

网络出版时间:2012-03-21 17:28

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20120321.1728.015.html>

# 纤维素降解菌的筛选与高效混合菌群的构建

冯 忻,裴宇航,周晓飞,解玉红

(天津理工大学 环境科学与安全工程学院,天津 300384)

**【摘 要】**【目的】从土壤中筛选纤维素降解菌,对其进行组合培养获得可高效降解纤维素的混合菌群,为微生物混合培养降解纤维素提供理论基础。【方法】采用刚果红纤维素琼脂平板培养基从土样中初步筛选纤维素降解菌,再以内切酶(CMC)、纤维素全酶(FPA)、外切酶( $C_1$ )和 $\beta$ -葡萄糖苷酶( $\beta$ -Gase)4种酶活性为指标进行复筛,对复筛获得的高效菌株进行组合培养,筛选高效组合菌群。对复筛后的菌株通过菌落和菌体形态进行初步鉴定。【结果】筛选获得了 y3、yi-71、ye-9、er-72 和 se-93 等 5 株活性较高的纤维素降解菌,对其进行组合培养,得到 1 个较好组合 ye-9/er-72/se-93,其 CMC、FPA、 $C_1$  和  $\beta$ -Gase 4 种酶活性分别为 3.18,1.67,1.08 和 1.12 U/mL,均比单菌株有一定程度提高。初步鉴定 ye-9、er-72、se-93 均为放线菌。【结论】组合菌群对纤维素的降解效果优于单一菌株。

**【关键词】** 纤维素;放线菌;混合菌群;纤维素酶活性

**【中图分类号】** TQ920.1

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1671-9387(2012)04-0155-06

## Screening of stalk cellulose-degrading microorganisms and construction of a microbial community with high capacity

FENG Xin, PEI Yu-hang, ZHOU Xiao-fei, XIE Yu-hong

(School of Environment Science and Safety Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin 300384, China)

**Abstract:** 【Objective】The cellulose-degrading bacteria were expected to be obtained from the soil, and get them mixed and cultured, then the microbial community degrading cellulose efficiently can be obtained to provide a theoretical basis on mixed fermentation between microorganisms. 【Method】Cellulose congo-red culture medium was used to screen soil samples, and then CMC, FPA,  $C_1$  and  $\beta$ -Gase were used to re-screen, by which the strains with high capacity were obtained. The strains were mixed cultured, and a microbial community with high capacity was screened. The strains were judged by the characteristics of the colony form and individual form. 【Result】Five strains that could decompose cellulose better were obtained from soil samples. Then they were cultured by mixed fermentation. The combination of ye-9/er-72/se-93 enhanced cellulase activities containing CMC, FPA,  $C_1$  and  $\beta$ -Gase to some degree, and the activity of CMC, FPA,  $C_1$  and  $\beta$ -Gase was 3.18, 1.67, 1.08 and 1.12 U/mL. The strains of ye-9, er-72 and se-93 were judged as actinomycetes preliminarily. 【Conclusion】The study found that the enzyme activity of the microbial community was higher than that from the fermentation of single bacteria.

**Key words:** cellulose; actinomycete; microbial community; cellulase activity

我国农作物秸秆资源丰富,据估计每年产量为 7 亿多吨<sup>[1]</sup>。纤维素作为农作物秸秆的主要成分,

是最丰富的可再生有机资源<sup>[2]</sup>。但是天然纤维素是晶体结构,且存在许多高能氢键,难以降解。细菌、

\* [收稿日期] 2011-10-19

[基金项目] 2009 年天津市自然科学基金重点项目(09JCZDJC26200);天津市科委自然科学基金项目(043611111)

