

DOI: 10.14188/j.ajsh.20250623001

聚多曲霉 CMC-1 的筛选鉴定及其水稻秸秆降解特性

赵路兴¹, 王亚蕊², 李永康¹, 崔钰华¹, 尹守亮^{1*}

(1. 华北理工大学 生命科学学院, 河北 唐山 063210;

2. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 农作物秸秆是一种廉价丰富的可再生资源, 但其难降解性制约了其高值转化利用的效率, 筛选高效的秸秆降解菌对于农作物秸秆废弃物处理、生态环境保护及生物质资源高效利用等具有重要意义。采用唯一碳源法从腐败秸秆土壤中筛选出 1 株高效降解水稻秸秆的真菌 CMC-1, 该菌株能够在水稻秸秆、微晶纤维素、羧甲基纤维素钠和木聚糖等 4 种唯一碳源培养基上良好生长; 基于其 ITS 序列的系统发育进化分析及宏观、微观表型特征, 鉴定 CMC-1 为聚多曲霉 (*Aspergillus sydowii*)。CMC-1 具有完整的木质纤维素降解酶活性, 在 2% 麸皮和 2% 微晶纤维素的发酵培养基中, 30 °C, 180 rpm, 摇瓶发酵检测 β -葡萄糖苷酶的最高活力可达到 169.7 U/mL, 木聚糖酶最高活力为 207.2 U/mL。内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶和 β -葡萄糖苷酶最适反应 pH 为 5, 木聚糖酶最适反应 pH 为 6, 这四种酶的最适反应温度均为 50 °C; Cu^{2+} 对纤维素酶和半纤维素酶的活力均具有显著促进作用。失重法检测 CMC-1 对水稻秸秆整体降解效率为 25.8%, 纤维素、半纤维素的降解效率分别为 24.2% 和 26.9%。首次发现聚多曲霉 CMC-1 表现出较高的水稻秸秆降解能力, 能够为农作物秸秆生物质资源的高效转化利用提供新的优良菌种。

关键词: 水稻秸秆; 唯一碳源; 聚多曲霉; 纤维素酶; 半纤维素酶

中图分类号: Q939.96

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2025)05-0513-13

Screening and identification of *Aspergillus sydowii* CMC-1 and its degradation characteristics of rice straw

Zhao Luxing¹, Wang Yaru², Li Yongkang¹, Cui Yuhua¹, Yin Shouliang^{1*}

(1. College of life Sciences, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, Hebei, China;

2. College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China)

Abstract: Crop straw is a cheap and abundant renewable resource, but its difficulty of degradation limits the efficiency of its high-value conversion and utilization. Screening highly efficient straw-degrading microbes is of great significance for the treatment of crop straw waste, the protection of the ecological environment, and the efficient utilization of biomass resources. A fungal strain CMC-1 with high-efficiency in degrading rice straw was screened from rotten straw soil using the sole carbon source method. This strain could grow well on four kinds of sole-carbon-source media, including rice straw, microcrystalline cellulose, sodium carboxymethyl cellulose, and xylan, respectively. Based on the phylogenetic analysis of its ITS sequence and the macroscopic and microscopic phenotypic characteristics, CMC-1 was identified as *Aspergillus sydowii*. Strain CMC-1 exhibited complete lignocellulolytic enzyme activities. In a fermentation medium with 2% wheat bran and 2% microcrystalline cellulose, the highest activity of β -glucosidase detected could reach 169.7 U/mL, and the highest activity of xylanase was 207.2 U/mL in shake flask fermentation at 30 °C with a rotation

收稿日期: 2025-06-23 修回日期: 2025-09-03 接受日期: 2025-10-03

作者简介: 赵路兴(2003-), 男, 本科生, 研究方向为农作物秸秆降解菌的分离鉴定与应用, E-mail: zhaoluxing@outlook.com

* 通信作者: 尹守亮(1983-), 男, 博士, 讲师, 主要从事微生物资源利用与产品开发, E-mail: yinshouliang@126.com

基金项目: 唐山市科技计划项目(24150212C); 华北理工大学高层次人才科研启动项目(BS201833)

引用格式: 赵路兴, 王亚蕊, 李永康, 等. 聚多曲霉 CMC-1 的筛选鉴定及其水稻秸秆降解特性[J]. 生物资源, 2025, 47(5): 513-525.

Zhao Luxing, Wang Yaru, Li Yongkang, et al. Screening and identification of *Aspergillus sydowii* CMC-1 and its degradation characteristics of rice straw [J]. Biotic Resources, 2025, 47(5): 513-525.

speed of 180 rpm. The optimal pH for endo- β -glucanase, exoglucanase, and β -glucosidase was 5, while xylanase was 6. The optimal temperature for all four enzymes was 50 °C. Cu^{2+} could significantly promote the activities of both cellulase and hemicellulase. The degradation efficiency of CMC-1 on rice straw was 25.8% detected by the weight-loss method, and the degradation efficiencies of cellulose and hemicellulose were 24.2% and 26.9%, respectively. The *Aspergillus sydowii* CMC-1 screened in this study shows high degradation capacity for rice straw, which can provide a new excellent strain for the efficient conversion and utilization of agricultural straw biomass resources.

Key words: rice straw; sole carbon source; *Aspergillus sydowii*; cellulase; hemicellulase

0 引言

中国是世界上重要的农业生产大国,也是最大的秸秆生产国之一,拥有水稻、玉米、小麦等丰富的农作物秸秆资源,总产量约占全球秸秆资源的 20%^[1-2]。2022 年,中国主要农作物的秸秆产生量达到了 8.65 亿吨,可收集总产量 7.31 亿吨^[3]。国内外对于农作物秸秆资源的利用方式主要包括燃料化、饲料化、肥料化、基料化和原料化,简称“五料化利用”^[4]。1950—2021 年期间,农作物秸秆用于烹饪、取暖、露天焚烧等产生的温室气体排放量从每年 1 亿吨骤增至 4.46 亿吨^[5]。为了缓解温室气体引发的“全球气候变热”等环境难题,在第 75 届联合国大会上,中国提出了 2030 年前实现碳达峰,2060 年前实现碳中和的“双碳”目标^[6]。因此,农作物秸秆资源的科学化管理和高效化利用,对于农业领域实现绿色循环发展及低碳转型目标具有关键的现实价值与深远意义。

农作物秸秆固有的抗降解屏障得益于其木质纤维素复合体独特的结构特征,这种复合体通过纤维素、半纤维素与木质素分子间交联形成三维网状骨架^[7]。木质纤维素一般需要通过物理破碎、化学脱木质素和生物酶解等多手段联合应用才能将其充分破坏和有效分解^[8]。秸秆中纤维素含量占比最高(约 30%~50%),其主要是由葡萄糖单元通过 β -1,4-糖苷键聚合而成,虽然基本组成单位单一,但是纤维素长链具有一定取向性,致使分子链通过氢键作用形成疏松的非结晶区与致密的结晶区的复合结构,且结晶程度越高分子间作用力增强,导致其越难降解^[9]。自然环境中存在部分微生物能分泌纤维素酶。纤维素酶由内切葡聚糖酶(endo-1,4- β -D-glucanase, EC 3.2.1.4)、外切葡聚糖酶(exo-1,4- β -D-glucanase, EC 3.2.1.91)和 β -葡萄糖苷酶(β -glucosidase, EC 3.2.1.21)3 种酶组成;但是,三者协同作用才能发挥出高效的纤维素降解作用^[10]。半纤维素是一类组成更为复杂的异质多糖,与纤维素相比其基本组成单位与结构更加多样化,基本单糖单位包括木糖、甘露糖、半乳糖、葡萄糖、阿拉伯糖等,并且常带有乙酰基、甲氧基或糖醛酸等修饰基团^[11]。在农

作物秸秆中半纤维素(约 25%~30%)的成分占比仅次于纤维素,常见的半纤维素酶主要包括木聚糖酶和甘露聚糖酶等^[9,12]。木质素(约 15%~20%)是农作物秸秆中最难降解和利用的成分之一,常见的木质素分解酶包括漆酶、木质素过氧化物酶和锰过氧化物酶等^[9,13]。分泌木质纤维素降解酶的菌株不仅在农作物秸秆还田降解过程中发挥关键作用,而且在其他更多领域展现出重要的应用价值。例如:在饲料领域,利用微生物产生的纤维素酶与半纤维素酶预处理秸秆饲料,可显著促进畜禽对营养物质的消化吸收^[14];在食品工业中,纤维素酶通过破坏植物细胞壁提升原料澄清度,从而优化食品品质^[12];此外,纤维素酶与半纤维素酶在纺织和造纸工业中也发挥着重要作用^[15]。

