

# 产纤维素酶菌株 *Trametes* sp. LYW-1 的 分离鉴定及产酶条件分析

关怡<sup>1</sup> 尹娣<sup>1</sup> 杜茜<sup>1</sup> 沙艺琛<sup>2</sup> 赖姗姗<sup>2</sup> 赵超<sup>2,3</sup>

(1. 福州大学 福建省海洋酶工程重点实验室,福州 350108;

2. 福建农林大学 食品科学学院,福州 350002;

3. 福建省海洋藻类活性物质制备与功能开发重点实验室,福建 泉州 362000)

**摘要** 为寻找新纤维素酶和纤维素酶基因资源,以羧甲基纤维素钠作为唯一碳源,从湿润木屑中分离和筛选获得1株高产纤维素酶目的菌株LYW-1。对该菌保守序列ITS进行扩增和测序后,提交NCBI并与相近物种ITS序列进行比对和分析,基于亲缘关系构建系统发育树。将ITS rDNA保守序列比较分析结果与形态学观察结果相结合,初步鉴定该菌株属于栓菌属(*Trametes*)。以羧甲基纤维素钠溶液为底物,采用3',5'-二硝基水杨酸(DNS)法测定纤维素酶活力,分析pH、温度及培养基中同碳源、氮源对该菌产纤维素酶活力的影响。结果表明,菌株LYW-1在pH 7.0、37℃、淀粉为碳源和乙酸铵为氮源时为最适培养条件,总酶活力达到最大。

**关键词** 栓菌属; 纤维素酶; 酶活力; 产酶条件

中图分类号 Q815

文章编号 1007-4333(2018)10-0096-07

文献标志码 A

## Isolation and identification of cellulase-producing *Trametes* sp. LYW-1 and its enzyme-producing conditions

GUAN Yi<sup>1\*</sup>, YIN Di<sup>1</sup>, DU Xi<sup>1</sup>, SHA Yichen<sup>2</sup>, LAI Shanshan<sup>2</sup>, ZHAO Chao<sup>2,3\*</sup>

(1. Fujian Key Laboratory of Marine Enzyme Engineering, Fuzhou University, Fuzhou, 350116 China;

2. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002 China;

3. Fujian Province Key Laboratory for the Development of Bioactive Material from Marine Algae,  
Quanzhou Normal University, Quanzhou 362000 China)

**Abstract** To find new cellulase-producing microbial resource, fungus LYW-1 was isolated from wet wood chips by selection medium with CMC (Carboxyl methyl cellulose) as sole carbon source. Conserved ITS (Internal transcribed spacer) sequence of LYW-1 was amplified from genome and sequenced at Invitrogen. The verified ITS sequence was subjected to online BLAST analysis with other selected fungi. Phylogenetic analysis was then performed by MEGA 4.0. Combining the results of molecular analysis with morphological observation, LYW-1 was identified as a fungus belongs to *Trametes*. The cellulose activity of LYW-1 was assayed by 3',5'-dinitrosalicylic acid (DNS) method. The effect of different pH, temperature and carbon or nitrogen source on enzyme activity was assayed. The result showed that enzyme activity reached maximum when the fungus was cultured in fluid medium by using starch as carbon source and ammonium acetate as nitrogen source. The optimal pH and temperature for enzyme producing was pH 7.0 and 37℃, respectively.

**Keywords** *Trametes*; cellulase; enzyme activity; condition of cellulase production

收稿日期: 2017-09-19

基金项目: 福建省教育厅中青年教师教育科研项目(JAT170078);国家自然科学基金(31701844);福建省福州市科技计划项目(2017-G-83、2017-N-36);福州大学校科研启动基金(XRC-1661);福建省海洋藻类活性物质制备与功能开发重点实验室开放性课题(2017FXSK05);农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室开放研究基金,闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室开放基金资助

第一作者: 关怡, 讲师, 主要从事应用微生物研究, E-mail: gy@fzu.edu.cn

通讯作者: 赵超, 副教授, 主要从事糖化学生物学研究, E-mail: zhchao@live.cn

纤维素是生物圈最丰富的天然有机物,也是数量最丰富、最廉价的可再生自然资源。作为组成植物细胞壁的重要多糖组分,在植物界的碳素含量中,纤维素占 50% 以上<sup>[1-2]</sup>。纤维素是由  $\beta$ -1,4 糖苷键连接多个  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖环而形成的线性、不溶于水的高分子聚合物。目前纤维素的利用率仅为 1% 左右<sup>[3]</sup>,除少量的纤维素原料被作为建材、织物和纸张、饲料、燃料和农业渣肥外,绝大部分纤维素材料都被作为废物而未能被合理利用,同时还引起严重的环境污染问题。目前,纤维素降解主要通过化学法和酶解法实现<sup>[4]</sup>。相较化学法而言,纤维素酶解法因具有反应条件温和、反应过程环保和安全等优点,受到广泛的关注和研究<sup>[5-6]</sup>。