[作者简介] 冯 忻(1961—),男,山东武城人,教授,硕士生导师,主要从事生物化学研究。E-mail:xfeng2100@tjut.edu.cn

真菌、放线菌等微生物对纤维素有一定的降解作用,其作用机理是微生物产生的一些酶可降解纤维素。细菌中酶活力较强的菌种有纤维杆菌属(*Culmol-noas*)、生孢纤维菌属(*sporocytophaga*)和梭菌属(*cellulomonas*)的细菌,目前研究最多的是纤维单胞菌(*Cellulomonas*)和热纤梭菌(*Clostridium thermo-cellum*)。细菌在降解纤维素的过程中,产生的纤维素酶量较少,大多不能分泌到细菌细胞外,且对结晶纤维素没有活性,纤维素降解能力明显低于真菌,因此细菌很少应用于工业生产中<sup>[3]</sup>。真菌对纤维素的降解作用较强,目前此方面的研究较多,尤其是对木霉属(*Trichoderma*)、曲霉属(*Aspergillus*)和青霉属(*Penicillium*)的报道最多<sup>[4]</sup>。放线菌虽种类不多,但分泌的胞外酶多数具有一定的耐碱性,在强碱性条件下仍能保持较高的活性<sup>[5]</sup>。由于多数霉菌具有致病性,因此放线菌正逐渐受到许多研究者的青睐<sup>[6]</sup>,目前研究较多的是高温放线菌。吴翔等<sup>[7]</sup>从高温稻草堆肥中分离到 1 株能降解纤维素的高温链霉菌,该菌株在比较适用的培养条件和价格比较低廉的培养基上即可对纤维素产生较好的分解效果。

在长期的实践中,人们发现一种微生物对纤维素的降解作用有限,多种微生物共同作用对纤维素的降解作用较强,因此微生物组合培养已越来越受到重视<sup>[8]</sup>。文少白等<sup>[9]</sup>以香蕉杆为唯一碳源培养无花果曲霉和康宁木霉,结果发现内切酶(CMC)和纤维素全酶(FPA)活性分别达到 947.41 和 115.27 U/mL,粗纤维降解率达到 29.08%,比 2 种菌单独培养时效果较好的无花果曲霉对香蕉杆粗纤维的降解率提高了 6.69%。

目前,对于从土壤中筛选出的纤维素降解菌,基本上都是以纤维素酶活性高低来判定菌株降解纤维素能力的大小,但是很多试验对酶活性的测定并不全面,大多只测定 CMC 和 FPA 的活性,这不能充分反映菌株降解纤维素的酶能力的大小。为此,本试验从土壤样品中筛选出纤维素降解菌株后,以 CMC、FPA、外切酶( $C_1$ )和  $\beta$ -葡萄糖苷酶( $\beta$ -Gase)4 种酶活性为指标进行复筛,得到高效纤维素降解菌,再将其进行组合培养,以期得到高效组合菌群,为微生物组合培养降解纤维素研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 土样及玉米秸秆 土壤样品采自天津理工大学主校区及其周边树丛 10~15 cm 深度土壤中。

玉米秸秆购自学校附近的程村,将玉米秸秆剪成 2~3 cm 小段,烘干后粉碎,过孔径 450  $\mu$ m 的筛,制成秸秆粉,备用。

1.1.2 培养基 CMC-Na 固体培养基:CMC-Na 15 g,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1 g, 酵母膏 1 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g, 琼脂 20 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 自然, 121  $^\circ\text{C}$  灭菌 20 min。

CMC-Na 液体培养基:CMC-Na 15 g,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1 g, 酵母膏 1 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 自然, 121  $^\circ\text{C}$  灭菌 20 min。

产酶培养基<sup>[10]</sup>:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.0 g, NaCl 0.1 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.3 g,  $\text{NaNO}_3$  2.5 g,  $\text{FeCl}_3$  0.01 g,  $\text{CaCl}_2$  0.1 g, 玉米秸秆粉 20 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 为 7.2~7.4。