自然界中农作物秸秆废弃物在细菌、放线菌和真菌等多种分解微生物的共同作用下彻底降解,其中真菌发挥了主要优势作用^[16,17]。真菌曲霉属中的黑曲霉(*Aspergillus niger*)、米曲霉(*Aspergillus oryzae*)和烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)是常见的能合成分泌木质纤维素酶的参考菌种^[18]。黑曲霉和米曲霉其内切和外切酶活性较低,常作为辅助菌种与其他真菌混合培养来提高整体的纤维素酶活性^[19-20]。烟曲霉的主要优势在于能合成耐高温的纤维素酶,但其作为一种致病菌,限制了其在食品等领域的应用^[21]。当前,曲霉属中还有许多尚未被充分挖掘的潜力菌种,本文筛选和鉴定的分泌木质纤维素酶的聚多曲霉(*Aspergillus sydowii*)在秸秆降解领域未见报道,为探索曲霉属内新型纤维素酶系的特性,以及秸秆降解酶制剂的多元化开发利用提供新的参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂

水稻秸秆经多次水洗、烘干后,由东海县白塔埠镇苏锐秸秆加工厂粉碎制成 100 目粉末;微晶纤维素、3,5-二硝基水杨酸、羧甲基纤维素钠、刚果红等试剂均购于国药集团化学试剂有限公司;水杨苷、木聚糖购于上海麦克林生化科技股份有限公司;麸皮、真

菌基因组提取试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司;纤维素、半纤维素和木质素含量测定试剂盒购自北京盒子生工科技有限公司;无缝克隆技术组装试剂盒(2×Seamless Cloning Mix)、质粒提取试剂盒和DNA琼脂糖凝胶回收试剂盒购自北京博迈德基因技术有限公司;限制性核酸内切酶、Q5高保真DNA聚合酶购于New England Biolabs (NEB)公司;察氏培养基和乳酸酚棉蓝染色液购于青岛海博生物技术有限公司;其余常规生化试剂均采购于本地代理商。

1.1.2 菌株与培养基

大肠杆菌感受态细胞DH5 α 和克隆载体pUC19为本实验室保存菌株和质粒。

参照文献[22],初筛培养基(g/L):水稻秸秆粉20 g, KH₂PO₄ 2 g, MgSO₄ 0.5 g, (NH₄)₂SO₄ 1 g, NaCl 0.5 g, 琼脂20 g; pH 4.8; 121 °C, 灭菌30 min。复筛培养基是将初筛培养基中的水稻秸秆粉替换为等质量的微晶纤维素、羧甲基纤维素钠和木聚糖。PDA培养基:称量200 g去皮后新鲜土豆碎块,加适量蒸馏水煮沸30 min,四层纱布过滤收集滤液,加葡萄糖20 g, 琼脂20 g, 蒸馏水定容至1 L; pH自然, 115 °C, 灭菌30 min。LB培养基(g/L):胰蛋白胨10 g, 酵母膏提取物5 g, NaCl 10 g; 121 °C, 灭菌30 min。真菌培养的种子瓶和发酵瓶培养基参照文献[23]的方法。MM培养基(g/L): ZnSO₄·7H₂O 0.001 4 g, CoCl₂ 0.000 2 g, FeSO₄·7H₂O 0.005 g, MnSO₄·H₂O 0.016 g, MgSO₄ 0.6 g, CaCl₂ 0.8 g, (NH₄)₂SO₄ 5 g, KH₂PO₄ 15 g, pH 4.8。种子培养基(g/L):蛋白胨1 g, 葡萄糖20 g, MM培养基定容至1 L, pH 4.8; 115 °C, 灭菌30 min。发酵培养基(g/L):尿素0.3 g, 蛋白胨1 g, 麸皮20 g, 微晶纤维素20 g, MM培养基定容至1 L, pH 4.8。121 °C, 灭菌30 min。

1.2 方法

1.2.1 菌株筛选

样品采集:采集唐山市曹妃甸农场水稻秸秆堆积区域的土壤样品,无菌密封袋低温保存。

初筛:称取1 g土壤样品放入无菌试管中,加入9 mL无菌去离子水,28 °C低速振荡培养12 h;取上清液用无菌水进行10⁻¹, 10⁻², 10⁻³和10⁻⁴梯度稀释,吸取每个梯度的稀释液0.2 mL涂布在以水稻秸秆粉为唯一碳源的初筛培养基上;28 °C恒温培养5~7 d。真菌菌落一般多呈现绒毛或絮状形态,且能够产生明显的孢子,挑取初筛平板上尺寸较大且生长速度较快的真菌单克隆进行复筛。

复筛:初筛获得的单克隆真菌在PDA培养基中

传代纯化3次,直至单克隆菌落形态一致,不含杂菌。用无菌水收集和稀释真菌孢子,血球计数板计数并制备1.0×10⁷个/mL的孢子悬液,取2.5 μL孢子悬液滴种到以水稻秸秆、微晶纤维素、羧甲基纤维素钠及木聚糖为底物的复筛培养基平板中心,28 °C恒温倒置培养5 d,羧甲基纤维素钠的复筛选培养基采用0.5%刚果红溶液进行处理,染色10 min后用1 mol/L NaCl溶液脱色处理,通过观察透明水解圈评估菌株的内切葡聚糖酶活性。

1.2.2 形态学特征

最适生长温度和宏观表型特征:吸取2.5 μL CMC-1孢子悬液(1×10⁷个/mL),分别滴加到PDA和察氏培养基平板的中心位置,静置风干后将培养皿用封口膜进行密封,防止杂菌污染,分别在15 °C、20 °C、25 °C、30 °C、35 °C培养箱倒置培养,观察和鉴别CMC-1的表观形态。

微观形态特征:用无菌小枪头挑取少量孢子及菌丝体置于载玻片上,滴加1滴乳酸酚棉蓝染色液进行染色,光学显微镜进行镜检,观察菌丝体和孢子显微结构,放大倍数:目镜10×,物镜20×。

1.2.3 种属鉴定

取100 μL孢子悬液(1×10⁷个/mL)接种到盛装有50 mL种子培养基的250 mL广口三角烧瓶中,180 rpm,30 °C恒温培养48 h。布氏漏斗过滤除去发酵液,将菌丝体转移到研钵中,加入液氮快速研磨成粉末,按照真菌基因组DNA提取试剂盒提取CMC-1基因组DNA。以基因组DNA为模板,扩增CMC-1的ITS序列,引物序列:ITS1-F:5'-GACGTTGTA-AAACGACGGCCAGTGAATTCTCCGTAGGT - GAACCTGCGG-3'; ITS4-R: 5'-CAGCTATGAC-CATGATTACGCCAAGCTTTCCTCCGCT - TATTGATATGC-3'。下划线部分为pUC19载体上的overlap区,用于无缝克隆试剂盒组装构建载体pUC19-ITS(CMC-1),粗体部分为扩增真菌ITS的特异引物序列。将重组产物转化大肠杆菌感受态细胞DH5 α ,挑取阳性克隆委托北京擎科生物科技股份有限公司(天津)进行序列测定。

将测序得到的ITS序列提交NCBI数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>),注册Genbank序列号。同时,在BLAST平台进行核酸序列比对分析,筛选同源性较高的标准菌株的ITS序列作为参考序列,采用MAGE11软件绘制CMC-1的系统发育进化关系树。

1.2.4 发酵与酶学活性测试

发酵与粗酶液制备:向50 mL种子瓶中接种

100 μL 孢子液, 30 $^{\circ}\text{C}$, 180 rpm 振荡培养 48 h, 按照 10% 的接种量将菌丝体发酵液接种到 50 mL 发酵培养基中, 30 $^{\circ}\text{C}$, 180 rpm 继续培养; 每隔 1 d 取发酵液, 12 000 rpm 离心 5 min, 上清即为粗酶液。

