究进展

高星爱 王鑫 解娇 王飞虎 巩彧玄 关法春 李忠和

(吉林省农业科学院农村能源与生态研究所, 长春 130033)

摘要: 我国东北地区冬季寒冷, 秸秆产量巨大, 但综合利用率较低, 利用高酶活性微生物将低温环境中的秸秆降解变废为宝, 是一项循环利用的有效途径。研究表明, 通过生物学技术手段, 筛选高酶活性菌株, 深入研究降解机理, 优化功能微生物培养条件, 提高纤维素酶活性, 是提高降解率, 秸秆资源化利用的最佳途径。复合微生物菌剂产生的酶活值普遍高于单一微生物菌, 真菌菌丝体产生的酶活值高于细菌。实际应用中, 选择适合的复合菌剂是低温环境下提高秸秆降解效率的有效途径。系统地归纳了低温条件下降解秸秆的微生物技术、分析了不同条件下降解秸秆的菌株类型和促进秸秆纤维素降解菌酶活力特征、并总结了低温环境下生物菌剂降解秸秆的技术应用效果, 旨在低温环境下秸秆的资源化利用提供一定的技术参考。

关键词: 低温; 秸秆降解; 复合微生物菌剂; 应用技术

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2019-0888

Research Progress on Low Temperature Straw-degrading Compound Microbial Agent

GAO Xing-ai WANG Xin XIE Jiao WANG Fei-hu GONG Yu-xuan GUAN Fa-chun LI Zhong-he

(Institute of Rural Energy and Ecology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033)

Abstract: In northeast China, it is cold in winter and the straw yield is huge, but the comprehensive utilization rate is low. It is an effective way to recycle the straw by using microorganisms with high enzyme activity to degrade the straw in the low temperature environment. The results show that it is the best way to improve the rate of degradation and the utilization of straw resources via screening strains with high enzyme activity, further studying the degradation mechanism, optimizing the culture conditions of functional microorganisms and thus enhancing cellulase activity. The enzyme activity produced by the compound microbial agent is generally higher than that of single microorganism, and the enzyme activity produced by fungal mycelium is higher than that by bacteria. In practical application, choosing suitable compound bacterial agent is an effective way to improve the degradation efficiency of straw under low temperature environment. This paper systematically summarizes the microbial technology of straw degradation under low temperature condition, analyzes the strain types of degrading straw under different conditions understands the activity characteristics of bacteriological enzymes to promote straw cellulose degradation, sums up the application effects of biobacteriological agents on straw degradation under low temperature condition, aiming to provide some technical references for straw recycling in low temperature environment.

Key words: low temperature; straw degradation; compound microbial agent; application technology

我国东北冬季漫长, 秸秆资源量大, 但很难被利用, 大部分秸秆被焚烧处理, 不仅污染大气环境, 危害人体健康, 还造成资源浪费^[1]。秸秆是一种具

有多用途的可再生生物资源, 只要科学合理的综合利用, 就能变废为宝, 是发展循环农业和低碳农业的重要实现途径^[2]。

收稿日期: 2019-09-23

基金项目: 吉林省创新工程项目(CXGC2017ZY022), 吉林省科技厅重点项目(20190303062SF, 20180201017SF)

作者简介: 高星爱, 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 环境微生物; E-mail: gao3598@163.com

通讯作者: 李忠和, 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 废弃物循环利用; E-mail: lizhonghe6@126.com

近年来很多学者作了秸秆降解的研究工作，其中利用微生物处理技术降解秸秆是当前研究的热点^[3]。秸秆是由纤维素、半纤维素和木质素等3大类物质通过共价键、氢键和蜡键等多种分子作用力连接组成的不溶于水的高分子化合物。由于自然条件下秸秆纤维素的结晶度和聚合度较高、环绕紧密，因此非水溶性木质纤维素很难被水解、降解成小分子物质^[4-6]。微生物在秸秆降解中起着枢纽和关键作用^[7]，能够降解纤维素的微生物种类较多，细菌、放线菌、真菌乃至古菌种都具有分解秸秆能力^[8]，这些菌种具体分泌秸秆分解酶包括木质素过氧化物酶、漆酶，锰依赖过氧化物酶，纤维素酶，半纤维素酶等等降解酶类^[9]。利用纯菌株降解秸秆虽然具有高酶活力，但是由于秸秆组成成分的特殊性，很难被单一菌株降解，菌株对秸秆的降解效率不高^[10]。复合微生物菌剂可从结构上降低秸秆结晶度，加快秸秆降解速度，提高秸秆降解率。然而，受东北地区低温的影响，复合微生物菌剂在秸秆降解过程中代谢缓慢，导致其降解速度逐渐下降，最后微生物降低或失去活性，达不到预期秸秆降解的要求，因此有必要开展在低温条件下添加高酶活性秸秆降解复合微生物菌剂研究，旨在研究秸秆的资源化利用提供有效支持。

