

一种降解秸秆的丝状真菌的分离和定性方法

刘保平, 王宏燕

(东北农业大学资源与环境学院, 寒地黑土利用与保护重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:建立了一种新的简单的分离秸秆降解丝状真菌的方法, 用此方法从东北寒地黑土中分离出真菌 56 株, 其中丝状真菌 46 株。这种分离方法简述为: 先用土壤或者堆肥浸渍秸秆至接近腐烂, 再用酒精对接近腐烂秸秆进行表面灭菌, 最后用土豆葡萄糖琼脂培养基培养并分离秸秆中微生物, 这样分离的微生物大多为产丝真菌。用添加或者不添加硝酸铵、酵母粉和黑土浸液等辅助物的秸秆粉制成不同培养基, 这些培养基用来比较其对分离的微生物的生长影响。结果表明, 同一微生物在不同培养基中生长区别很小, 同一培养基不同微生物生长区别较大。选择了只含秸秆粉而不添加辅助物的培养基作为微生物是否降解秸秆的定性培养基, 对分离的 56 株真菌以水稻、大豆和玉米 3 种秸秆进行降解定性鉴定, 结果显示: 该方法筛选的 46 株丝状真菌都能降解 3 种供试秸秆。

关键词: 秸秆降解; 丝状真菌; 分离方法; 定性方法

中图分类号: X172 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2009)03-0559-05

A Method for Isolate and Determine Filamentous Fungi That Could Degrade Stalks

LIU Bao-ping, WANG Hong-yan

(Resources and Environmental Sciences College, Northeast Agricultural University, Key Laboratory for Black Soil Utilization and Protection in Frigid Zone, Harbin 150030, China)

Abstract: A new simple method to isolate filamentous fungi that could degrade stalks were built. Fifty-six strains of fungi include 46 strains of filamentous fungi were isolated from the black soil in the northeast frigid zone in China by the method. The isolation method could be summarized as: Stalks were nearly rotten after being covered with soil or compost suspension for a few days, ethanol were used to disinfect the surface of the stalks, the culture medium (Potato Dextrose Agar, PDA) were used to isolate the microorganisms in the stalks, most of the microorganisms isolated by the method are filamentous fungi. Three dry stalks include straw, soybean stalk and corn stalk are collected to be pulverized to made stalk powder. Stalk powder added with different matter (NH_4NO_3 , yeast abstract, black soil solution) or not were recruited to made solid culture media to compare the growth of the microorganisms isolated. Results showed that there are little differences between the growth of the same strain on different media but varified differences between the growth of the different strains on the same medium. The simple medium made by stalk powder without any of the adding matters were chosen to determine whether the three stalks were degraded by the 56 strains of fungi. Results showed that all of the 46 strains of filamentous fungi isolated by the method could degrade the three stalks.

Keywords: stalk degradation; filamentous fungi; method of isolation; method of determination

秸秆具有资源丰富, 来源广泛, 资源化利用率低, 研究开发潜力大等特点而成为科研热点之一^[1-15]。我国秸秆资源约占世界秸秆的 30% 左右, 每年约产秸秆近 6 亿 t, 45%~47% 作为农村燃料, 15% 以烧荒形式烧掉, 只有很少一部分过腹还田或直接还田^[1-3]。黑龙

江省是农业大省, 耕地面积 1 177.30 万 hm^2 , 占全国耕地总面积的 9.05%, 主要种植作物有水稻、大豆、玉米等, 但长期密集耕作导致寒地黑土退化的同时, 每年产生大量秸秆被以烧荒等形式浪费。利用微生物降解秸秆, 从而促进秸秆还田, 修复退化黑土是保护性耕作寒地黑土的主要途径之一^[8-10]。秸秆主要是由木质素、纤维素、半纤维素等聚结的致密的碳水化合物结晶结构以及少量蛋白质、脂肪、木质素、醇类、醛、酮和有机酸等组成^[7, 12]。纤维素降解菌的筛选方法主要有: 纤维素选择培养基法、纤维素刚果红培养基法

收稿日期: 2008-06-13

基金项目: 国家 863 项目 (20060110z4023)

作者简介: 刘保平 (1976—), 男, 湖北红安人, 讲师, 博士研究生, 主要从事微生物学、作物生态学等方面的教学和科研。

通讯作者: 王宏燕 E-mail: wanghongyan@neau.edu.cn

等^[6,13,15]。传统的木质纤维素降解菌的筛选方法都需经过初筛、复筛等步骤^[6-7,11,14]。本文介绍了新建立的一种分离秸秆降解丝状真菌的方法,摸索了一种新的鉴定真菌降解秸秆的定性方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试黑土土样