缓冲液的配置、标准曲线及酶学活力的测定方法参考本课题组先前发表的文章^[24-25]。酶促反应体系中内切葡聚糖酶的底物为 1% 的羧甲基纤维素钠, 外切葡聚糖酶的底物是 1% 的微晶纤维素, β -葡萄糖苷酶的底物为 1% 的水杨苷, 半纤维素酶(木聚糖酶)的底物为 1% 的木聚糖。酶学活力的测定方法略有改动, 采用酶标仪微量法, 与原方法相比各试剂用量等比例缩小 10 倍。向 1.5 mL 的离心管中加入 100 μL 的反应底物, 50 μL 稀释后的粗酶液, 混匀后放入 50 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴锅(或金属浴)中温育反应 30 min, 然后加入 200 μL 的 DNS 试剂, 沸水浴(金属浴)10 min 终止反应, 冷却至室温并加入 650 μL 的去离子水定容至 1 mL, 吸取 200 μL 上述酶促反应液加入 96 孔板中, 利用酶标仪测定反应液在 540 nm 处的吸光度, 依据标准曲线和吸光度计算酶解产生的葡萄糖(木糖)质量。酶活力单位(U)定义为在 50 $^{\circ}\text{C}$, pH 4.8 反应条件下, 1 min 内水解底物生成 1 μg 葡萄糖(或木糖)所需的酶量; 发酵液粗酶活力(U/mL)是指每毫升发酵液在一定条件下 1 min 内催化底物酶解生成 1 μg 葡萄糖(或木糖)所需的酶量。

分别在 10、20、30、40、50、60、70、80、90 $^{\circ}\text{C}$ 条件下测定粗酶液中纤维素酶和半纤维素酶的相对酶学活力, 确定其最适反应温度。分别在 pH 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0 条件下测定粗酶液中纤维素酶和半纤维素酶的相对酶学活力, 确定其最适反应 pH。其中相对酶活力主要是指以最适温度(pH)条件下测得的酶活力为对照, 评价其他温度(pH)条件对酶学活性的影响, 计算公式如下: 相对酶活力=[不同温度(pH)条件酶活力/最适温度(pH)条件酶活力] $\times 100\%$ 。

用去离子水配置 1 mol/L 的 KCl、CaCl₂、NaCl、MgCl₂、MnCl₂、FeCl₂、FeCl₃、ZnCl₂、CuCl₂、CoCl₂ 储液, 向酶促反应体系中加入终浓度为 1 mmol/L 的上述金属离子储液, 以不添加任何金属离子的反应体系作为对照组, 测定各金属离子对纤维素酶和半纤维素酶活性的影响。向酶促反应体系中加入终浓度为 1 mmol/L 的有机试剂 EDTA、Triton X-100、Tween 80 和 SDS, 以不加有机试剂的反应体系作为对照组, 测定有机试剂对纤维素酶和半纤维素酶活性的影响。相对酶活力是指以不加金属离子或有机试剂条件下

测得的酶活性作为对照, 评价添加金属离子或有机试剂后对酶活性的影响, 具体计算公式如下: 相对酶活力=[添加金属离子(或有机试剂)的实验组酶活力/不添加金属离子(或有机试剂)的对照组酶活力] $\times 100\%$ 。

1.2.5 测定水稻秸秆降解率

采用失重法评价水稻秸秆的整体降解效果^[26]。称取 20 g 100 目的水稻秸秆粉末(2%)代替原发酵培养基中的微晶纤维素和麸皮; 接入 10% 的含有 CMC-1 菌丝体种子液, 对照组不加 CMC-1 种子液, 用无菌水补齐。30 $^{\circ}\text{C}$, 180 rpm 培养, 分别在第 3、6、9、12、15、18 d 取出一组发酵瓶, 抽滤除去发酵液, 用镊子挑去较大菌丝球, 分别用 0.1 mol/L 稀盐酸和去离子水冲洗秸秆残渣 3 次, 去除剩余菌丝体碎片, 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱烘干 48 h, 称重。

$$W_1 = (M_0 - M_1) / M_0 \times 100\%$$

式中, M_0 : 对照瓶秸秆粉重量; M_1 : 发酵后秸秆粉重量, 单位: g。纤维素含量检测试剂盒主要原理是利用纤维素在酸性条件下水解为 β -D-葡萄糖, β -D-葡萄糖脱水生成 β -糠醛类化合物与蒽酮脱水缩合生成蓝绿色糠醛衍生物, 通过比色法(620 nm)定量纤维素。半纤维素含量检测试剂盒主要原理是样品经酸处理后转化成还原糖, 进一步与 3,5-二硝基水杨酸反应生成棕红色氨基化合物, 通过比色法(540 nm)测定半纤维素的含量。木质素含量检测试剂盒主要原理是样品中木质素酚羟基乙酰化后生成乙酰木质素, 利用比色法(280 nm)测定木质素的含量。测定对照组中水稻秸秆粉和实验组降解后残渣中的三素(纤维素、半纤维素和木质素)含量。三素降解率计算公式:

$$W_2 = (M_0 \times a - M_1 \times b) / (M_0 \times a) \times 100\%$$

式中, a : 对照组中秸秆三素含量; b : CMC-1 处理后秸秆残渣中的三素含量, 单位: mg/g。

用蒸馏水将对照组和降解组的水稻秸秆残渣进行超声分散, 取少量样品滴加于粘贴有导电胶带的观察台上, 自然晾干, 使用日本 HITACHI 场发射扫描电镜(型号: S4800)观察秸秆的微观结构。

1.2.6 数据统计及显著性分析

利用 WPS Office Excel 对实验数据进行统计学处理和分析, 实验数据以均值和标准误差形式表示。实验组和对照组数据采用 t 检验方法计算 P 值来评价两组数据之间差异是否显著, 当 $P \leq 0.01$ 时为差异极显著(**表示), $0.01 < P \leq 0.05$ 时为差异显著(*表示), $P > 0.05$ 为差异无统计学意义。

2 结果与分析

2.1 菌株 CMC-1 在 4 种唯一碳源培养基上的筛选表型特征

经过初筛、分离纯化共得到真菌 45 株。为进一步验证和评价各菌株降解木质纤维素的效果,再次利用水稻秸秆粉、微晶纤维素、羧甲基纤维素钠和木聚糖为唯一碳源对上述真菌菌株进行复筛,通过比较菌株在 4 种唯一碳源培养基中的生长速度、菌落直径大小等特征,初步确定 1 株秸秆降解优势菌株,编号命名为 CMC-1。如图 1 所示,CMC-1 在 4 种唯一碳源培养基中均能良好生长。28 °C,培养 5 d 后,CMC-1 在水稻秸秆粉、微晶纤维素和木聚糖唯一碳源培养基上的生长尺寸分别为 28.5 mm、24.9 mm 和 29.0 mm。刚果红与羧甲基纤维素特异性结合形成稳定的红色复合物,但是当羧甲基纤维素被菌株合成的内切葡聚糖酶分解后,无法形成红色复合物,平板上会出现透明圈。因此,通过计算和比较降解透明圈直径(D)与菌落直径(d)的 D/d 值,来评价木质纤维素降解菌的降解能力, D/d 值越大代表其酶活性越强^[27]。CMC-1 的 D/d 值为 2.1,表明该菌株具有较高的纤维素酶活性。

2.2 菌株 CMC-1 最适生长温度及宏观表型特征

为了确定菌株 CMC-1 发酵培养的最适温度,将

CMC-1 孢子分别接种至 PDA 和察氏两种培养基平板上,在不同温度下观察菌株的生长速度和宏观形态特征。如图 2 所示,在 30 °C 培养条件下,CMC-1 无论在 PDA 培养基还是察氏培养基中生长速度均最快,菌丝体生物量积累也最多,30 °C 为该菌株的最适生长温度。在 15 °C 和 35 °C 培养条件下,菌株 CMC-1 的生长明显受到抑制。CMC-1 在 30 °C, PDA 培养平板上,菌体紧凑聚集在一起,表面附着成熟的深绿色孢子。

2.3 菌株 CMC-1 合成木质纤维素降解酶活性分析

如图 3 所示,在 30 °C 最适生长温度条件下,CMC-1 菌株产内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶和 β -葡萄糖苷酶的最大活力分别为 35.0 U/mL (6 d)、25.8 U/mL (4 d)、169.7 U/mL (8 d); CMC-1 菌株产半纤维素酶(木聚糖酶)最高活力 207.2 U/mL (4 d)。根据上述唯一碳源培养基初筛和复筛的筛选结果,以及纤维素酶和半纤维素酶酶学活力分析,初步表明真菌 CMC-1 具有高效的木质纤维素降解能力。里氏木霉 (*Trichoderma reesei*) 仍然是当前食品、饲料和能源等领域常用的商用纤维素酶生产菌^[28]。本研究筛选的聚多曲霉菌株 CMC-1 在合成 β -葡萄糖酶和木聚糖酶方面展现出显著优势,其 β -葡萄糖酶酶学活性明显高