1 高酶活性秸秆降解微生物的研究

自然界中存在大量的纤维素降解微生物，主要包括细菌、真菌和放线菌。从20世纪40年代开始研究者们分离、筛选出降解秸秆的菌株。酶处理降解秸秆主要是利用多种纤维素水解酶类共同作用于秸秆，分解秸秆中有机质和纤维结构，使之转化为CO₂、水、矿物质及热量，最终提高秸秆中可溶性含糖量^[11-12]。由于对低温环境的要求不同，低温微生物可分为嗜冷微生物和耐冷微生物，其最高生长温度一般分别为20℃和40℃，最适生长温度分别为15和20℃左右^[13-14]。根据纤维素酶功能的不同，可参与秸秆降解纤维素酶分为外切葡聚糖酶（CBH，EC 3.3.1.91），内切葡聚糖酶（EG，EC 3.2.1.4），β-葡萄糖苷酶（BG，EC 3.2.1.21）等，这3种酶相互作用，形成有效降解纤维素的体系^[15-16]。

一般纤维素降解细菌产生的酶为内切纤维素酶，

内切酶存在与细胞内或吸附与细胞壁，需要通过细胞破碎技术，才能把纤维素酶分泌到培养液中^[17]，所以实际上的应用相对少一些。但是由于细菌细胞生长周期短、发酵快、秸秆降解菌株大部分为细菌，因此，高酶活性细菌普遍应用于秸秆降解。在低温条件下表现高酶活性的诸多细菌降解秸秆菌株中，枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）L-13在15℃下生长繁殖并分泌产纤维素酶^[18]，节杆菌属（*Arthrobacter* sp.）细菌FLX-1，在10.5℃温度条件下，产CMC酶活值为14.12 U/mL^[19]。尚晓瑛等^[20]分离、鉴定获得的假单胞菌属B6-15菌株，在最适生长温度为20℃条件下，表现出纤维素分解酶活为24.94 U/mL，且在10℃仍表现出生长良好趋势。刘建国等^[21]从土中分离得到低温产纤维素酶细菌，在20℃反应条件下，发酵4 d，纤维素酶活达到38.96 U/mL。

真菌菌丝体可以穿透秸秆表层结构，把难降解的木质素蜡质层破坏，产生的酶活力比细菌和放线菌高，具有强大的分解纤维素功能，因此，在秸秆降解中真菌起到主导性的作用^[22-24]。目前获得的真菌有草酸青霉（*Penicillium oxalicum*）、木霉（*Trichoderma*）和羊毛状青霉（*Penicillium lanosum*）等。利用突变的方法获得的绿色木霉（*Trichoderma viride*）CNY086菌株，在15℃条件下，在培养基中填加1.2%的秸秆粉时，低温纤维素酶活力达到108.55 U/mL^[25]。刘家豪等^[26]采用原生质体诱变技术，获得红侧耳菌株CM13，利用纯玉米秸秆粉培养基，其中测定漆酶、锰过氧化物酶、木聚糖酶和纤维素酶活力，分别达到121.23 U/L、144.11 U/L、793.38 U/L和238.92 U/L。草酸青霉（*Penicillium oxalicum*）M11，在20℃条件下，发酵培养9 d时，纤维素酶活力达到33.08 U/mL，在5-20℃间酶活力仍能保持90%以上^[27]。在15℃条件下，霉菌属的NLS-2，发酵7 d，其产纤维素酶的最佳培养条件为稻草粉2.5%^[28]。孟建宇等^[29]分离得到的属于γ-变形菌纲（γ-Proteobacteria）、硬壁菌门（*Firmicutes*）、放线菌门（*Actinobacteria*）、拟杆菌门（*Bacteroidetes*）以及β-变形菌纲（β-Proteobacteria）等可低温降解纤维素的55株菌株，在22℃条件下，纤维素酶活性均最高为58.09 U。李娜等^[30]分离的青霉菌属的低温秸秆纤维素降解菌C1，在18℃条件下，15 d内对秸

秆的降解率达 55.6%，滤纸酶活和 CMC 酶活分别为 18.4 U/mL 和 54.3 U/mL。赵旭等^[3]研究获得的青霉素 *Penicillium* sp. D5，在 15℃ 条件下，木聚糖酶活力达 52.7 U/mL，CMCase 酶活力达 31.5 U/mL，滤纸酶活力达 29.6 U/mL。