保藏培养基:细菌用普通牛肉膏蛋白胨培养基;放线菌用高氏一号培养基。

### 1.2 方法

1.2.1 纤维素降解菌的初筛 取采集的土壤样品 2 g, 接种于已灭菌的盛有 50 g 玉米秸秆粉的 250 mL 三角瓶中, 于 30  $^\circ\text{C}$  条件下富集培养 20 d<sup>[11]</sup>。取 1 g 富集培养物于盛有 99 mL 无菌水的 250 mL 三角瓶中, 30  $^\circ\text{C}$  下于恒温振荡器上振荡(120 r/min) 45 min, 然后静置 30 min, 取上清液进行 10 倍梯度稀释, 将稀释度为  $10^{-6}$ ~ $10^{-8}$  的样液涂布于 CMC-Na 平板上, 每个稀释度重复 2 次, 在 30  $^\circ\text{C}$  条件下培养。待长出菌群后, 反复划线分离至长出单菌落。

将分离得到的单菌落接种于刚果红纤维素琼脂平板上, 30  $^\circ\text{C}$  恒温箱中培养 3 d, 测定菌落直径后, 用 1 mg/mL 的刚果红溶液染色 30 min, 再用蒸馏水清洗, 最后用 1 mol/L 的 NaCl 溶液脱色 30 min, 测定透明圈直径。以透明圈直径和菌落直径比值的大小作为筛选标准, 挑选比值较大的菌落再进行划线分离, 镜检确定菌落为纯的单菌体后, 接种于保藏培养基上保存。

1.2.2 纤维素降解菌的复筛 将初筛得到的菌株接种到 CMC-Na 液体培养基中, 于 30  $^\circ\text{C}$ 、120 r/min 下培养 2 d 获得均匀的种子, 然后按体积分数 2% 接种到液体产酶培养基中, 于 30  $^\circ\text{C}$ 、120 r/min 下培养, 每隔 24 h 取样测定 CMC、FPA、 $C_1$  和  $\beta$ -Gase 活性, 连续测定 7 d。将培养液于 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液即为粗酶液。CMC 和 FPA 活性测定参照我国轻工行业标准(QB 2583—2003)的方法进行;  $C_1$  和  $\beta$ -Gase 活性测定参照殷中伟<sup>[12]</sup>的方法进行。酶活力定义为 1 mL 酶液 1 min 水解底物生成

1  $\mu\text{mol}$  还原糖量为 1 个酶单位( $\text{U}/\text{mL}$ )<sup>[13]</sup>。

1.2.3 组合菌群对纤维素的降解作用  将复筛获得的纤维素高效降解菌进行组合培养,按体积比 1:1 接种,通过测定培养物的 CMC、FPA、 $\text{C}_1$  和  $\beta\text{-Gase}$  活性,筛选出最佳组合,并比较其与单菌株酶活性的差异。

1.2.4 纤维素降解菌的鉴定  观察筛选所获菌株的菌落形态和细菌个体形态,依据文献[14]对其进

行初步鉴定。

## 2 结果与分析

### 2.1 纤维素降解菌的初筛

在刚果红纤维素琼脂培养基上共筛选出有水解圈的菌株 21 株,以培养 3 d 后透明圈直径/菌落直径 $>2$  为标准,初步筛选获得 11 株纤维素降解菌(表 1)。

表 1 纤维素降解菌的初筛结果

Table 1 Transparent loop screening results of cellulose-degrading strains

| 菌落编号<br>Strain number | 菌落直径/mm<br>Colony zone | 透明圈直径/mm<br>Distinct zone | 透明圈直径/<br>菌落直径<br>Distinct/Colony | 菌落编号<br>Strain number | 菌落直径/mm<br>Colony zone | 透明圈直径/mm<br>Distinct zone | 透明圈直径/<br>菌落直径<br>Distinct/Colony |
|-----------------------|------------------------|---------------------------|-----------------------------------|-----------------------|------------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| y-3                   | 4                      | 12                        | 3.0                               | er-78                 | 2                      | 5                         | 2.5                               |
| yi-71                 | 6                      | 14                        | 2.3                               | sa-81                 | 3                      | 10                        | 3.3                               |
| yi-72                 | 4                      | 11                        | 2.75                              | se-2                  | 5                      | 11                        | 2.2                               |
| ye-8                  | 3                      | 9                         | 3.0                               | se-91                 | 7                      | 20                        | 2.9                               |
| ye-9                  | 4                      | 16                        | 4.0                               | se-93                 | 5                      | 19                        | 3.8                               |
| er-72                 | 5                      | 10                        | 2.0                               |                       |                        |                           |                                   |