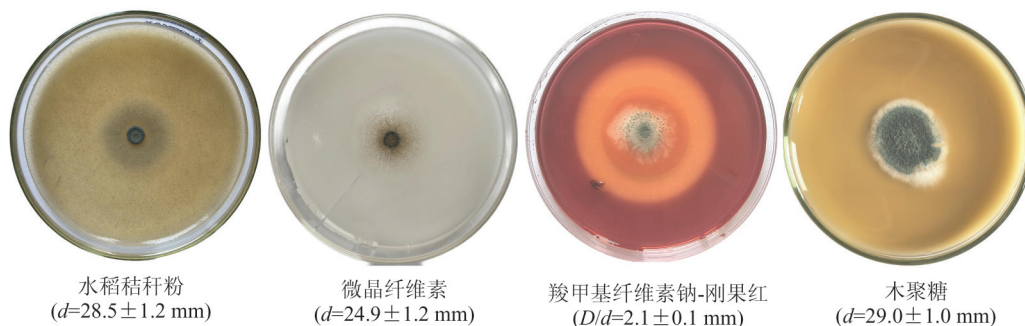


图 1 菌株 CMC-1 在 4 种唯一碳源培养基中的生长状态

Figure 1 Growth status of strain CMC-1 in four types of culture media with unique carbon sources

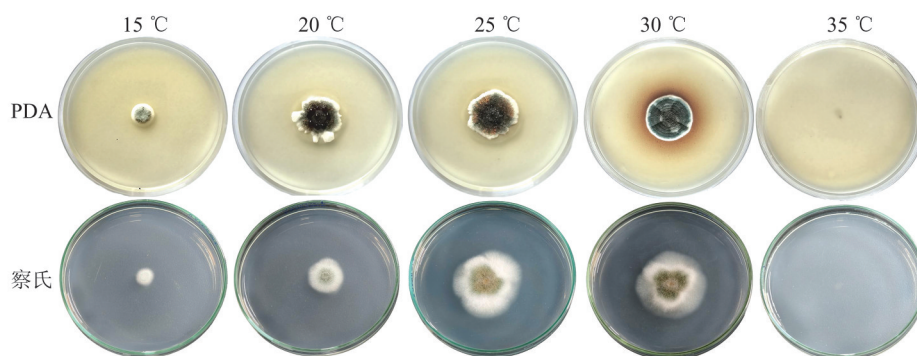


图 2 不同温度下菌株 CMC-1 在平板上的生长状态

Figure 2 Growth status of strain CMC-1 on the plate at different temperatures

于里氏木霉C30^[24-25]。

2.4 木质纤维素降解酶最适反应温度和最适反应pH

如图4所示,菌株CMC-1合成内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶、 β -葡萄糖苷酶和木聚糖酶的最适反应温度均为50℃,即在50℃反应体系中,纤维素酶和半纤维素酶的活力最高。内切葡聚糖酶和木聚糖酶在40℃~60℃范围内的相对活力能够保持在80%以上;而外切葡聚糖酶在40℃~80℃范围之间可保持较高的催化活性,呈现出较宽的反应温度范围; β -葡萄糖苷酶的最适反应温度范围为50℃~60℃。

如图5所示,整体上,CMC-1所产纤维素酶和半纤维素酶的最适反应pH为弱酸性,其中内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶和 β -葡萄糖苷酶的最适反应pH值均为5,CMC-1所产的木聚糖酶的最适反应pH值为6。

菌株CMC-1所产纤维素酶和半纤维素酶的最适温度、温度稳定范围、最适pH及pH稳定范围等酶学特性参数如表1所示,其中在温度和pH稳定范围内四种酶的酶活力均能保持80%以上。

2.5 金属离子和有机试剂对木质纤维素降解酶活性影响

在最适反应温度、pH条件下检测金属离子及有机试剂对纤维素酶和半纤维素酶活力的影响,以不加

金属离子和有机试剂的酶促反应体系为空白对照组(即相对酶活力为100%)。Ca²⁺、Fe²⁺、Fe³⁺、Cu²⁺和有机试剂EDTA对内切葡聚糖酶有极显著的促进作用($P < 0.01$),其中Cu²⁺的促进作用最强,酶活力提高了43.3%;Mn²⁺极显著抑制内切葡聚糖酶的活力(41.0%, $P < 0.01$),见图6(a)。K⁺、Ca²⁺、Na⁺、Fe²⁺、Zn²⁺、Cu²⁺和有机试剂EDTA、SDS等对外切葡聚糖酶的活力有极显著的增强作用($P < 0.01$),其中Cu²⁺的促进作用最强,酶活力提高了33.5%;Mn²⁺、Co²⁺和TritonX-100有显著的抑制作用,见图6(b)。K⁺、Ca²⁺、Na⁺、Fe²⁺、Fe³⁺、Cu²⁺等金属离子对 β -葡萄糖苷酶活性有极显著的促进作用($P < 0.01$),其中Cu²⁺对 β -葡萄糖苷酶活力提高了37.9%;Mn²⁺、Co²⁺和EDTA、TritonX-100对 β -葡萄糖苷酶有极显著的抑制作用($P < 0.01$),Mn²⁺对该酶的抑制程度为35.5%,见图6(c)。Zn²⁺和Cu²⁺对木聚糖酶有极显著的促进作用($P < 0.01$),Cu²⁺对木聚糖酶活力提高了15.9%;Mg²⁺、Mn²⁺和TritonX-100、Tween-80对木聚糖酶的活力有极显著的抑制作用($P < 0.01$),见图6(d)。

2.6 种属鉴定

如图7(a)所示,在20×10倍显微镜下,观察到菌株CMC-1菌丝体不分支,孢子梗较长、较粗,在孢子梗的顶端聚集成团簇状的球体结构,其表面附着大量

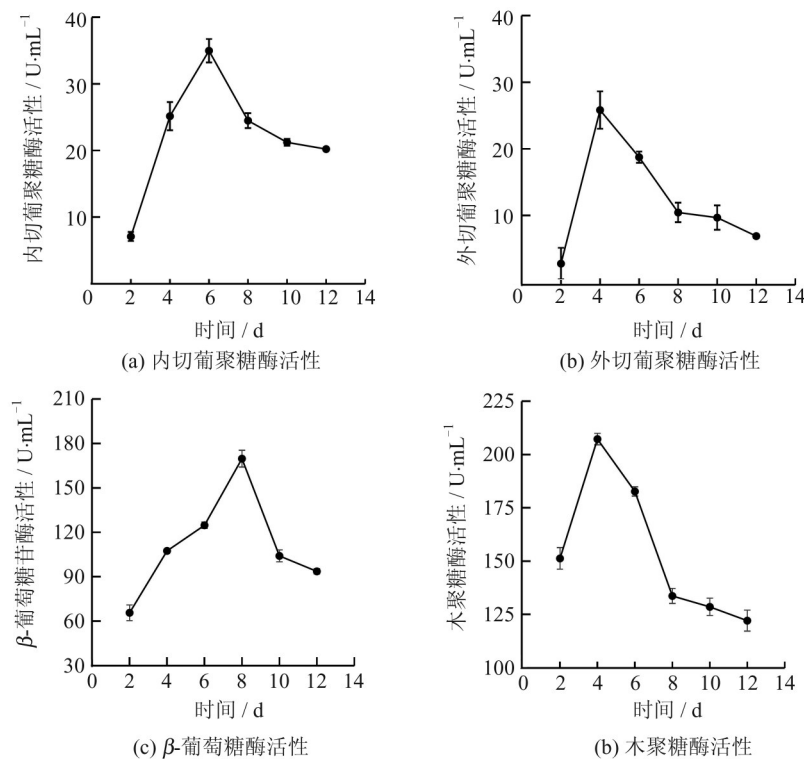


图3 菌株CMC-1产纤维素酶和半纤维素酶活性随时间变化的曲线

Figure 3 Curves of cellulase and hemicellulase activities of strain CMC-1 over time