许多学者的研究结果表明，利用纯菌株，无法达到秸秆资源化的降解要求。利用不同微生物间的协同组合会加速纤维素分解，有效地提高对秸秆的降解能力^[31-35]。但是这些单一菌株通常只具有纤维素酶、半纤维素酶和木质素酶中的一种或两种，而复合菌株囊括以上 3 种酶，可充分利用酶的相互作用发挥三者综合效应^[36]。崔宗均等^[37]筛选获得纤维素降解复合微生物菌剂，其 72 h 反应后滤纸降解率达到 94%。王伟东等^[38]利用限制性培养技术，经过微生物间的协同作用，构建秸秆降解复合微生物菌群用于纤维素的快速分解糖化。邓兵等^[39]通过连续的限制性培养技术，得到一组高效纤维素分解复合菌系，对滤纸和玉米秸秆的降解率分别为 66.5% 和 66.1%，玉米秸秆中纤维素、半纤维素和木质素等 3 种成分的降解率分别为 17.0%、85.1% 和 34.4%。顾文杰等^[40]通过拮抗实验，以哥斯达黎加链霉菌 (*Streptomyces costaricanus*)、亮白曲霉 (*Aspergillus candidus*) 和黄蓝状菌 (*Tarlaromyces flavus*) 等菌属构建纤维素降解复合菌剂，半纤维素酶活力高达 299.0 U/mL。张仲卿等^[41]利用康宁木霉与黄孢原毛平革菌混合发酵玉米秸秆的效果显著优于单菌发酵，混合真菌降解玉米秸秆纤维素和木质素的最优发酵条件为：菌种比例 1.0 : 4.1，接种量 25.2%，营养液添加量 72.2%，发酵 11 d，纤维素和木质素降解率最高分别为 36.80% 和 28.87%。

在低温环境条件下，很多学者通过实验证实，复合微生物菌剂对秸秆的降解效果优于纯菌株，在构建低温秸秆降解复合菌剂方面，胡海红^[42-44]等研究的秸秆降解复合菌系 GF-S72，在 10℃ 条件下，经过 15 d 的培养，秸秆降解率可达到 25.6%。萨如拉等^[45]采用继代培养及低温驯化方法，筛选两种由木霉、青霉、梭菌属 (*Clostridium* sp.)、芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.) 和草螺菌属 (*Herbaspirillum* sp.) 菌组成的低温降解复合菌系，在 5℃ 培养 15 d，玉米秸秆降解率分别达到 32.21% 和 30.21%。微生物对木

质纤维素材料的降解会更直接反映其降解能力及实际应用潜力。青格尔等^[46-47]通过连续继代培养 40 代构建的 GF-20 复合菌系，使秸秆降解率达到 20% 以上。马志远等^[48]通过对不同功效芽孢杆菌间亲和性和协同性的测定，构建出具有生防与降解秸秆双功效的芽孢杆菌复合菌系。以上的诸多数据显示，秸秆降解过程是连续的复杂生物化学过程，有很多不同功能的微生物，通过协同作用参与此过程，促进玉米秸秆的分解，缺少哪一种都会影响生存共同体的生长繁殖。

2 秸秆降解微生物鉴定技术的研究

微生物进行自身生命活动和新陈代谢时，分泌降解酶、释放能量、同时合成细胞物质，把纤维素大分子转化为水溶性的单糖或双糖等小分子物质^[49]。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。因此，深入研究降解机理，提高纤维素酶活性，是提高降解率，秸秆资源化利用的最佳途径^[50]。

比较菌株之间的总纤维素酶活相对高低时，一般采用滤纸条崩解试验，以不溶性纤维素滤纸为底物，测定菌株分解纤维素的能力及其纤维素 3 类酶系组分的协同作用^[51-53]，同时利用操作简便的羧甲基纤维素酶活性（内切葡聚糖）测定法即 3,5 二硝基水杨酸比色法（DNS）测定纤维素样品酶解后产生的还原糖糖化能力^[54-56]，这些纤维素酶活测定方法为筛选高酶活纤维素菌株方面上提供了技术支持。

某些特定的功能菌，在培养基上添加不同诱导物及营养物质，配置适合的培养基进行培养，能观察菌株在培养基上表现出的不同变化^[57]。目前，普遍采用复筛纤维素降解菌的刚果红染色法^[58-60]，原理是纤维素分解菌种，利用水解后的多糖，同刚果红染料反应后呈现红色透明圈，以透明圈大小初步判断降解纤维素能力。若是培养基中含有两种或多种碳源，微生物会经历不同的生长曲线，出现一个短暂的停滞期之后又出现二次生长现象^[61]。微生物通常首先利用比较容易降解的碳源，然后利用较难降解的碳源，利用微生物的二次生长现象及培养基定性鉴别法，在培养基上添加秸秆粉，延长培养时间，达到富集降解秸秆菌株的效果^[62]。