取自黑龙江省哈尔滨市东北农业大学香坊农场(典型寒地黑土地),水稻、大豆和玉米3种秸秆受赠于黑龙江哈尔滨靠河寨养牛场。

1.1.2 真菌分离、保藏培养基

PDA(土豆葡萄糖琼脂培养基)成品32g,琼脂粉(Agar)8g;对真菌进行降解秸秆定性试验的系列培养基组分有:粉碎秸秆10g, NH_4NO_3 1g,酵母粉1g,黑土土壤浸液10mL,琼脂粉20g。以上培养基成分均为定容至1000mL的量,实际配制时根据需要换算成需要的量,称完药品后用双蒸水定容,摇匀,121℃湿热灭菌30min。粉碎秸秆分别为水稻、大豆和玉米秸秆粉碎后各称取10g,混合秸秆为3种粉碎秸秆各3.33g混合。

1.1.3 塑料盆规格

24cm×18cm×6cm。微型高速万能试样粉碎机由北京市永光明医疗仪器厂生产。

1.2 方法

1.2.1 黑土土壤浸液配制法

10g黑土置于250mL三角瓶中,注入100mL水振荡($100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)20min,过滤后分装灭菌密封待用。

1.2.2 粉碎秸秆方法

将水稻、大豆和玉米剪成2~5cm长的小片段后用微型高速万能试样粉碎机粉碎,过10目(孔径1mm)筛子待用。

1.2.3 秸秆黑土腐熟培育方法

大豆、水稻、玉米秸秆剪成10~20cm长若干,各取100g左右分别铺满3个塑料盆底部,装入黑土,使秸秆表面2/3面积覆盖黑土,其余1/3面积不被黑土覆盖,浇自来水使黑土及秸秆渍水,在培育的时间内,观察露出1/3面积秸秆颜色及腐熟情况,适当浇水保持黑土及秸秆的渍水湿度。

1.2.4 丝状真菌分离方法

95%乙醇25mL左右倒入灭菌空白平皿,自来水清洗已经变为黑褐色或者其他颜色的半腐熟秸秆,剪成1~3cm长小片段,将半腐熟秸秆小片段用灭菌金

属镊子转入装有酒精的平板中,使之浸入乙醇中。水稻秸秆浸30s,大豆秸秆浸60s,玉米秸秆浸90s后取出转入新的灭菌平皿内侧,待表面酒精晾干(5~10min)后用灭菌金属镊子转入PDA固体培养基平皿中,用塑料薄膜密封平皿,将平皿顺置培养8d后倒置培养5~10d,在生长真菌菌落边缘挑取小块菌落,转入PDA固体培养基平皿中培养,若发现生长有杂菌,挑取菌落边缘转入新的装有PDA固体培养基的平皿中继续纯化。

1.2.5 分离的真菌编号

依据分离真菌的秸秆以及分离的顺序对真菌进行编号。从水稻秸秆上分离的真菌分别编号为R01, R02, … R_n;从大豆秸秆上分离的真菌分别编号为S01, S02, … S_n;从玉米秸秆上分离的真菌分别编号为M01, M02, … M_n。

1.2.6 降解秸秆定性试验培养基组合方法

分别用3种秸秆按照表格差异设计的配方配制培养基(表1~3),将培养基和平皿灭菌后倒皿,每个皿倒入培养基18mL左右,待平皿内的培养基冷却后,接种所选菌株于装有相应培养基的平皿中心,用塑料薄膜密封,28℃培养,观察真菌生长情况。本试验重复2次。

1.2.7 接种培养方法

用PDA固体平板活化菌种,挑取相应平板上的带菌种的小块培养基(1~3mm²)接种于相应的平板培养基上,用塑料薄膜密封,28℃培养,观测相应的真菌生长情况,接种后10d左右,对于在相应培养基上能生长的菌种,测其直径和估算厚度。

1.2.8 真菌厚度估算方法

设3个对照(CK),CK1为仅由琼脂粉配制,CK2为琼脂粉+土液+硝酸铵+酵母粉,CK3为琼脂粉+PDA。CK1培养基中各菌都不生长(对依靠接种带入的少量培养基生长蔓延的少量菌丝标记为“不生长”),用“-”表示,在CK3上生长良好菌落厚度最大的记为“++++”,处于中间情况的分4个等级分别记为:“+”表示“隐约可见生长”;“++”表示“可见稀薄生长”;“+++”表示“菌落明显可见且菌落较密”;“++++”表示“菌落盖满生长区且菌落较厚”。