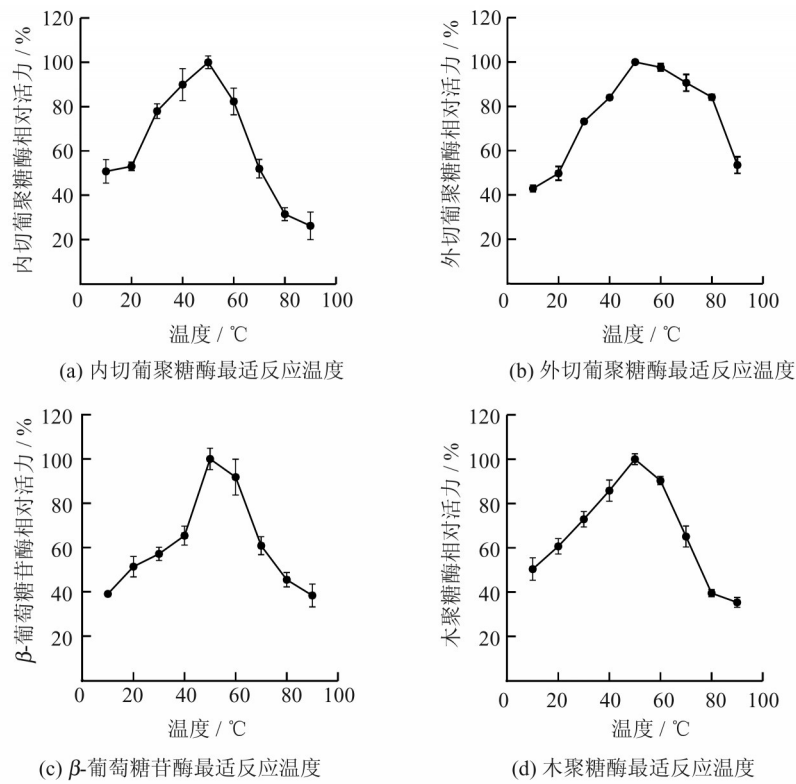


图4 菌株 CMC-1产纤维素酶和半纤维素酶最适反应温度

Figure 4 Optimal temperature for cellulase and hemicellulase produced by strain CMC-1

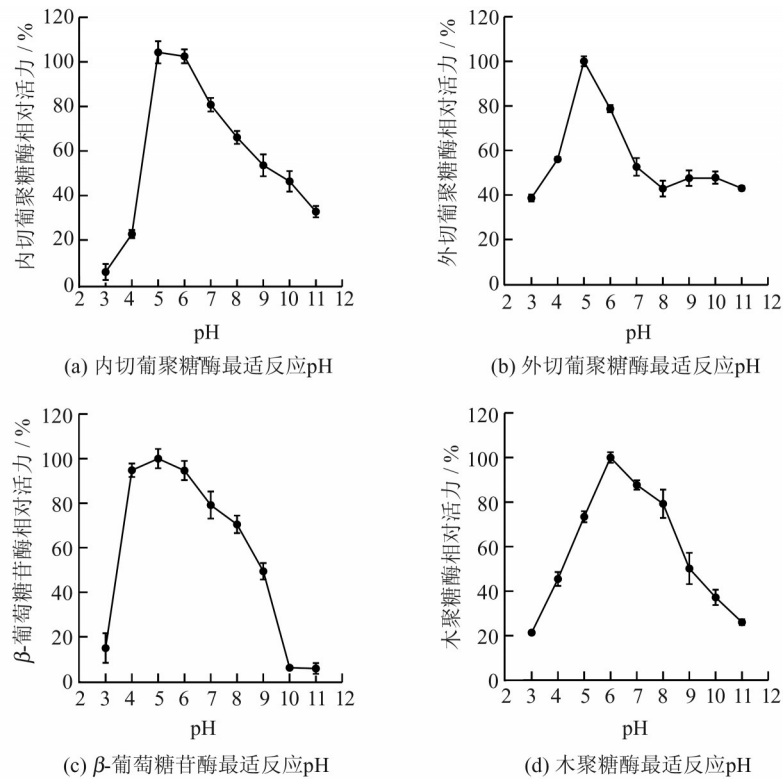


图5 菌株 CMC-1产纤维素酶和半纤维素酶最适反应 pH

Figure 5 Optimal pH for cellulase and hemicellulase produced by strain CMC-1

的孢子。提取菌株 CMC-1 的基因组 DNA, 1% 的琼脂糖凝胶加样孔中基因组 DNA 样品和 marker 样品
 的体积均为 5 μ L, 图 7(b) 显示基因组 DNA 条带整体大小在 10 kb 以上, 较为完整, 且亮度较为明亮, 表明

表1 酶学特性参数
Table 1 Enzymatic characteristic parameters

酶的类型	最适温度/°C	温度稳定范围/°C	最适pH	pH稳定范围
内切葡聚糖酶	50	40~60	5.0	5.0~7.0
外切葡聚糖酶	50	40~80	5.0	5.0
β-葡萄糖苷酶	50	50~60	5.0	4.0~7.0
木聚糖酶	50	40~60	6.0	6.0~8.0

注: 温度和pH稳定范围是指酶活力保持80%以上。

Note: Temperature and pH ranges refer to the enzyme activity above 80%.

提取的基因组DNA的浓度较高,完整性和浓度均满足后续实验要求。以其为PCR模板,扩增ITS序列的电泳条带大小位于500~750 bp(图7(c)),对该PCR产物进行测序后,得到该菌株ITS序列的实际长度为569 bp,将核酸序列提交NCBI数据库,注册GenBank登录号:PV739265;同时进行BLAST比对分析,选取数据库中与CMC-1亲缘关系较近的参考菌株的ITS序列,采用邻接法(Neighbor-Joining)绘制系统发育进化树(括号内为该菌株的GenBank登录号),系统发育检验采用自展法,自展次数1000次,当

分支上数值为“95”,表示该分支在1000次bootstrap重复分析中出现了950次,种属邻近关系具有极高的可靠性。如图7(d)所示,菌株CMC-1与参考菌株聚多曲霉(*Aspergillus sydowii*)UTHSC 11-204的亲缘关系最近,其ITS rDNA的序列相似性为100%,结合该菌株聚集成团簇状的微观菌丝体结构特征,初步鉴定菌株CMC-1为聚多曲霉。

2.7 菌株CMC-1对水稻秸秆降解效果

通过计算水稻秸秆经CMC-1发酵处理后的干重损失量,评价水稻秸秆的降解效率。如图8(a)所示,在发酵降解的前期阶段,水稻秸秆干重损失速率较快,第9 d时约有20%的水稻秸秆被降解,随后降解速度开始减慢,在第15 d、18 d时,水稻秸秆干重损失率趋于平缓,干重损失率分别为25.7%和25.8%。如图8(b)所示,CMC-1对水稻秸秆中纤维素的降解率约为24.2%($P < 0.05$),对半纤维素的降解率约为26.9%($P < 0.01$);但是对水稻秸秆木质素的降解率约为4.0%,且降解差异不显著($P > 0.05$),秸秆中的木质素成分为芳香族聚合物,其水解核心酶包括木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶和漆酶等^[13]。本文筛选

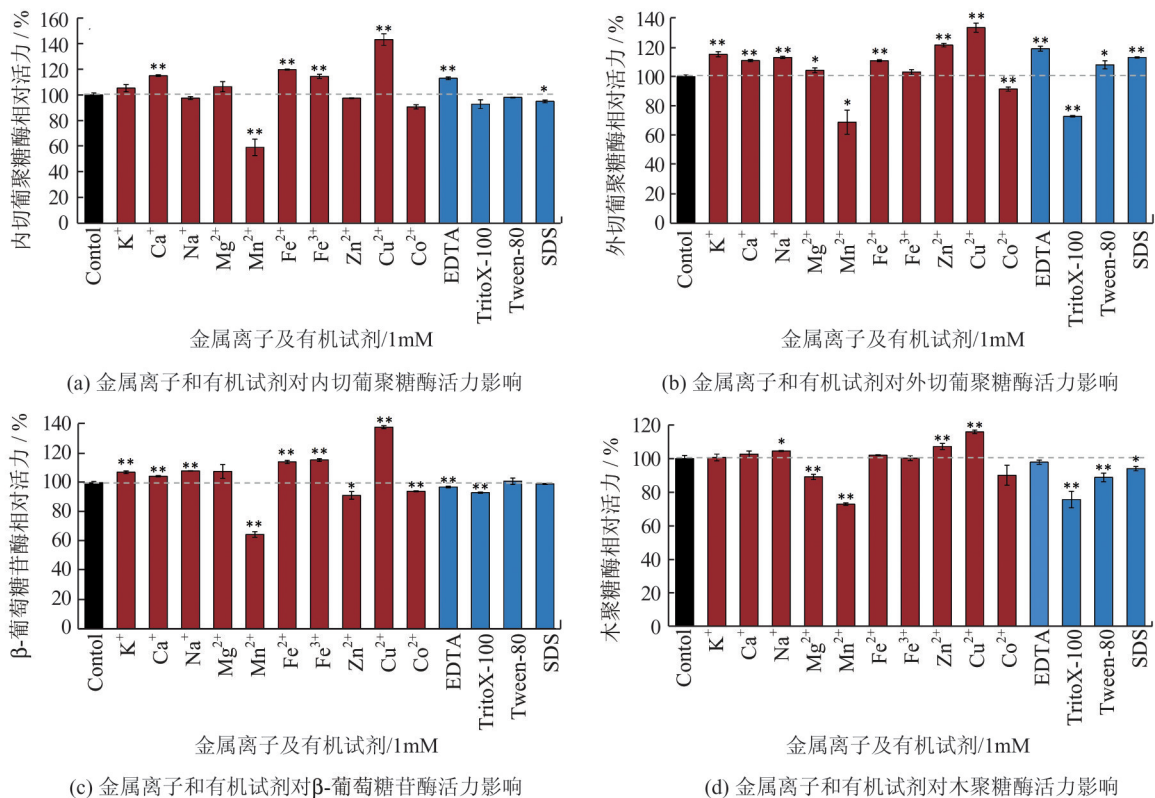


图6 金属离子和有机试剂对纤维素酶和半纤维素酶活性的影响

Figure 6 The influence of metal ions and organic reagents on the activities of cellulase and hemicellulase

注: **表示差异极显著; *表示差异显著; 空白为差异不显著。

Note: ** indicates extremely significant difference; * indicates significant difference. Blank space indicates no significant difference.