观察秸秆被微生物降解前后, 秸秆表面形态和内部结构的变化时, 许多学者利用扫描电镜进行分析^[60, 63]。在鉴定菌株种属时候, 利用 16S rDNA、16S rRNA 序列分子生物学技术及结合菌株形态学的观察进行鉴定^[64-66]。但是, 自然界中不到 1% 的微生物才被传统微生物培养技术获得, 其余 99% 以上的微生物都是不可培养的微生物^[67]。因此, 随着生物技术的发展, 许多学者利用无需培养微生物的宏基因组文库构建技术, 寻找新功能基因, 对微生物样品快速检测并进行种类和丰度鉴定^[68]。有强大纤维素降解能力的复合微生物菌剂, 有利于解除纤维素水解产物的反馈抑制作用, 从而提高了纤维素降解效率。根据秸秆的性质和结构选取适宜的微生物菌种进行微生物菌剂处理秸秆利用研究^[12]。邓兵等^[39]通过高通量测序方法分析了复合菌系的微生物多样性发现, 秸秆降解菌属主要由 33.9% 假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、11.8% 拟杆菌属 (*Bacteroides*)、6.9% 食酸菌属 (*Acidovorax*)、3.8% 产碱杆菌属 (*Alcaligenes*) 和 1% 丁酸弧菌属 (*Butyrivibrio*) 等组成。宋志伟等^[12]采用高通量测序技术分析微生物群落结构对物料性能的影响结果表明, 不同菌剂处理后物料的优势细菌菌群为 Proteobacteria (变形菌门)、Actinobacteria (放线菌门)、Bacteroidetes (拟杆菌门)、Acidobacteria (酸杆菌门) 和 Chlorobacteria (绿弯菌门), 优势真菌菌群为 Ascomycota (子囊菌门)、Zygomycota (接合菌门)、Basidiomycota (担子菌门) 和 Unclassified-k-Fungi (未经分类的真菌) 等 9 种。王志方等^[69]采用高通量测序技术分析, 棉秸秆在堆制过程中存在的优势菌属有鞘氨醇杆菌属 (*Sphingobacterium*)、橄榄球菌属 (*Olivibacter*)、假黄单胞菌属 (*Pseudoxanthomonas*)、德沃斯氏菌属 (*Devosia*) 和根瘤菌属 (*Rhizobium*) 等 5 种。这些功能菌的测试为降解纤维素、木质素、果胶类物质提供了氮素营养。部分学者通过不同菌株间的协同作用, 分析了复合微生物菌系在降解纤维素过程中, 微生物群落组成、相对丰度变化及多样性演替规律。艾士奇等^[70]从牛粪堆肥高温期筛选获得的复合菌系, 在降解初期好氧菌在群落中处于数量优势地位, 厌氧菌次之; 从降解高峰期开始到降解末期, 厌氧菌、兼性菌逐渐成为优势菌, 占主导地位。在提高

纤维素降解效率的研究中, 由 *Unclassified bacillales*、*Bacillus*、*Petrimonas* 和 *Pusillimonas* 等菌种组成的复合菌系 F1 和 F2, 作为微生物群落结构的动态变化的重要物种^[71]。

从外界环境中通过分离、筛选获得秸秆降解高酶活性复合微生物菌系之后, 如何更好维持微生物分泌的纤维素酶活性成为秸秆降解过程的关键之处。在探索秸秆纤维素分解菌保存方法对比试验中, 李培培等^[72]比较了“直接冷冻干燥”和“秸秆吸附后冷冻干燥”两种方法的处理效果发现, “秸秆吸附后冷冻干燥”方法操作简洁、能耗低, 为有效的菌种保存方法。

3 低温菌剂处理在秸秆还田中的应用研究

秸秆中含有大量氮、磷、钾等营养元素和纤维物质, 秸秆还田增加土壤营养成分及有机质含量, 改善土壤结构, 是一种肥料资源^[1, 73]。利用秸秆分解菌剂能加快秸秆腐解速度, 丰富土壤微生物多样性, 增加农作物产量, 是秸秆资源化利用的有效方式^[2]。选择降解秸秆“三素”的微生物, 使微生物数量增多, 微生物降解木质素的产物, 可形成土壤腐殖质; 微生物降解纤维素产物的有机酸, 可作为土壤中固氮菌的碳源, 为纤维素分解菌的生长繁殖提供氮源^[74]。利用低温菌剂降解秸秆, 进行还田, 分析玉米田土壤微生物量和土壤酶活性的影响研究中, 赵伟等^[75]处理低温复合菌剂和低温生物表面活性剂后, 土壤细菌数量分别高于对照 (不施菌剂) 5.12% 和 3.72%, 其他处理均明显低于对照, 显著提高了土壤微生物数量、土壤酶活性及微生物碳、氮含量。