2 结果与讨论

2.1 真菌的分离

用黑土培育的秸秆在15d时已经呈现半腐烂状态,表面黑褐色,有的秸秆表面长出白色的毛,用本文

前面描述的方法,每种秸秆接种 5 个 PDA 平皿,每个平皿中接入 3 个秸秆小片段,接入的秸秆小片段在 PDA 平板中培养的前 5 d 内见不到微生物菌落生长或者生长不明显,5~8 d 后陆续可见真菌菌落。根据菌落形态差异,用 PDA 培养基分离出真菌 56 株,分别为:R01~19,S01~13,M01~24,其中丝状真菌 46 株,其他 10 株分别为 M03,M09,M10,M11,M12,R10,R12,R17,R18,R19。

2.2 降解秸秆定性培养基选择与比较

从分离的 56 株菌种中选出 8 株形态差异较大、生长较快的菌株,试验其在不同营养成分组合的培养基上的生长情况(表 1)。

结果表明,各个菌株均不能在仅有琼脂粉的培养基上生长,但是能在含有秸秆粉的培养基上较好生长而无论是否含有硝酸铵、酵母粉、土液等,在没有秸秆粉但有酵母粉的培养基上也能生长,只是生长相对较慢。

同时分别用水稻和玉米两种秸秆代替大豆秸秆作平行试验(表 2)。

结果表明,同一菌株分别在含有 3 种秸秆的培养基中生长的差异较小,不同菌株在同一培养基上的生长存在较大差异,表现出一定的多样性。

2.3 降解秸秆定性试验

选取秸秆粉+琼脂粉的培养基对分离的 56 株菌中除上述 8 株菌株外的其他 48 株菌也进行了秸秆降解定性试验(表 3)。结果表明,除 M03 和 R10 在玉米秸秆培养基上没有发现生长外,所有供试菌株在分别含有 3 种秸秆之一的培养基上都可见生长现象,38 株丝状真菌在 3 种秸秆的培养基上都具有明显生长;10 株非丝状菌株在含 3 种秸秆的培养基上生长时直径增长较慢(不超过 1 cm),从不同秸秆上分离的菌株对 3 种秸秆都具有降解作用,各菌株在含 3 种秸秆的培养基上生长的差异较小,菌株之间的生长差异较大,具有一定多样性。

表 1 8 株真菌在含有大豆秸秆的不同营养成分组合的培养基上的生长情况

Table 1 Growth status of the eight stains of fungi on the media of different combination of nutrient components include soybean stalks

菌株代号	S01	S03	S04	R01	R02	R03	R04	R07
琼脂粉(CK1)	0*	0	0	0	0	0	0	0
琼脂粉+大豆秸秆	3.7++**	7.0++	4.2++	7.5++	1.0++	5.5+	6.2++	1.0+++
琼脂粉+大豆秸秆+土液	3.7++	7.0++	4.2++	7.5++	1.0++	7+	7++	1.8+++
琼脂粉+大豆秸秆+土液+硝酸铵	3.8++	8.0++	4.0++	7.5+++	2.5+++	6.6++	7.2+++	2.3+++
琼脂粉+大豆秸秆+土液+硝酸铵+酵母粉	3.7++	8.0++	4.5++	7.5+++	2.5++	8++	7.5+++	2.4+++
琼脂粉+土液+硝酸铵+酵母粉(CK2)	3.7++	5.5+	5.0+	7.5+	2.0+	7.5+	6.0++	1.8+
琼脂粉+PDA(CK3)	4.0+++	8.0+++	6.2+++	8.5++++	2.8++++	8.2++	7.2++++	2.5++++

注:*,菌落生长直径为 0 cm,厚度为 0 cm;**,菌落直径 3.7 cm,菌落厚度为“可见稀薄生长”;下同。

Note:*,Diameter of the colony is 0 cm,thickness is 0 cm;**,Diameter of the colony is 3.7 cm,thickness is “only visible”;so as the following.