### 2.2 纤维素降解菌的复筛

初筛获得的 11 株菌的酶活性见表 2。由表 2 可以看出,菌株 ye-9 和 se-93 的 CMC 活性较高,菌株 yi-71 和 er-72 的 FPA 活性较高,菌株 y3、yi-71 和 se-93 的  $\text{C}_1$  活性较高,菌株 ye-9 和 er-72 的  $\beta\text{-Gase}$  活性较高,因此确定 y3、yi-71、ye-9、er-72 和 se-93 为纤维素降解高效菌株。从各菌株的 4 种纤维素酶活性比较结果来看,不同菌株的同一种酶活

性各不相同,同一菌株的 4 种纤维素酶活性也存在较大差异,如 se-93 菌株的 CMC 活性在各菌株中最高,但  $\beta\text{-Gase}$  活性却较低;yi-71 的 FPA 和  $\text{C}_1$  活性均较高,但是  $\beta\text{-Gase}$  活性在 11 株菌中却是最低的。彻底降解天然纤维素需要各种酶的协同作用,这也是单一菌株对天然纤维素降解效率较低的主要原因。因此,在实际应用中,要提高菌株降解天然纤维素的能力,必须充分重视多种微生物之间的协同效应<sup>[15]</sup>。

表 2 不同纤维素降解菌株 CMC、FPA、 $\text{C}_1$  和  $\beta\text{-Gase}$  活性的比较

Table 2 Comparison of CMC,FPA, $\text{C}_1$  and  $\beta\text{-Gase}$  activity of different cellulose-degrading strains U/mL

| 菌株<br>Strain | CMC  | FPA  | $\text{C}_1$ | $\beta\text{-Gase}$ |
|--------------|------|------|--------------|---------------------|
| y3           | 2.37 | 1.04 | 0.94         | 0.94                |
| yi-71        | 0.66 | 1.27 | 0.86         | 0.34                |
| yi-72        | 1.53 | 0.92 | 0.50         | 0.58                |
| ye-8         | 0.80 | 0.70 | 0.62         | 0.43                |
| ye-9         | 2.93 | 1.25 | 0.56         | 1.07                |
| er-72        | 2.42 | 1.52 | 0.72         | 0.97                |
| er-78        | 0.96 | 1.14 | 0.53         | 0.56                |
| se-2         | 0.71 | 0.76 | 0.48         | 0.48                |
| sa-81        | 2.06 | 1.15 | 0.35         | 0.52                |
| se-91        | 1.08 | 1.22 | 0.78         | 0.54                |
| se-93        | 3.06 | 1.18 | 0.94         | 0.64                |

### 2.3 组合菌群纤维素酶活性的比较

由表 3 可以看出,组合培养可在一定程度上提高酶活性,其中组合 ye-9/er-72/se-93 的效果最明显。将组合 ye-9/er-72/se-93 的酶活性与单菌株酶活性进行比较,结果见表 4。由表 4 可以看出,ye-9/er-72/se-93 组合各种酶活性均比单菌株有所提高,其 CMC 活性较 ye-9、er-72、se-93 菌株分别提高了

8.53%,31.4%和 3.92%,FPA 活性分别提高了 33.6%,9.87%和 41.52%, $\text{C}_1$  活性分别提高了 92.86%,50.0%和 14.89%, $\beta\text{-Gase}$  活性分别提高了 4.67%,15.46%和 75.0%。组合菌群酶活性高于单一菌株的原因可能是,组合培养可以利用不同菌株作用效果的差异产生互补性,酶系比例协调,从而大大提高了发酵产酶能力<sup>[16-17]</sup>。由表 3 还可以看