秸秆堆制生物有机肥, 需要微生物的驯化, 加快堆肥速度, 提高保氮能力, 使显著提高有机肥肥效。刘献东等^[76]结合微生物驯化菌酿制堆肥, 专用长效保湿专用肥生产线为主体工艺技术及祛除生物消解、异臭味气体的技术工艺, 完成了秸秆堆制成生物有机肥。谢宇新等^[77]利用低温复合发酵剂处理低温堆肥, 在室外 -20℃ 低温下, 牛粪接种优化组合菌剂后物料迅速升温, 48 h 达 55.8℃, 第 4 天达 64.9℃, 高温期维持 8-9 d, 发酵周期缩短至 15 d, 而未加菌和加常温发酵剂的对照则一直未进入高温

期。玉米秸秆与牛粪混合堆肥时, 秸秆吸附牛粪中的水分, 使之达到堆肥适宜含水率, 并且牛粪中 N 素能调节秸秆的 C/N。张书敏等^[78]研究表明, 在 8℃低温条件下, 接入低温复合菌系, 堆温在第 3 天为 53.4℃, 50℃以上持续了 6 d。在秸秆与畜禽粪便堆肥中, 低温纤维素分解复合菌剂起到快速发酵, 缩短发酵时间, 促进在低温条件下堆肥的起温及加速腐熟的作用。

研究表明, 不完全腐解秸秆归还到土壤, 会造成土壤与植物互相争氮素及加速植物病害的发生^[79], 因而选择适宜的纤维素降解菌作为腐解菌剂显得尤为重要。但在应用和研究过程中, 自然分离筛选的菌种, 存在处理效果不稳定、存活力低和优良性状代代丢失等问题, 部分优质高效菌种的研发缺少基础研究成果的指导, 导致效果达不到理想预期结果^[80]。分析不同菌剂处理后秸秆混合物料的理化性质、降解性能和微生物种群结构变化, 探讨不同菌剂对秸秆降解性能的影响, 对秸秆还田有重要意义^[12]。但是随着玉米秸秆的腐解, 易于分解的底物减少, 秸秆中剩下难分解的高分子化合物, 同时秸秆分解菌剂和土著微生物间竞争食物, 菌剂中的微生物活性会减弱。青格尔等^[81]获得的 3 种秸秆促进分解菌剂, 在 10℃条件下, 处理 15 d, 秸秆降解率分别比对照高 11.09%、1.93% 和 4.27%; 分解 60 d, 3 个处理分别比对照高 16.38%、6.6% 和 6.46%, 菌剂处理结果表明, 菌剂的分解效果均表现在早期。结合以上研究成果, 选择适合的复合菌剂、降解前良好的驯化是低温环境下提高秸秆降解效率的有效途径。

4 展望

利用微生物处理技术降解秸秆是当前研究的热点, 能解决秸秆产量大、秸秆焚烧污染环境等问题。分离、筛选高效秸秆降解微生物, 研究低成本培养基, 同时研究多种微生物协同作用的降解机理, 提高秸秆纤维素分解速度和秸秆综合利用率就成为了关键问题。鉴于此, 需进一步加强低温秸秆降解菌剂筛选和培养、同时加强对低温条件下嗜冷纤维素酶生化机理研究, 为低温环境下秸秆的微生物降解提供更加切实可行的理论依据和技术支持。