表 2 8 株真菌在含有玉米或水稻秸秆的不同组合营养成分的培养基上的生长情况

Table 2 Growth status of the eight stains of fungi on the media of different combination of nutrient components include maize stalks or straw

菌株代号	S01	S03	S04	R01	R02	R03	R04	R07
琼脂粉(CK1)	0	0	0	0	0	0	0	0
琼脂粉+玉米秸秆	3.8++	8.0+	3.0+	8.5+	1.0++	6.0+	5.0+	1.5+++
琼脂粉+玉米秸秆+土液	4.0++	8.0+	3.5++	8.5+	1.0++	6.0+	5.0+	1.5+++
琼脂粉+玉米秸秆+土液+硝酸铵	4.0++	8.0+	4.5++	8.5+++	2.5+++	8.5+	5.8+++	1.5+++
琼脂粉+玉米秸秆+土液+硝酸铵+酵母粉	4.0++	8.0++	5.3++	8.5+++	2.5++	8.0+	6.6+++	2.0+++
琼脂粉+水稻秸秆	4.5+++	8.0+	5.5++	8.5+++	2.2++	8.0+	5.5++	2.0+++
琼脂粉+水稻秸秆+土液	4.5+++	8.0+	5.5++	8.5++	2.2++	7.0+	5.2++	2.5+++
琼脂粉+水稻秸秆+土液+硝酸铵	4.8+++	8.0+	5.0+++	8.5+++	2.2++	8.0++	6.0++	3.5+++
琼脂粉+水稻秸秆+土液+硝酸铵+酵母粉	5.0+++	8.0+	5.0+++	8.5++++	2.2+++	8.5++	8.5+++	3.5+++
琼脂粉+土液+硝酸铵+酵母粉(CK2)	3.8++	5.0++	5.2+	8.5++	2.5+	7.0+	6.0++	2.0+
琼脂粉+PDA(CK3)	4.0+++	8.0+++	6.0+++	8.5++++	3.0++++	8.5++	7.0++++	2.0++++

表 3 48 株菌分别在含有 3 种秸秆之一的培养基上的生长情况

Table 3 Growth status of the forty-eight stains of fungi on the media which components include one of the three stalks

菌株代号	M01	M02	M03	M04	M05	M06	M07	M08
琼脂粉+大豆秸秆	7.5+	7.0++	0.5+++	6.5+	8.5++	7.0++	5.5++	8.0++
琼脂粉+玉米秸秆	5.5+	7.0+++	0	7.0+	6.0++	8.0++	5.0++	8.0++
琼脂粉+水稻秸秆	5.5+	8.0++	0.5+++	8.0+	8.5++	8.0+++	8.0+	8.0++
菌株代号	M09	M10	M11	M12	M13	R05	R06	R08
琼脂粉+大豆秸秆	0.5+	0.5+++	0.5++++	0.5++	3.5++	7.5+	3.0+++++	3.5+++++
琼脂粉+玉米秸秆	0.5+++	0.5+++	1.0++++	0.5++	3.5+++	7.5++	2.5+++++	3.5+++++
琼脂粉+水稻秸秆	1.0+	0.5+++	0.5++++	0.5++	4.0++	7.0+	3.5+++++	3.5+++++
菌株代号	R09	R10	R11	R12	R13	R14	R15	R16
琼脂粉+大豆秸秆	8.0+	0.5++	8.5++++	0.5++++	6.0+++	6.5+++	5.0+	8.0+++
琼脂粉+玉米秸秆	6.0+	0	8.5++	0.5++++	7.0+++	6.0+++	5.0+	8.0+++
琼脂粉+水稻秸秆	8.0+	1.5++	8.5++++	0.5++++	5.5+++	5.0+++	5.0+	8.5+++
菌株代号	R17	R18	R19	S02	S05	S06	S07	S08
琼脂粉+大豆秸秆	0.5++	0.5++++	0.5+	8.0+++	8.5+++	8.0+	5.0+	6.0+
琼脂粉+玉米秸秆	1.0++	0.5++++	0.5+	8.0+++	6.0+++	3.0+++	3.5+++	5.0+
琼脂粉+水稻秸秆	0.5++	0.5++++	0.5+	7.5++	8.0++	8.0+	6.0+	8.0+
菌株代号	S09	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16
琼脂粉+大豆秸秆	5.0+++	4.5++	6.0++	2.5+++++	4.5++	7.5++	5.5++	5.5++
琼脂粉+玉米秸秆	5.0++++	8.5++	4.0+++	2.5+++++	6.0++	8.0+	6.0+++	6.0+++
琼脂粉+水稻秸秆	6.0++++	7.0++	6.0+	2.5+++++	4.0++	8.0++	5.5+++	5.0+++
菌株代号	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24
琼脂粉+大豆秸秆	5.5++	5.5+	5.0+++	5.5+++	5.5++	6.0++	5.0++	5.5+++
琼脂粉+玉米秸秆	5.0++	6.5+	5.0+++	5.0++++	6.0++	7.0++	5.0++	5.5+++
琼脂粉+水稻秸秆	5.5++	6.0+	5.0+++	5.0++++	6.0++	5.0+	5.0++	6.0+++