出,有些组合酶活性反而降低,如 er-72/se-93、ye-9/y3、yi-71/ye-9/er-72/y3 等,组合 er-72/se-93 和 ye-9/y3 的 FPA 活性分别是 0.02 和 0.08 U/mL,几乎完全丧失,这可能是因为其菌株间相互拮抗,不能共存引起的,因此菌株之间的相容性是各菌株协同

作用的基础。微生物间的协同作用除存在于纤维素降解菌之间<sup>[18]</sup>外,还可能存在于纤维素降解菌与非纤维素降解菌之间<sup>[19]</sup>和可培养微生物与不可培养微生物之间<sup>[20]</sup>。

表 3 不同纤维素降解组合菌群纤维素酶活性的比较

| Table 3 Comparison of cellulase activity of different cellulose-degrading combinations |      |      |                | U/mL   |
|----------------------------------------------------------------------------------------|------|------|----------------|--------|
| 组合菌群<br>Combinations of strains                                                        | CMC  | FPA  | C <sub>1</sub> | β-Gase |
| yi-71/ye-9                                                                             | 3.27 | 1.10 | 0.58           | 0.46   |
| yi-71/er-72                                                                            | 0.90 | 0.72 | 0.74           | 0.36   |
| yi-71/se-93                                                                            | 0.72 | 0.45 | 0.38           | 0.19   |
| yi-71/y3                                                                               | 1.02 | 0.70 | 0.29           | 0.42   |
| er-72/se-93                                                                            | 0.41 | 0.02 | 0.37           | 0.36   |
| er-72/y3                                                                               | 1.15 | 0.40 | 0.23           | 0.27   |
| ye-9/er-72                                                                             | 3.07 | 1.43 | 0.51           | 0.49   |
| ye-9/se-93                                                                             | 3.09 | 1.16 | 1.12           | 0.54   |
| ye-9/y3                                                                                | 0.84 | 0.08 | 0.29           | 0.36   |
| se-93/y3                                                                               | 1.17 | 0.94 | 0.26           | 0.31   |
| yi-71/ye-9/er-72                                                                       | 2.07 | 1.19 | 0.55           | 0.63   |
| yi-71/ye-9/se-93                                                                       | 2.78 | 1.24 | 0.54           | 1.27   |
| yi-71/ye-9/y3                                                                          | 2.01 | 0.93 | 0.64           | 0.51   |
| yi-71/er-72/se-93                                                                      | 0.68 | 1.11 | 0.42           | 0.30   |
| yi-71/er-72/y3                                                                         | 1.87 | 1.39 | 0.45           | 0.46   |
| yi-71/se-93/y3                                                                         | 1.69 | 1.07 | 0.18           | 0.39   |
| ye-9/er-72/se-93                                                                       | 3.18 | 1.67 | 1.08           | 1.12   |
| ye-9/er-72/y3                                                                          | 1.90 | 1.45 | 0.55           | 0.53   |
| ye-9/se-93/y3                                                                          | 1.66 | 1.00 | 0.32           | 0.33   |
| er-72/se-93/y3                                                                         | 1.93 | 1.02 | 0.36           | 0.33   |
| yi-71/er-72/se-93/y3                                                                   | 1.81 | 0.61 | 0.41           | 0.35   |
| yi-71/ye-9/er-72/se-93                                                                 | 3.14 | 1.05 | 0.26           | 0.34   |
| yi-71/ye-9/er-72/y3                                                                    | 0.98 | 0.58 | 0.62           | 0.35   |
| yi-71/ye-9/se-93/y3                                                                    | 0.98 | 0.81 | 0.20           | 0.32   |
| ye-9/er-72/se-93/y3                                                                    | 0.93 | 0.76 | 0.51           | 0.28   |
| yi-71/ye-9/er-72/se-93/y3                                                              | 1.04 | 0.84 | 0.24           | 0.31   |