参考文献

- [1] 孟令洋, 冯桂真. 秸秆综合利用 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2011.
- [2] 梁文俊. 农作物秸秆综合利用技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2015.
- [3] 赵旭, 王文丽, 李娟. 玉米秸秆低温降解菌的分离筛选及鉴定 [J]. 土壤与作物, 2017, 6 (3): 192-198.
- [4] 吴坤, 张世敏, 朱显峰. 木质素生物降解研究进展 [J]. 河南农业大学学报, 2000, 34 (4): 349-354.
- [5] 刘甲峰. 水稻秸秆腐解复合菌系的筛选构建 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2010.
- [6] 张红莲, 张锐. 农作物秸秆饲料处理技术研究进展 [J]. 饲料与畜牧, 2004, 25 (3): 18-22.
- [7] 金海洋, 姚政, 徐四新, 等. 纤维素分解菌剂对水稻秸秆田间降解效果的研究 [J]. 上海农业学报, 2004, 20 (4): 83-85.
- [8] 曲音波. 木质纤维素降解酶与生物炼制 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2011.
- [9] 宋安东, 张百良, 吴坤, 等. 杂色云芝产木质纤维素酶及对稻草秸秆的降解 [J]. 过程工程学报, 2005, 5 (4): 414-419.
- [10] 张珊. 秸秆腐熟类微生物的筛选 [J]. 中山大学研究生学刊, 2012, 33 (1): 63-71.
- [11] 刘东, 张春玉, 阙君满, 等. 玉米秸秆生物降解研究进展 [J]. 科技风, 2018 (8): 197-198.
- [12] 宋志伟, 陈露露, 潘宇, 等. 3 种菌剂对水稻秸秆降解性能的影响 [J]. 生态环境学报, 2018, 27 (11): 2134-2141.
- [13] Cavicchioli R, Siddiqui KS, Andrews D. Low-temperature extremophiles and their applications [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2002, 13: 253-261.
- [14] 高星爱, 赵新颖, 凤鹏, 等. 分离筛选低温发酵功能菌及促进沼气产量的研究 [J]. 中国沼气, 2014, 32 (3): 14-17.
- [15] 王文明. 微生物降解秸秆原理简析 [J]. 南方农业, 2018, 12 (4): 38-40.
- [16] 潘知乐, 杨鸿, 时佳旭, 等. 纤维素降解菌的筛选鉴定及其特性研究概况 [J]. 环境科学与管理, 2019, 44 (4): 102-105.
- [17] 任红梅, 刘左军, 袁惠君, 等. 低温纤维素降解菌的筛选及其产酶研究 [J]. 食品工业科技, 2013, 34 (19): 127-130, 134.
- [18] 刘晓辉, 高晓梅, 桓明辉, 等. 产纤维素酶低温菌株的分离鉴定 [J]. 山东农业科学, 2014, 46 (3): 54-57.
- [19] 李春艳, 于琦, 冯露, 等. 低温纤维素降解菌分离鉴定及产酶条件优化 [J]. 东北农业大学学报, 2015, 46 (10): 74-81.