3 结论

本文所建立的分离秸秆降解相关菌株的方法简单适用,用此法分离的 56 株真菌中,46 株丝状真菌全部可以在只含秸秆一种碳源的培养基上良好生长,其他 10 株非丝状真菌生长较慢。选取形态差异较大的 8 株菌,以玉米秸秆以及几种添加物组合配制成系列培养基,以只含琼脂粉和水分配制成的“培养基”(CK1)以及土豆葡萄糖琼脂培养基(PDA)(CK3)为两个对照,28℃培养,观测菌株的生长情况。结果表明,在 CK1 上供试 8 株菌不生长,在 CK3(PDA)上都生长非常好,含有秸秆以及其他添加成分的培养基上生长情况介于上述两个对照之间。添加的几种辅助物都不能明显提高供试菌株的长势(表 1)。以稻草和大豆秸秆取代玉米秸秆作相似试验,结果表明,供试 8 株菌在稻草和大豆秸秆上的长势类似于在玉米秸秆系列培养基上,添加的几种辅助物同样不能明显提高供试菌株的长势(表 2)。上述试验中,供试 8 株菌菌株

间的长势差别较大,具有一定多样性。供试 8 株菌在只用琼脂粉配制的培养基上不能生长,说明这 8 株菌不能利用琼脂粉或者平皿中的二氧化碳生长。这也说明在只含琼脂粉和秸秆的培养基上能生长的主要是在利用秸秆生长。微生物生长需要碳源、氮源、生长因子、微量元素等,由于本文的后续研究的最终目的是通过微生物降解秸秆来修复退化黑土提高黑土地力,因此本试验所采用的用来组合培养基的成分尽量使用天然的或者农业经常使用的物质。所用培养基组分的选取以及组合的思路如下:用黑土浸液来作为微生物生长可能需要的微量元素,用硝酸铵作为氮源来补充仅用秸秆作培养基时氮源不足,降低因缺氮导致的过高碳氮比^[3]。对于培养基的 pH,由于田间实际生产中调节 pH 难以推广,用硝酸铵是因为其本身就是氮肥,虽然硝酸铵溶液呈略酸性,配置的培养基可能呈弱酸性,但真菌在中性偏酸的培养基上能较好生长。对于碳源,用秸秆直接代替传统方法经常用到的纤维素钠^[11,14-15],这

样既贴近生产实际,又能少走弯路。

对微生物是否降解秸秆的定性鉴别方法是:试验待测菌株在用秸秆+双蒸水+琼脂粉配制的培养基上是否生长,生长的快慢即可反映菌株降解秸秆的速率大小。对其他48株菌进行秸秆降解定性鉴别,结果表明,38株丝状真菌在3种秸秆的培养基上都具有明显生长;10株非丝状菌株在含3种秸秆的培养基上生长时直径增长较慢(不超过1 cm)。本试验所用秸秆粉经过灭菌处理,秸秆粉的制作过程遭到的机械破坏作用以及灭菌过程的高温高压作用,可能有利于微生物对秸秆的吸收利用,对农作物秸秆的直接降解将可能面临着秸秆表面的蜡质层阻挠,以及秸秆表面其他菌的抑制、拮抗以及竞争作用。本文建立的分离秸秆降解丝状菌的这种方法定名为秸秆钩取分离法,秸秆降解定性的这种方法定名为秸秆粉培养基定性鉴别法。此两种方法为国内首次公开报道。

参考文献:

- [1] 郑凤英, 张英珊. 我国秸秆资源的利用现状及其综合利用前景[J]. 西部资源, 2007, 16(1): 25-26.
ZHENG Feng-ying, ZHANG Ying-shan. The future and current status on the utilization of stalk resources in our country[J]. *Western Resources*, 2007, 16(1): 25-26.
- [2] 曹玉凤, 李建国. 生物技术在处理农作物秸秆饲料中的应用[J]. 饲料研究, 1999, 22(1): 25-26.
CAO Yu-feng, LI Jian-guo. Application of biological technology on the disposal of crop stalk feed[J]. *Feed Research*, 1999, 22(1): 25-26.
- [3] 史 央, 蒋爱芹, 戴传超, 等. 秸秆降解的微生物学机理研究及应用进展[J]. 微生物学杂志, 2002, 22(1): 47-50.
SHI Yang, JIANG Ai-qin, DAI Chuan-chao, et al. Advanced in microbiological mechanism and application of straw degradation[J]. *Journal of Microbiology*, 2002, 22(1): 47-50.
- [4] 段佐亮. 我国作物秸秆燃烧甲烷、氧化亚氮排放量变化趋势预测(1990-2020)[J]. 农业环境保护, 1995, 14(3): 111-116.
DUAN Zuo-liang. The quantitative change trend forecast for the CH₄ and NO from burning crop stalk in our country[J]. *Agro-Environmental Protection*, 1995, 14(3): 111-116.
- [5] 卢月霞, 陈 凯. 纤维素降解菌的筛选及相互作用分析[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(1): 11, 17.
LU Yue-xia, CHEN Kai. Screening of cellulose decomposition microorganisms and analysis of their reciprocity[J]. *Journal of Anhui Agriculture*, 2007, 35(1): 11, 17.
- [6] 潘俊波, 李 金, 徐凤花. 高效纤维素降解菌的筛选[J]. 东北农业大学学报, 2006, 37(2): 175-179.
PAN Jun-bo, LI Jin, XU Feng-hua. Screening on the cellulose-decomposing microorganisms [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2006, 37(2): 175-179.
- [7] 徐 广, 刁治民, 曾智科, 等. 微生物降解秸秆的研究进展与前景展望[J]. 科技资讯, 2007(22): 137.
XU Guang, DIAO Zhi-min, ZENG Zhi-ke, et al. Developments and future overview on the degradation of stalk by microorganisms[J]. *Science and Technology*, 2007(22): 137.
- [8] 李凤博, 牛永志, 高文玲, 等. 耕作方式和秸秆还田对直播稻田土壤理化性质及其产量的影响[J]. 土壤通报, 2008, 39(3): 549-552.
LI Feng-bo, NIU Yong-zhi, GAO Wen-ling, et al. Effects of tillage styles and straw return on soil properties and crop yields in direct seeding rice[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2008, 39(3): 549-552.
- [9] Jian Shi, Mari S Chinn, Ratna R Sharma-Shivappa. Microbial pretreatment of cotton stalks by solid state cultivation of *Phanerochaete chrysosporium*[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(14): 6556-6564.
- [10] GUO Peng, WANG Xiao-fen, ZHU Wan-bin, et al. Degradation of corn stalk by the composite microbial system of MC1[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, 20(1): 109-114.
- [11] 杨礼富, 谢贵水, 王真辉, 等. 木质纤维素酶高产菌株的筛选和鉴定[J]. 热带作物学报, 2001, 22(3): 70-77.
Yang Li-fu, Xie Gui-shui, Wang Zhen-hui, et al. Isolation and identification of high-efficiency lignocellulolytic strains for bioconversion of banana pseudostem and leaves[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2001, 22(3): 70-77.
- [12] 黄 茜, 黄凤洪, 江木兰, 等. 木质素降解菌的筛选及混合菌发酵降解秸秆的研究[J]. 中国生物工程杂志, 2008, 28(2): 66-70.
HUANG Qian, HUANG Feng-hong, JIANG Mu-lan, et al. The selection of lignin-degrading fungus and the straw fermentation by mixed strains[J]. *China Biotechnology*, 2008, 28(2): 66-70.
- [13] 叶姜瑜. 一种纤维素分解菌鉴别培养基[J]. 微生物学通报, 1997, 24(4): 251-252.
YE Jiang-yu. A new differential medium for cellulose decomposing microorganisms[J]. *Chinese Journal of Microbiology*, 1997, 24(4): 251-252.
- [14] 刘韞滔, 褚淑霞, 龙传南, 等. 纤维素降解菌 L-06 的筛选、鉴定及其产酶条件的分析[J]. 生物工程学报, 2008, 24(6): 1112-1116.
LIU Yun-tao, SHU Xia, LONG Chuan-nan, et al. Screening, identifying of cellulose-decomposing strain L-06 and its enzyme-producing conditions[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2008, 24(6): 1112-1116.
- [15] 白洪志, 杨 谦, 王希国, 等. 纤维素降解菌绿色木霉 C-08 的筛选及酶学特性研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(17): 5033-5034.
BAI Hong-zhi, YANG Qian, WANG Xi-guo, et al. Screening of trichoderma viridin C-08 decomposition by cellulose and study on enzymatic property[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2007, 35(17): 5033-5034.