纤维素酶是一类通过协同作用水解纤维素及其衍生物的酶的总称。根据其作用底物、作用位点和生成产物,可以分成外切葡聚糖酶、内切葡聚糖酶和  $\beta$ -葡萄糖苷酶三类<sup>[4]</sup>。细菌来源的纤维素酶以纤维素体(Cellulosomes)的形态存在<sup>[7]</sup>。真菌来源的纤维素酶结构上则由具有催化区(Catalytic domain)和纤维素结合区(Cellulose binding domain)。纤维素结合区负责锚定纤维素受体,从而使催化区完成其催化功能<sup>[8]</sup>。纤维素酶在食品、造纸、纺织、酿酒、污水处理和生物乙醇生产等诸多工业领域都具有广泛应用,具有极高的研究价值<sup>[5]</sup>。

微生物是天然纤维素酶的主要来源。目前已从农田、盐田、果醋和废木屑等多种环境中分离获得产纤维素酶的微生物,包括热纤梭菌(*Clostridium thermocellum*)、盐单胞菌(*Halomonas caseinilytica*、*H. muralis*)、葡萄糖杆菌(*Gluconacetobacter* sp.)等细菌,以及曲霉属(*Aspergillus*)、青霉属(*Penicillium*)、镰刀菌属(*Fusarium*)和葡萄孢属(*Botrytis cinerea*)等真菌<sup>[9-12]</sup>。真菌虽生长周期长,但真菌来源的纤维素酶以其种类齐全,酶活性高的特点受到广泛应用,寻找新的具有高产纤维降解能力的真菌已成为近年来研究的热点<sup>[13-15]</sup>。本研究从福州国家森林公园林下腐败木屑中分离获得一株高产纤维素酶真菌,经形态鉴定和分子生物学分析,确定其属于栓菌属(*Trametes*),并对其产酶条件进行初步分析,旨在为寻找新的纤维素酶生产菌株及其应用提供理论基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品

样品来源于福州国家森林公园林下腐败湿润木

屑。

#### 1.1.2 菌株和试剂

*E. coli* DH5 $\alpha$ 、载体 pMD18-T、*Ex* Taq DNA polymerase、dNTP mixture、dTTP、dCTP、T4 DNA Ligase(TaKaRa);琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒、Plasmid Mini Kit、PCR 产物纯化试剂盒(TIANGEN);CMC-Na(Sigma)。

#### 1.1.3 培养基

CMC-Na 筛选培养基: CMC-Na, 5 g/L, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2 g/L, MgSO<sub>4</sub>, 0.5 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 g/L, NaCl, 0.5 g/L, MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O, 0.002 5 g/L, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.007 5 g/L, 酵母膏, 0.5 g/L, 蛋白胨, 1.0 g/L, 琼脂, 15 g/L, pH 7.0。

LB 培养基: 蛋白胨, 10 g/L, 酵母膏, 5 g/L, NaCl, 10 g/L, pH 7.0; 发酵培养基: 除去琼脂, 其他与上同。

## 1.2 方 法

### 1.2.1 筛选方法

将样品涂布于 CMC-Na 培养基上, 37 °C 倒置培养 24~48 h, 挑取单菌落划线纯化至纯菌落。将分离得到纯菌株培养基用 1 mg/mL 的刚果红溶液染色 60 min, 倒掉染色液后用 1 mol/L NaCl 溶液脱色 60 min, 观察透明圈。

### 1.2.2 菌株鉴定

1) 形态观察。将菌株接种到 CMC-Na 平板上培养 3 d 后观察菌落的特征, 在平板上挑取菌落少许, 涂于载玻片上, 置于显微镜下观察。

2) 真菌内转录间隔区(ITS)序列扩增及分析。

① 总 DNA 提取: 将发酵样品中菌落干燥并用液氮研磨至粉末后迅速离心管中, 加入 DNA 提取液 600  $\mu$ L, 于 65 °C 水浴 1 h, 每 10 min 摇匀 1 次。加入酚 pH 8.0 的氯仿: 异戊醇(体积比为 25 : 24 : 1) 600  $\mu$ L, 混匀后 12 000 r/min 离心 10 min。取上清液, 加入等体积的氯仿: 异戊醇(体积比 24 : 1) 混匀, 12 000 r/min 离心 5 min。取上清液, 加入等体积异丙醇混匀, 12 000 rpm 离心 10 min。弃上清液, 加入 1 mL 70% 乙醇清洗沉淀后, 12 000 r/min 离心 5 min。重复乙醇清洗步骤 1 次, 弃去上清液, 沉淀干燥后溶于 50  $\mu$ L 超纯水中备用。琼脂糖电泳观察 DNA 抽提效果。