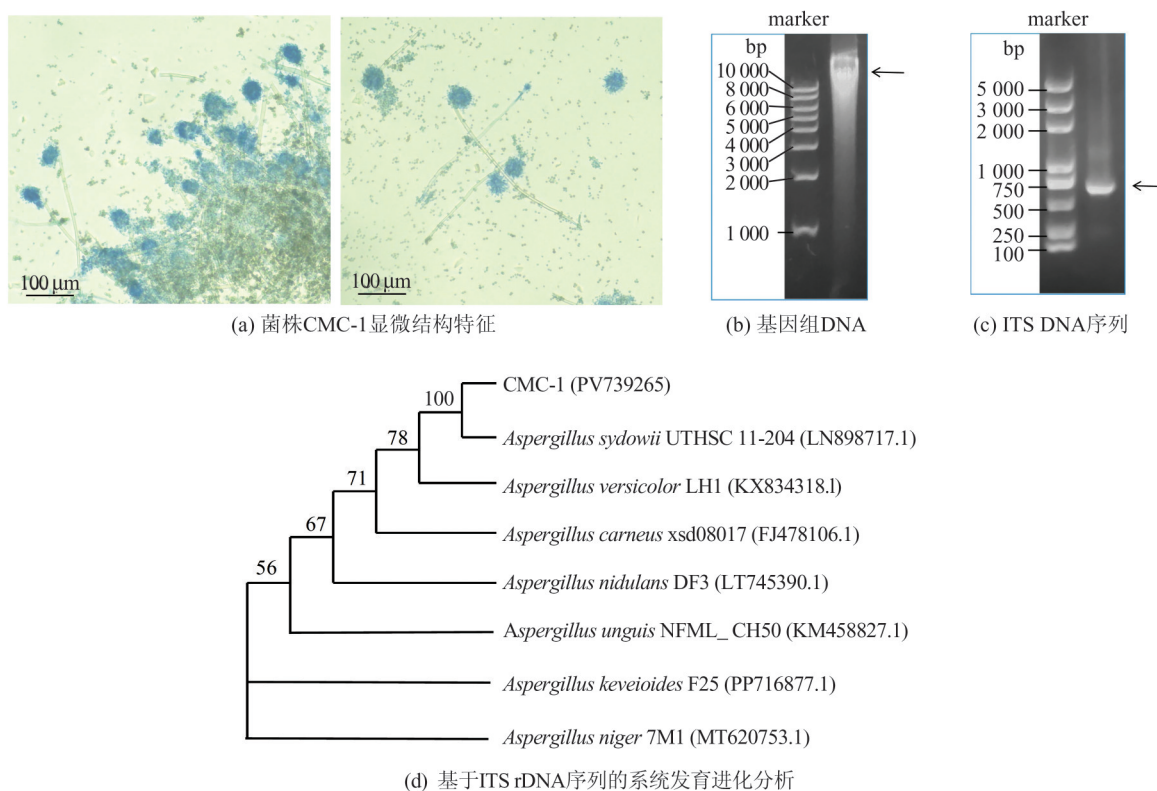


图7 CMC-1 微观显微结构特征与基于 ITS rDNA 序列的系统发育进化分析

Figure 7 Characteristics of microscopic structure of strain CMC-1 and its phylogenetic analysis based on ITS rDNA sequence

的秸秆降解菌 CMC-1 对木质素降解率较低的主要原因可能是菌株自身缺少木质素降解酶基因,或者基因组中木质素降解相关基因(*lip*、*mnP*、*lac*)的转录水平较低或者酶的合成量极少,限制了木质素降解。进一步通过扫描电镜观察水稻秸秆微观结构,降解之前的水稻秸秆微观表面结构光滑整齐,整体连贯,见图 8(c),经 CMC-1 菌株发酵液处理后水稻秸秆的微观结构,从外向内逐步粉碎,脱落形成大量细小碎片,整体结构中充满孔隙,表明水稻秸秆确实发生了明显的降解。

3 讨论

农作物秸秆作为农业生产加工过程中的主要副产品,是一类极具开发潜力的可再生资源,而当前,农作物秸秆利用的关键问题在于秸秆资源的丰富性与高值利用的低效性之间的不匹配。对农作物秸秆进行合理、有效的开发和利用,不仅能减少温室气体排放、缓解环境压力,更能有力推动农业循环经济的可持续发展。随着微生物资源开发与应用技术的迅猛发展,高效秸秆降解菌的筛选及其木质纤维素降解酶的纯化与表征,已成为当前降低秸秆利用成本、促进秸秆转化应用的关键研究热点。

本研究从曹妃甸腐败秸秆土壤中分离纯化了 45

株具有秸秆降解能力的真菌,通过在水稻秸秆粉、微晶纤维素、羧甲基纤维素钠和木聚糖 4 种唯一碳源培养基上的表型特征综合筛选,针对 1 株具有高效秸秆降解潜力的菌株聚多曲霉 CMC-1,开展了纤维素酶与半纤维素酶的酶学特性分析及水稻秸秆降解效率的验证。但是,酶学活性测试结果显示菌株 CMC-1 分泌的内切葡聚糖酶活力较低,这与羧甲基纤维素钠唯一碳源的表型筛选结果存在明显差异。传统筛选纤维素降解菌主要依靠羧甲基纤维素钠-刚果红染色实验,当水解圈直径与菌落直径比值(D/d) >2 时,通常认为菌株具有良好的纤维素降解能力^[29]。本研究筛选的菌株 CMC-1 的 D/d 值为 2.1,但其以羧甲基纤维素钠为底物检测的内切葡聚糖酶活力仅为 35.0 U/mL(6 d),显著低于 β -葡萄糖苷酶(169.7 U/mL, 8 d)和木聚糖酶(207.2 U/mL, 4 d)的活力。固体培养基上的宏观降解表型(D/d 值)与液体发酵体系中内切葡聚糖酶测定的活力大小之间的差异,推测其原因可能是菌株在不同的培养环境条件下其诱导产生不同种类和含量的降解酶所致,羧甲基纤维素钠-刚果红染色实验中,唯一碳源只有羧甲基纤维素钠,菌株为了生存在该条件大量产生分解羧甲基纤维素钠的内切葡聚糖酶,因此,宏观 D/d 值降解表型显著。