表 4 纤维素降解菌单菌株与组合菌群酶活性的比较

| Table 4 Comparison of the enzyme activity of cellulose-degrading strains and combination |      |      |                | U/mL   |
|------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|----------------|--------|
| 菌株或组合菌群<br>Strains and combination                                                       | CMC  | FPA  | C <sub>1</sub> | β-Gase |
| ye-9                                                                                     | 2.93 | 1.25 | 0.56           | 1.07   |
| er-72                                                                                    | 2.42 | 1.52 | 0.72           | 0.97   |
| se-93                                                                                    | 3.06 | 1.18 | 0.94           | 0.64   |
| ye-9/er-72/se-93                                                                         | 3.18 | 1.67 | 1.08           | 1.12   |

2.4 纤维素降解菌株的鉴定

对 ye-9、se-93 和 er-72 的菌落形态和菌丝进行观察,结果(图 1)显示其菌落形状均为圆形,正面白色,背面颜色则不一致,其中 ye-9 背面呈绿色,se-93 背面呈乳黄色,而 er-72 背面仍是白色。ye-9 菌丝纤细、无隔,菌丝体发达,孢子丝为螺旋形;er-72 菌丝顶端弯曲或呈钩状;se-93 菌丝纤细,并且较直。依据菌落形态和菌体形态,初步鉴定这 3 株菌都是放线菌。

3 讨 论

天然纤维素结构复杂,单一菌株对其的降解效果不理想,但通过微生物组合培养构建菌群,则可以明显提高其降解率。本试验通过构建菌群得到一个菌种组合 ye-9/er-72/se-93,该组合 CMC、FPA、C<sub>1</sub> 和 β-Gase 酶活性均得到有效提高。由于该组合是在常温条件下获得的,具有实际应用的优势,为生产实践奠定了重要基础,为实现农业可循环发展提供

了物质条件<sup>[21]</sup>。菌株 ye-9、er-72 和 se-93 是通过分离纯化得到的,其组合后的稳定性、菌株之间的关系及最适发酵条件等还有待于进一步研究。通过对菌

体和菌落形态的观察,初步鉴定 ye-9、er-72 和 se-93 均为放线菌,但对于其准确的分类还需要进一步进行分子鉴定。

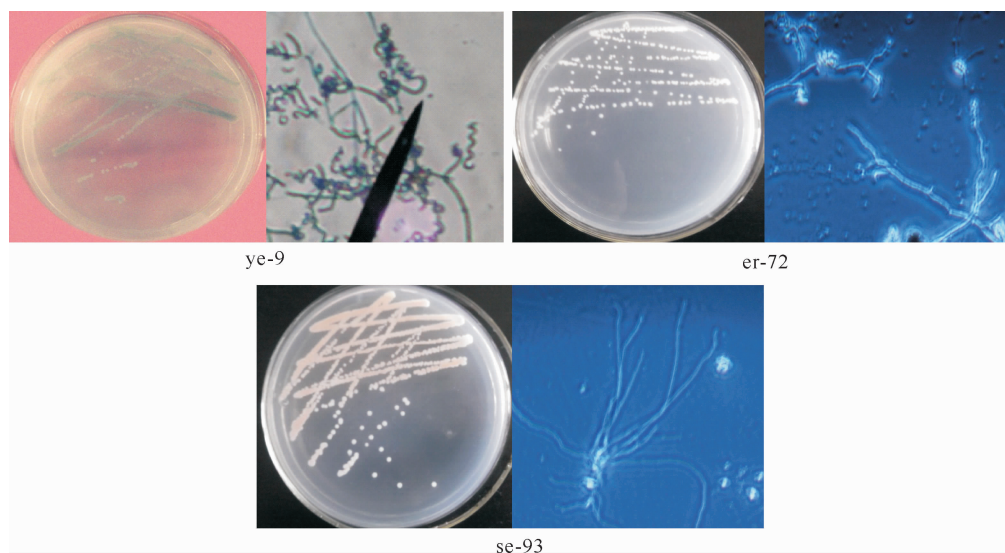


图 1 纤维素降解菌 ye-9、er-72 和 se-93 的菌落形态和菌体形态特征(×400)