② ITS 扩增: 用真菌核糖体 DNA 转录间隔区(ITS)通用引物(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' 和 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC -3') 进行 PCR

扩增。PCR 扩增反应体系为：底物 DNA 模板  $1 \mu\text{L}$ ，DNA 聚合酶 Taq 酶  $0.2 \mu\text{L}$ ，引物 ITS1 和 ITS4 各  $1 \mu\text{L}$ ，dNTP： $(2.5 \text{ mmol/L}) 2 \mu\text{L}$ ， $10 \times$  PCR 缓冲液  $2 \mu\text{L}$ ，无菌水  $12.8 \mu\text{L}$ 。反应体系共  $20 \mu\text{L}$ 。扩增反应程序： $94 \text{ }^\circ\text{C}$  5 min，然后  $94 \text{ }^\circ\text{C}$  1 min， $55 \text{ }^\circ\text{C}$  1 min， $72 \text{ }^\circ\text{C}$  1.5 min 共 30 个循环，再  $72 \text{ }^\circ\text{C}$  10 min。反应完毕分别取  $5 \mu\text{L}$  进行琼脂糖凝胶电泳检测。

3) ITS 重组质粒的构建和鉴定：使用 Takara pMD18-T ligation Kit 将 ITS 序列的 PCR 片段连接到克隆载体 pMD18-T vector 上。阳性克隆子送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。

### 1.2.3 产纤维素酶菌株系统发育学分析

采用 NCBI 在线工具进行序列同源性比对，并利用软件 MEGA 4.0 对相似基因序列构建系统进化树。利用 Clustal W 进行比对，随后采用 Neighbor-joining 方法建立进化树，同源关系的可靠性由自举值(bootstrap)进行评估(1 000 次重复)。

### 1.2.4 纤维素酶活的测定

1) 制作葡萄糖标准曲线：取 7 支  $20 \text{ mL}$  具塞刻度试管并编号。按表 1 分别加入质量浓度为  $1 \text{ mg/mL}$  的葡萄糖标准液、蒸馏水和 3,5-二硝基水杨酸(DNS)试剂，配成不同葡萄糖浓度的反应液。将各管摇匀，在沸水浴中加热 5 min 取出，冷却至室温，用蒸馏水定容至  $20 \text{ mL}$ ，加塞后颠倒混匀，在分光光度计上进行比色。调波长  $540 \text{ nm}$ ，用 0 号管调零点，测出 1~6 号管的吸光值。以吸光值为纵坐标、葡萄糖含量为横坐标绘出标准曲线。结果如图 1 所示。

表 1 葡萄糖标准曲线制作参数

Table 1 Parameter of glucose standard curve mL

管号 No.	葡萄糖标准液 Glucose solution	蒸馏水 ddH <sub>2</sub> O	3,5-二硝基水杨酸 DNS
0	0	2.0	1.5
1	0.2	1.8	1.5
2	0.4	1.6	1.5
3	0.6	1.4	1.5
4	0.8	1.2	1.5
5	1.0	1.0	1.5
6	1.2	0.8	1.5

2) 纤维素酶活力的测定：在  $20 \text{ mL}$  刻度试管中，以  $1.5 \text{ mL}$  1% 羧甲基纤维素钠溶液为底物加  $0.5 \text{ mL}$  酶液， $37 \text{ }^\circ\text{C}$  保温 30 min，然后加入  $1.0 \text{ mL}$