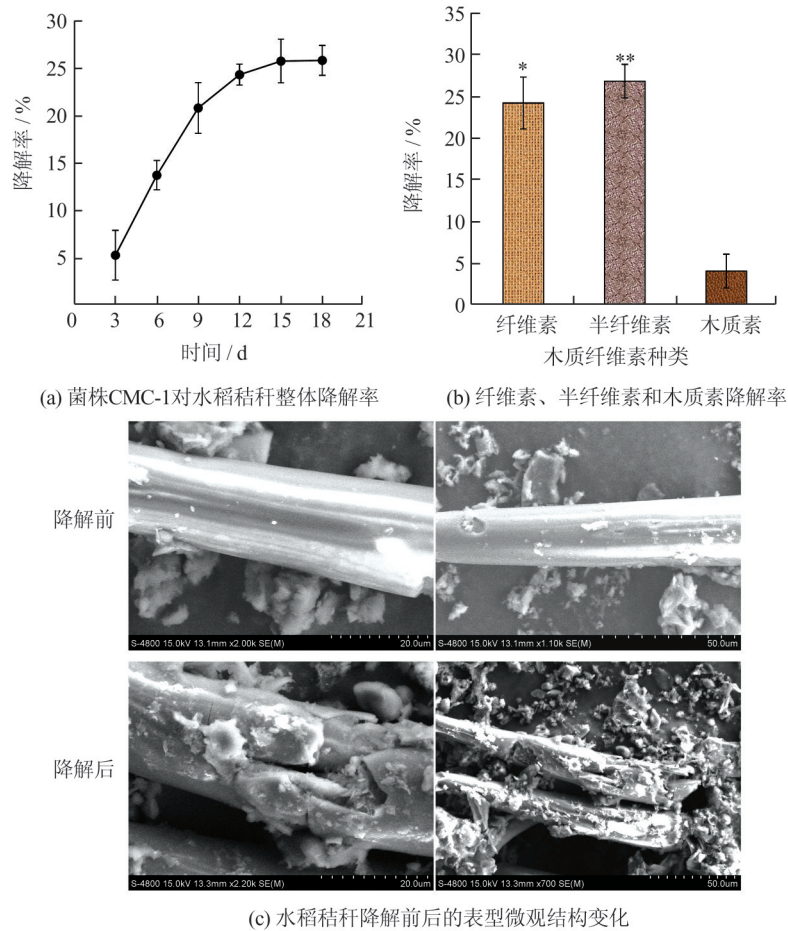


图8 菌株CMC-1对水稻秸秆的降解效果

Figure 8 Degradation effect of strain CMC-1 on rice straw

注:**表示差异极显著;*表示差异显著;空白为差异不显著。

Note: ** indicates extremely significant difference; * indicates significant difference. Blank space indicates no significant difference.

而在液体产酶发酵条件下,唯一碳源是微晶纤维素和麸皮,菌株CMC-1的偏好特征可能是优先合成高活性的木聚糖酶和 β -葡萄糖苷酶从复杂碳源中获取营养物质。总之,这一现象提示,评价微生物的降解能力需结合多维度筛选指标进行综合分析,而非依赖单一条件下的表型特征。值得注意的是,本课题组前期筛选的纤维素降解菌虽普遍具有较高的内切葡聚糖酶活力,但秸秆整体降解效率却偏低(数据未展示)^[24]。这一现象也揭示了单一类别高活力的纤维素酶在秸秆降解中存在一定的局限性,难以在整体上起到高效的降解效果,而三类纤维素酶合适的配比、协同作用是充分破解秸秆木质纤维素抗降解性的核心机制^[30-31]。本研究发现 Cu^{2+} 对聚多曲霉CMC-1分泌的内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶、 β -葡萄糖苷酶及木聚糖酶的活性均具有显著促进作用,在酶促反应体系中可通过适量添加 Cu^{2+} 以提升复合酶系的整体催化效率。但是,关于 Cu^{2+} 具体的激活作用机制鲜有报道,后续可从酶分子结构与底物的相互作用等多层面

深入剖析 Cu^{2+} 的激活机制,为优化木质纤维素生物转化工艺、提高生物能源及生物基产品生产效率提供理论支撑。相反,外界环境中的 Mn^{2+} 对CMC-1合成的纤维素酶和半纤维素酶活力表现出极显著的抑制效应。因此,在酶促反应过程中需尽量规避 Mn^{2+} 对酶学活性的干扰。

降解菌对秸秆的降解效率除了与菌株自身有关,同时与秸秆的种类(玉米、水稻、小麦等)、处理方式(摇瓶、堆肥、农田施用等),以及降解率的计算方式等有很大的关系。一般摇瓶振荡培养处理方式秸秆降解率在6%~40%^[32-33],本文筛选的降解菌降解效率处于中等水平(25.8%);土壤深埋腐解实验、堆肥快腐实验、农田直接施用等方式的秸秆降解率可达到60%^[34];由于秸秆降解需多种酶系协同参与,单一菌株很难完全降解秸秆,当前构建复合菌系已经成为研究趋势,可使秸秆降解率提升至85%以上^[35]。农作物秸秆的木质素与纤维素、半纤维素紧密结合是导致秸秆难降解的主要因素,本文筛选的聚多曲霉

CMC-1对于木质素分解作用较弱,后续可通过基因工程改造异源表达高活性木质素酶基因,或者与高活性木质素酶菌种复合共培养等方式突破瓶颈,进一步提升聚多曲霉对秸秆资源的降解效率。文献检索(中国知网)显示,当前对聚多曲霉的研究报道较少,尤其是聚多曲霉在农作物秸秆降解领域的应用研究稀缺,近5年文献主要聚焦其次级代谢产物分离与生物活性研究^[36-37]。本课题组将在对CMC-1菌株的发酵产酶工艺进一步优化的同时,对该菌株全基因组序列进行测序和深入地比较分析,挖掘潜在的纤维素酶和半纤维素酶基因,并进行克隆和表达研究。

筛选新型秸秆降解菌、建立多菌株复合降解菌群,以及采用分子生物学技术构建高效降解木质纤维素工程菌是解决农作物秸秆等生物质资源高效资源转化瓶颈的主要手段,当前依靠整合多组学分析-理性设计-合成生物学改造等手段,是实现从“盲目筛选”到“精准构建”跨越的主要策略。本课题组后续将通过转录组学和蛋白质组学手段阐释木质纤维素酶系组成与降解效率之间的联系,通过合成生物学手段强化或引入木质素降解酶基因,提高菌株对秸秆的整体降解效率。

4 结 论

本文从腐败水稻秸秆土壤中筛选出1株高效降解木质纤维素的聚多曲霉菌株CMC-1。该菌株具备较为完整的秸秆降解酶系:纤维素酶(内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶、 β -葡萄糖苷酶)和半纤维素酶(木聚糖酶),其中 β -葡萄糖苷酶与木聚糖酶表现出显著的酶活优势。降解数据显示,CMC-1对水稻秸秆整体降解效率达到了25.8%,其中纤维素和半纤维素降解效率分别为24.2%和26.9%,表明聚多曲霉CMC-1具有较高的秸秆降解能力,能够为秸秆生物质资源的高效转化利用提供极具潜力的优良备选菌种,有望在秸秆还田、生物秸秆饲料制备及生物能源生产等领域发挥重要作用。

致谢:感谢河北省医工融合盐碱地综合利用重点实验室为本实验提供的平台支撑;感谢课题组周文彤硕士提供的酶学活性测试技术的指导和帮助。

参考文献

- [1] Li H T, Miao Z, Zhang B. Review and prospect of comprehensive straw utilization and government policy in China [J]. Chinese Journal of Population, Resources and Environment, 2022, 20(4): 402-406.
- [2] 樊战辉, 杨琴, 李忠华, 等. 秸秆覆盖还田应用与展望 [J]. 四川农业科技, 2023(5): 12-14.
- [3] 姜春艳. 《2025中国农业农村低碳发展报告》发布 [J]. 乡村科技, 2025, 16(11): 1.
- [4] Jiang C Y. The report on low-carbon development of agriculture and rural areas in China in 2025 was released [J]. Rural Science and Technology, 2025, 16(11): 1.
- [5] Cong H B, Meng H B, Yu J D, et al. Analysis of long-term mechanism for development of straw industry in northeast China under guidance of 'Green-concept' [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2021, 37(13): 314-321.
- [6] Shi W J, Fang Y R, Chang Y Y, et al. Toward sustainable utilization of crop straw: greenhouse gas emissions and their reduction potential from 1950 to 2021 in China [J]. Resources, Conservation and Recycling, 2023, 190: 106824.
- [7] Liu L, Wang X, Wang Z G. Recent progress and emerging strategies for carbon peak and carbon neutrality in China [J]. Greenhouse Gases: Science and Technology, 2023, 13(5): 732-759.
- [8] Sun Z H, Bottari G, Afanasenko A, et al. Complete lignocellulose conversion with integrated catalyst recycling yielding valuable aromatics and fuels [J]. Nature Catalysis, 2018, 1(1): 82-92.
- [9] Zoghalmi A, Paës G. Lignocellulosic biomass: understanding recalcitrance and predicting hydrolysis [J]. Frontiers in Chemistry, 2019, 7: 874.
- [10] 张根, 陈宝锐, 陈涛, 等. 农作物秸秆木质纤维素生物降解酶及降解菌的研究进展 [J]. 农学学报, 2023, 13(2): 24-32.
- [11] Zhang G, Chen B R, Chen T, et al. Research progress on enzymes and microorganisms for biodegradation of lignocelluloses from crop straw [J]. Journal of Agriculture, 2023, 13(2): 24-32.
- [12] Ejaz U, Sohail M, Ghanemi A. Cellulases: from bioactivity to a variety of industrial applications [J]. Biomimetics, 2021, 6(3): 44.
- [13] 韩涛. 新型木质纤维素多功能水解酶的构建及其酶学性质测定 [D]. 昆明: 云南师范大学, 2024.
- [14] Han T. Construction of a novel multifunctional hydrolase from lignocellulose and determination of its enzymatic properties [D]. Kunming: Yunnan Normal University, 2024.
- [15] de Souza T S P, Kawaguti H Y. Cellulases, hemicellulases, and pectinases: applications in the food and beverage industry [J]. Food and Bioprocess Technology, 2021, 14(8): 1446-1477.