Fig. 1 The characteristics of the colony form and individual form of ye-9,er-72 and se-93 strains (×400)

## 4 结 论

1) 通过对玉米秸秆降解过程中 CMC、FPA、C<sub>1</sub> 和  $\beta$ -Gase 活性的测定,筛选出 yi-71、ye-9、er-72、se-93和 y3 5 株高效纤维素降解菌株。

2) 将 5 株菌株进行组合培养,通过对酶活性的测定比较,得到一个效果最好的菌群组合 ye-9/er-72/se-93。

3) 依据菌落形态及菌体形态特征,初步鉴定 ye-9、er-72 和 se-93 均为放线菌。

## 【参考文献】

[1] 魏亚琴,邵建宁,麻和平,等. 纤维素酶高产菌的筛选和鉴定 [J]. 食品与机械,2010,26(5):16-21,25.  
Wei Y Q,Shao J N,Ma H P,et al. Screening and identification of a high-yield cellulase strain [J]. Food & Machinery,2010,26 (5):16-21,25. (in Chinese)

[2] Adsul M G,Bastaw de K B,Varma A J, et al. Gokhale DV strain improvement of *Penicillium janthinellum* NC IM 1171 for increased cellulase production [J]. Bioresource Technology, 2007,98(7):1467-1473.

[3] 熊冬梅,周红丽. 纤维素降解菌群的研究进展 [J]. 酿酒科技, 2011(5):94-97.  
Xiong D M,Zhou H L. Research progress in cellulose-degrading bacteria community [J]. Liquor-Making Science & Technology,2011(5):94-97. (in Chinese)

[4] 甄 静,王继雯,谢宝恩,等. 一株纤维素降解真菌的筛选、鉴定及酶学性质分析 [J]. 微生物学通报,2011,38(5):709-714.

Zhen J,Wang J W,Xie B E, et al. Isolation,identification of a cellulase-producing strain and characterization of its cellulase-producing capability [J]. Microbiology China,2011,38(5):709-714. (in Chinese)

[5] Sudeep P G,Absar A,Mala B R. Studies on carboxymethyl cellulase produced by an alkalothermophilic actinomycete [J]. Bioresource Technology,2001,77(2):171-175 .

[6] 蒋小武,朱乐欣. 纤维素分解菌应用研究进展 [J]. 营养与日粮,2011(4):28-31.  
Jiang X W,Zhu L X. Research progress in application in cellulose-decomposing microorganisms [J]. Livestock and Poultry Industry,2011(4):28-31. (in Chinese)

[7] 吴 翔,陈 强,甘炳成. 一株降解纤维素放线菌的分类研究 [J]. 微生物学杂志,2009,29(3):64-66.  
Wu X,Chen Q,Gan B C. Classification of a cellulose-degradable actinomyces strain [J]. Journal of Microbiology,2009,29(3): 64-66. (in Chinese)

[8] 李 雯,洪 艳,侯红萍. 纤维素酶高产菌株的研究进展 [J]. 酿酒科技,2009(8):105-106,111.  
Li W,Hong Y,Hou H P. Research progress in cellulase high-yield strains [J]. Liquor-Making Science & Technology,2009 (8):105-106,111. (in Chinese)

[9] 文少白,张桂花,李勤奋,等. 五种菌对香蕉茎秆纤维素降解能力比较及菌群构建 [J]. 环境科学与技术,2011,34(3):46-49.  
Wen S B,Zhang G H,Li Q F, et al. Comparative study of bacterial abilities to degrade cellulose of banana stem and construction of composite microbial system [J]. Environmental Science & Technology,2011,34(3):46-49. (in Chinese)

[10] 卢月霞,吕志伟,袁红莉,等. 纤维素降解菌的筛选及其混合发酵研究 [J]. 安徽农业科学,2008,36(10):3952-3953.