- [20] 尚晓瑛,程旭艳,获配书,等. 1株堆肥耐低温纤维素降解菌的筛选、鉴定及生长特性的初步研究[J]. 华中农业大学学报, 2012, 31(5): 558-562.
- [21] 刘建国,韩梅. 一株低温产纤维素酶细菌的筛选及其发酵产酶条件的优化[J]. 食品与发酵科技, 2014, 50(1): 38-41.
- [22] 薛林贵,杨蕊琪,马高高,等. 秸秆的生物降解机理及其功能微生物菌群研究进展[J]. 生态科学, 2017, 36(3): 193-199.
- [23] 赵旭,王文丽,李娟,等. 低温秸秆降解微生物菌剂的研究进展[J]. 生物技术通报, 2014(11): 55-61.
- [24] 王珊珊,金昱言,赵凯. 高效玉米秸秆降解复合菌系的筛选[J]. 黑龙江农业科学, 2016(4): 39-41.
- [25] 陈亮,迟乃玉,张庆芳. 低温纤维素酶菌株 CNY086 选育及发酵培养基优化(I)[J]. 微生物学通报, 2009, 36(10): 1547-1552.
- [26] 刘家豪,应立立,李桐冰,等. 一株高产木质纤维素酶红侧耳菌株的筛选及鉴定[J/OL]. 吉林农业大学学报. doi: org/10.13327/j. jilau. 2019. 5109.
- [27] 穆春雷,武晓森,李术娜,等. 低温产纤维素酶菌株的筛选、鉴定及纤维素酶学性质[J]. 微生物学通报, 2013, 40(7): 1193-1201.
- [28] 张梦君,邱晨浩,柴立伟,等. 高效降解纤维素低温真菌的筛选、鉴定及发酵优化[J/OL]. 微生物学通报. doi: org/10.13344/j. microbiol. china. 180910.
- [29] 孟建宇,李衡,樊兆阳,等. 低温纤维素降解菌的分离与鉴定[J]. 应用与环境生物学报, 2014, 20(1): 152-156.
- [30] 李娜,韩永武,金勋,等. 一株低温秸秆纤维素降解菌的分离、鉴定及降解特性[J]. 玉米科学, 2019, 27(1): 159-163.
- [31] 王伟东,崔宗均,王小芬,等. 快速木质纤维素分解菌复合系 MC1 对秸秆的分解能力及稳定性[J]. 环境科学, 2005, 26(5): 156-160.
- [32] 王伟东,王小芬,刘长莉,等. 木质纤维素分解菌复合系 WSC-6 分解稻秆过程中的产物及 pH 动态[J]. 环境科学, 2008, 29(1): 219-224.
- [33] 王慧,刘小平,郭鹏,等. 复合菌系 XDC-2 分解未经化学处理的水稻秸秆[J]. 农业工程学报, 2011, 27(1): 86-90.
- [34] 凤鹏,赵新宇,郝登宝,等. 玉米秸秆分解微生物复合菌剂群落组成及提高沼气产量的研究[J]. 吉林农业科学, 2015, 40(1): 109-112.
- [35] 崔宗均,朴哲,王伟东,等. 一组高效稳定纤维素分解菌复合系 MC1 的产酶条件[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(2): 296-299.
- [36] 韩梦颖,王雨桐,高丽,等. 降解秸秆微生物及秸秆腐熟剂的研究进展[J]. 南方农业学报, 2017, 48(6): 1024-1030.
- [37] 崔宗均,李美丹,朴哲,等. 一组高效稳定纤维素分解菌复合系 MC1 的筛选及功能[J]. 环境科学, 2002, 22(3): 36-39.
- [38] 王伟东,崔宗均,牛俊玲,等. 一组木质纤维素分解菌复合系的筛选及培养条件对分解活性的影响[J]. 中国农业大学学报, 2004, 9(5): 7-11.
- [39] 邓兵,贾军,艾士奇,等. 常温降解玉米秸秆复合菌系及其微生物多样性研究[J]. 可再生能源, 2017, 35(8): 1127-1134.
- [40] 顾文杰,徐有权,徐培智,等. 酸性土壤中高效半纤维素降解菌的筛选与鉴定[J]. 微生物学报, 2012, 52(10): 1251-1259.
- [41] 张仲卿,张爱忠,姜宁. 混合真菌发酵对玉米秸秆纤维素与木质素降解率的影响[J]. 动物营养学报, 2019, 31(3): 1385-1395.
- [42] 胡海红,孙继颖,高聚林,等. 低温高效降解玉米秸秆复合菌系发酵条件优化及腐解菌剂的研究[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(8): 1602-1609.
- [43] 高琳,高聚林,闫干朝鲁,等. 玉米秸秆低温降解菌系的生长特性及其降解效果的研究[J]. 内蒙古农业科技, 2015, 43(5): 7-9.
- [44] 胡海红. 玉米秸秆低温高效降解复合菌系发酵条件优化及其制剂的初步研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016.
- [45] 萨如拉,高聚林,于晓芳,等. 玉米秸秆低温降解复合菌系的筛选[J]. 中国农业科学, 2013, 46(19): 4082-4090.
- [46] 青格尔,高聚林,于晓芳,等. 玉米秸秆低温高效降解复合菌系 GF-20 的菌种组成及降解稳定性研究[J]. 中国农业科学, 2016, 49(3): 443-454.
- [47] 青格尔,高聚林,于晓芳,等. 玉米秸秆低温高效降解复合菌系 GF-20 的温度和 pH 适应性研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2017, 45(1): 156-164.
- [48] 马志远,罗晶,冯志珍,等. 具有生防功效的玉米秸秆降解复合菌系的构建[J]. 西北农林科技大学学报, 2012, 40(4): 115-120.
- [49] 陈昕,姜成浩,罗安程. 秸秆微生物降解机理研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(23): 9728-9731, 9740.
- [50] 赵萍,夏文旭,郭健,等. 一株玉米秸秆纤维素分解菌株的分