- [13] Kumar A, Chandra R. Ligninolytic enzymes and its mechanisms for degradation of lignocellulosic waste in environment [J]. *Heliyon*, 2020, 6(2): e03170.
- [14] Paul M, Shroti G K, Mohapatra S, et al. A comparative study on pretreatment of rice straw and saccharification by commercial and isolated cellulase - xylanase cocktails towards enhanced bioethanol production [J]. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*, 2024, 4(2): 731-749.
- [15] Kuhad R C, Gupta R, Singh A. Microbial cellulases and their industrial applications [J]. *Enzyme Research*, 2011, 2011(1): 280696.
- [16] Hsin K T, Lee H, Huang Y C, et al. Lignocellulose degradation in bacteria and fungi: cellulosomes and industrial relevance [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2025, 16: 1583746.
- [17] Chukwuma O B, Rafatullah M, Tajarudin H A, et al. A review on bacterial contribution to lignocellulose breakdown into useful bio-products [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, 18(11): 6001.
- [18] 宫秀杰, 钱春荣, 于洋, 等. 近年纤维素降解菌株筛选研究进展[J]. *纤维素科学与技术*, 2021, 29(2): 68-77.
- Gong X J, Qian C R, Yu Y, et al. Progress on screening of cellulose degrading strains in recent years [J]. *Journal of Cellulose Science and Technology*, 2021, 29(2): 68-77.
- [19] 姜伯玲, 王曙阳, 李文建, 等. 绿色木霉与黑曲霉混合发酵产纤维素酶的研究[J]. *中国酿造*, 2015, 34(7): 28-31.
- Jiang B L, Wang S Y, Li W J, et al. Cellulase production with mixed-culture fermentation of *Trichoderma viride* and *Aspergillus niger* [J]. *China Brewing*, 2015, 34(7): 28-31.
- [20] 付跃, 柳雨珠, 韦秋艳, 等. 绿色木霉和米曲霉混合固体发酵产纤维素酶的工艺条件[J]. *贵州农业科学*, 2019, 47(5): 61-65.
- Fu Y, Liu Y Z, Wei Q Y, et al. Process conditions for producing cellulase by solid fermentation of *Trichoderma viride* and *Aspergillus oryzae* [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2019, 47(5): 61-65.
- [21] Liu D Y, Zhang R F, Yang X M, et al. Thermostable cellulase production of *Aspergillus fumigatus* Z5 under solid-state fermentation and its application in degradation of agricultural wastes [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2011, 65(5): 717-725.
- [22] 孟建宇, 陈勿力吉玛, 郭慧琴, 等. 常温和低温纤维素降解菌的分离及其降解特性[J]. *农业生物技术学报*, 2021, 29(1): 73-84.
- Meng J Y, Chen W L J M, Guo H Q, et al. Isolation and degradation characteristics of cellulose-degradation bacteria at room and low temperature [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2021, 29(1): 73-84.
- [23] 孟庆山. 里氏木霉纤维素酶基因转录调控因子鉴定及纤维素酶高产菌株构建[D]. 大连: 大连理工大学, 2019.
- Meng Q S. Identification of transcription factors controlling expression of cellulolytic enzymes in *Trichoderma reesei* and development of robust strains for improved cellulase production [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2019.
- [24] 尹守亮, 杨镡婴, 李秋园, 等. 一株高产纤维素酶真菌的分离与鉴定[J]. *纤维素科学与技术*, 2022, 30(2): 9-18.
- Yin S L, Yang Y Y, Li Q Y, et al. Isolation and identification of a high efficiency cellulose degrading fungus [J]. *Journal of Cellulose Science and Technology*, 2022, 30(2): 9-18.
- [25] 尹守亮, 杨镡婴, 徐黛云, 等. 一株高活性纤维二糖酶真菌的筛选与鉴定[J]. *华北理工大学学报(自然科学版)*, 2022, 44(3): 119-125.
- Yin S L, Yang Y Y, Xu D Y, et al. Screening and identification of filamentous fungus with higher cellobiase activity [J]. *Journal of North China University of Science and Technology (Natural Science Edition)*, 2022, 44(3): 119-125.
- [26] 尚洁, 潘锐, 杨自忠, 等. 木腐真菌共培养对玉米秸秆木质素降解率的影响[J]. *饲料研究*, 2023, 46(21): 84-89.
- Shang J, Pan R, Yang Z Z, et al. Effect of co-culture of wood-decay fungus on lignin degradation rate of corn straw [J]. *Feed Research*, 2023, 46(21): 84-89.
- [27] 任强. 木质纤维素高效降解菌株的筛选及其在秸秆好氧堆肥中的强化作用[D]. 开封: 河南大学, 2023.
- Ren Q. Screening of high efficient lignocellulose degrading strain and its enhancement in straw aerobic composting [D]. Kaifeng: Henan University, 2023.
- [28] Allen F, Andreotti R, Eveleigh D E, et al. Mary elizabeth hickox mandels, 90, bioenergy leader [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2009, 2: 22.
- [29] 冉一智, 令狐美林, 马士晋, 等. 一株秸秆降解菌株的筛选及降解效果研究[J]. *贵州大学学报(自然科学版)*, 2024, 41(5): 118-124.
- Ran Y Z, Linghu M L, Ma S J, et al. Screening of a straw degradation strain and study on its degradation effect [J]. *Journal of Guizhou University (Natural Science)*, 2024, 41(5): 118-124.
- [30] Thapa S, Mishra J, Arora N, et al. Microbial cellu-

- lytic enzymes: diversity and biotechnology with reference to lignocellulosic biomass degradation [J]. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2020, 19(3): 621-648.
- [31] 乔慧艳, 石雅丽, 韩昊健. 微生物来源纤维素酶的研究进展[J]. *中国农业科技导报(中英文)*, 2025, 27(5): 21-38.
Qiao H Y, Shi Y L, Han H J. Research progress of cellulase derived from microorganisms [J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2025, 27(5): 21-38.
- [32] 杨艳华. 农作物秸秆高效降解菌的筛选与菌剂制备研究[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2020.
Yang Y H. Study on screening of efficiency straw-degrading strains and preparation of decomposed inoculants for crop straw [D]. Hangzhou: Zhejiang A & F University, 2020.
- [33] 冯欣欣, 李凤兰, 徐永清, 等. 新疆寒冷地区腐木中产纤维素酶菌株的筛选与低温产酶特性[J]. *浙江农业学报*, 2021, 33(8): 1468-1476.
Feng X X, Li F L, Xu Y Q, et al. Screening of cellulase producing strains from rotten wood in Xinjiang cold area and analysis of their characteristics of enzyme production at low temperature [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2021, 33(8): 1468-1476.
- [34] Cheng Y, Huang M Y, Shen X H, et al. Enhanced corn-stalk decomposition by a psychrotrophic bacterial consortium comprising cellulose, hemicellulose, and lignin degraders with biochar as a carrier for carbon neutrality[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 344: 126259.
- [35] 杨会敏, 李伟, 汪世华, 等. 高效腐解玉米秸秆耐低温真菌菌株的筛选及评价[J]. *菌物研究*, 2025, 23(3): 211-222.
Yang H M, Li W, Wang S H, et al. Screening and evaluation of fungal strains for efficient decomposition of corn straws at low temperature [J]. *Journal of Fungal Research*, 2025, 23(3): 211-222.
- [36] 蒋雅琴. 烟曲霉和聚多曲霉次生代谢产物及其生物活性研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2023.
Jiang Y Q. Studies on secondary metabolites of *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus sydowii* and their bioactivities [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2023.
- [37] 孙宇. 共培养诱导聚多曲霉产次级代谢产物及其机制的研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2022.
Sun Y. Induction mechanism and secondary metabolites in co-culture of *Aspergillus sydowii* [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2022.