- Lu Y X,Lü Z W,Yuan H L,et al. Research on the screening and mixed fermentation of cellulose-decomposing microorganisms [J]. Journal of Anhui Agri Sci, 2008, 36 (10): 3952-3953. (in Chinese)
- [11] 李慧君,杜双田,孙 婷,等. 纤维素分解菌的筛选及玉米秸秆降解 [J]. 西北农业学报,2010,19(8):74-79.  
Li H J,Du S T,Sun T,et al. Screening of cellulose decomposer and study of corn straw degradation [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2010, 19 (8): 74-79. (in Chinese)
- [12] 殷中伟. 秸秆纤维素高效降解菌株与复合系的筛选鉴定及其对秸秆降解效果研究 [D]. 北京:中国农业科学院,2010.  
Yin Z W. Screening,identification of high effective straw cellulose-degrading strains and microbial community and their effects on crop straw degradation [D]. Beijing,Chinese Academy of Agricultural Sciences,2010. (in Chinese)
- [13] 刘 洁,李宪臻,高培基. 纤维素酶测定方法评述 [J]. 工业微生物,1994,24(4):27-32.  
Liu J,Li X Z,Gao P J. Evaluation of method in cellulase measurement [J]. Industrail Microbiology,1994,24(4):27-32. (in Chinese)
- [14] 阎逊初. 放线菌的分类和鉴定 [M]. 北京:科学出版社,1992.  
Yan X C. The classification of ray and identification [M]. Beijing:Science Press,1992. (in Chinese)
- [15] 李 平,王焰新,刘 琨,等. 高效纤维素降解菌系的构建 [J]. 地球科学-中国地质大学学报,2009,34(3):533-538.  
Li P,Wang Y X,Liu K,et al. Construction of a microbial system for efficient degradation of cellulose [J]. Earth Science-Journal of China University of Geosciences,2009,34(3):533-538. (in Chinese)
- [16] 张伟兴,马艳玲,霍玉鹏. 混合菌发酵玉米秸秆生产菌体蛋白饲料的研究 [J]. 饲料研究,2000,19(6):5-8.  
Zhang W X,Ma Y L,Huo Y P. Study on production of somatic protein feed from corn stalk by mixed bacteria fermentation [J]. Feed Research,2000,19(6):5-8. (in Chinese)
- [17] 张晓伦,刘 旭,饶泽昌. 高效纤维素分解菌混合培养及其降解能力 [J]. 南昌大学学报:理科版,2005,29(5):500-502.  
Zhang X L,Liu X,Rao Z C. The mixed culturing and ability of cellulolytic microbes [J]. Journal of Nanchang University: Natural Science,2005,29(5):500-502. (in Chinese)
- [18] 冯玉杰,李冬梅,任南琪. 混合菌群用于纤维素糖化和燃料酒精发酵的试验研究 [J]. 太阳能学报,2007,28(4):375-379.  
Feng Y J,Li D M,Ren N Q. Study on saccharification and fermentation of lignocellulose to ethanol using mixed microbial species [J]. Acta Energiæ Solaris Sinica, 2007, 28 (4): 375-379. (in Chinese)
- [19] Kato S,Haruta S,Cui Z J,et al. Effective cellulose degradation by a mixed-culture system composed of a cellulolytic clostridium and aerobic non-cellulolytic bacteria [J]. FEMS Microbiology Ecology,2004,51:133-142.
- [20] Haruta S,Cui Z J,Huang Z,et al. Construction of a stable microbial community with high cellulose-degradation ability [J]. Apply Microbiol Biotechnol,2002,59:529-534.
- [21] 刘长莉,王小芬,郭 鹏,等. 常温秸秆还田菌群的筛选及分解稻秆特性研究 [J]. 中国农业科学,2010,43(1):105-111.  
Liu C L,Wang X F,Guo P,et al. Construction of a normal temperature straw-rotting microbial community and its character in degradation of rice straw [J]. Scientia Agricultura Sinica,2010,43(1):105-111. (in Chinese)