- 离鉴定及酶学性质[J]. 微生物学通报, 2016, 43(5): 991-997.
- [51] 郭凯, 侯敏, 包慧芳, 等. 双指标优化黑曲霉液态发酵条件及降解棉秆效果[J]. 新疆农业科学, 2018, 55(11): 2122-2133.
- [52] 李静, 张瀚能, 赵翀, 等. 高效纤维素降解菌分离筛选、复合菌系构建及秸秆降解效果分析[J]. 应用与环境生物学报, 2016, 22(4): 689-696.
- [53] 张恒芳, 李林, 史喜林, 等. 玉米秸秆低温纤维素分解菌的筛选及分解效果测定[J]. 玉米科学, 2013, 21(5): 147-150.
- [54] 王海滨, 韩立荣, 冯俊涛, 等. 高效纤维素降解菌的筛选及复合菌系的构建[J]. 农业生物技术学报, 2015, 23(4): 421-431.
- [55] 刘长莉, 王小芬, 郭鹏, 等. 常温秸秆还田菌群的筛选及分解秸秆特性研究[J]. 中国农业科学, 2010, 43(1): 105-111.
- [56] 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[J]. 海洋科学, 2003, 27(5): 42-45.
- [57] 赵晓祥, 张小凡. 环境微生物技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015.
- [58] 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.
- [59] 刘海波, 王义强, 陈介南, 等. 一株高产纤维素酶菌的筛选与鉴定[J]. 生物学杂志, 2008, 25(3): 16-20, 12.
- [60] 高星爱, 李莉, 赵新颖, 等. 纤维素分解微生物复合菌剂降解固态物料特性研究[J]. 东北农业大学学报, 2014, 45(12): 71-76.
- [61] 李阜禄, 喻子牛, 何绍江, 等. 农业微生物学实验技术[M]. 北京: 农业出版社, 1996.
- [62] 刘保平, 王宏燕, 房红岩, 等. 降解秸秆的细菌和放线菌的分离与筛选[J]. 东北农业大学学报, 2010, 41(2): 49-54.
- [63] 宋安东, 王磊, 王凤芹, 等. 微生物处理对秸秆结构的影响[J]. 生物加工过程, 2009, 7(4): 72-76.
- [64] 吴文韬, 鞠美庭, 刘金鹏, 等. 一株纤维素降解菌的分离、鉴定及对玉米秸秆的降解特性[J]. 微生物学通报, 2013, 40(4): 712-719.
- [65] 吴自祥, 万学瑞, 马亚茹, 等. 产纤维素酶细菌的分离筛选与鉴定[J]. 草原与草坪, 2017, 37(2): 7-11, 19.
- [66] 易子霆, 鲍时翔, 朱军, 等. 产酶芽孢杆菌的筛选及菌株 HB13000 的鉴定[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(3): 802-807.
- [67] 潘虎, 卢向阳, 董俊德, 等. 未培养微生物研究策略概述[J]. 生物学杂志, 2012(29): 1, 79-83.
- [68] 王旭辉, 徐鑫, 宝哲, 等. 高通量测序分析玉米秸秆与牛粪联合发酵阶段微生物多样性变化. 食品与发酵工业, 2019, 45(3): 47-55.
- [69] 王志方, 陈竞, 代金平, 等. 棉秸秆自然腐解过程中细菌菌群多样性分析[J]. 新疆农业科学, 2019, 56(1): 111-119.
- [70] 艾士奇, 赵一全, 孙志远, 等. 复合菌系降解纤维素过程中微生物群落结构的变化[J]. 生物工程学报, 2018, 34(11): 1794-1808.
- [71] 王春芳, 马诗淳, 黄艳, 等. 降解水稻秸秆的复合菌系及其微生物群落结构演替[J]. 微生物学报, 2016, 56(12): 1856-1868.
- [72] 李培培, 张冬冬, 王慧, 等. 分解秸秆纤维素菌群的发酵剂保存方法[J]. 农业工程学报, 2011, 27(1): 152-156.
- [73] 李鹤, 张恒芳, 秦治家, 等. 低温秸秆降解菌的研究进展[J]. 中国农学通报, 2014, 30(33): 116-119.
- [74] 段杰, 崔俊涛. 微生物在秸秆还田中的应用研究进展[J]. 资源节约与环保, 2015(2): 27.
- [75] 赵伟, 潘延欣, 靳雯然, 等. 低温菌剂降解秸秆还田对东北黑土微生物活性的影响[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(17): 4020-4024.
- [76] 刘献东, 牛青. 利用农作物秸秆堆制生物有机肥工艺技术简介[J]. 农业机械, 2009(10): 86-87.
- [77] 谢宇新, 徐凤花, 王彦伟, 等. 低温菌株的筛选及对堆肥温度的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(7): 1436-1442.
- [78] 张书敏, 徐凤花, 代欢, 等. 低温复合菌系对玉米秸秆与牛粪堆肥的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2017(2): 136-140.
- [79] 孙冬梅, 文安宇, 李响, 等. 混菌发酵对产纤维素酶的影响及菌剂在大豆秸秆降解中的应用[J]. 大豆科学, 2019, 38(1): 49-55.
- [80] 郭鹏, 郝向举, 魏文侠, 等. 芽孢杆菌在畜禽废弃物污染治理中的研究进展[J]. 饲料研究, 2016(23): 25-33.
- [81] 青格尔, 高聚林, 王振, 等. 玉米秸秆低温降解复合菌系 GF-20 的促分解作用及对土壤微生物多样性的影响[J]. 玉米科学, 2016, 24(3): 153-161.

(责任编辑 狄艳红)