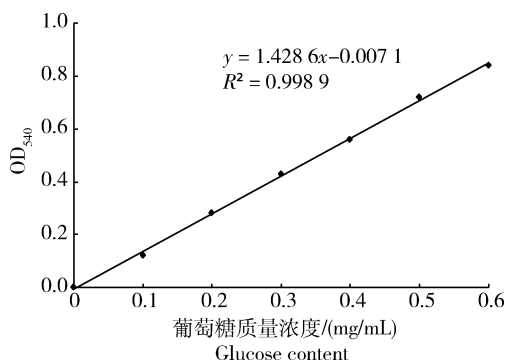


图 1 葡萄糖标准曲线

Fig. 1 Glucose standard curve

DNS 溶液，沸水煮 5 min，然后置于冰水中冷却至室温定容，摇匀。灭活对照，在  $20 \text{ mL}$  刻度试管中加入  $1.5 \text{ mL}$  1% 羧甲基纤维素钠溶液，再加入  $0.5 \text{ mL}$  的粗酶液，摇匀，于沸水中水浴 30 min，再加入  $1.0 \text{ mL}$  DNS 溶液，沸水煮 5 min，取出后立即置于冰水中冷却至室温。酶活力单位的定义：在一定 pH 值、温度的反应条件下，每小时由底物生成  $1 \mu\text{mol/L}$  葡萄糖所需的酶量定义为 1 个酶活力单位，U。通过研究不同 pH、温度条件及金属离子对酶活的影响，对该菌产的纤维素酶学性质进行分析。酶活力计算公式： $\text{酶活性} [\text{U}/(\mu\text{mol} \cdot \text{h})] = 1000 \text{ nC}/\text{MT}$  式中：C 为反应后待测液中的葡萄糖含量，mg；M 为葡萄糖的摩尔质量， $180 \text{ g/mol}$ ；n 为酶液的稀释倍数；T 为水解时间， $0.5 \text{ h}$ 。

### 1.2.5 不同条件对酶活的影响

1) 培养基初始 pH 对产酶的影响。以 1% (V/V) 接种量将菌种接入初始 pH 不同的液体发酵培养基中， $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ， $100 \text{ rpm}$  振荡培养 3 d，后取样测其纤维素酶活力。

2) 培养温度对产酶的影响。以 1% 接种量将菌种接入液体发酵培养基中，在不同温度下， $100 \text{ r/min}$  振荡培养 3 d，后取样测其纤维素酶活力。

3) 培养基碳源(淀粉)含量对产酶的影响。培养基中淀粉含量(W/V)分别为 0.5%、1% 和 1.5%，pH 7.0。以 1% 接种量将菌种接入上述培养基中， $37 \text{ }^\circ\text{C}$   $100 \text{ r/min}$  振荡培养 3 d，取样测纤维素酶活力。

4) 培养基氮源对产酶的影响。培养基酒石酸铵或乙酸铵含量(W/V)分别为 0.5%、1.0% 以及 1.5%，pH 7.0。以 1% 接种量将菌种接入上述培养基中， $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ， $100 \text{ r/min}$  振荡培养 3 d，取样测其纤维素酶活力。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株筛选

用刚果红染色法对纯化菌株进行初筛, 菌株 LYW-1 其透明圈较大(图 2(a))。对该菌株进行液体摇瓶培养 72 h 其酶活为 0.44 U/mL, 具有较好产纤维素能力。

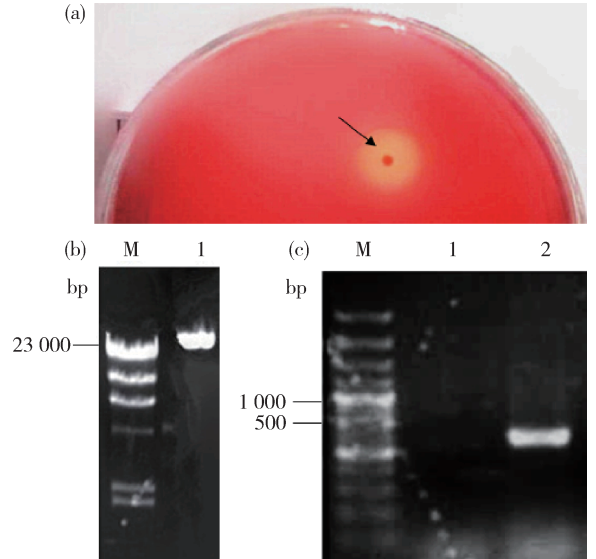
### 2.2 菌株鉴定

观察固体培养基菌落生长初期为米白色, 培养 2~3 d 后外圈为白色, 中间呈黑色, 菌落不透明, 菌丝细短, 表面不光滑。观察液体培养基, 菌落为球形, 呈淡黄色, 菌丝不发达, 单菌个体较小。在显微镜下观察, 其分枝繁复。

提取菌株 LYW-1 的基因组 DNA(图 2(b))。利用真菌 ITS rDNA 通用引物进行 PCR 扩增, 获得约 630 bp 大小的特异 DNA 带(图 2(c))。将此扩增片段克隆到 pMD-18T 载体上, 挑选阳性克隆子测序, 得到其大小为 628 bp 的基因序列, 提交到 NCBI 数据库获得其序列号为 GenBank No. KC847085.1。

经 PCR 扩增获得菌株 LYW-1 的 ITS rDNA 基因序列, 采用 Neighbor-joining 构建 ITS 基因系统发育树, 分析菌株 ITS 发现与 *Trametes hirsuta* SYBC-L19 处于同一分支(图 3), 与 LYW-1 的 ITS rDNA 基因同源性最近的 3 个菌株为 *T. hirsuta*

SYBC-L19、*T. versicolor* GZST1 和 *T. villosa* FP86588sp, 其序列相似性均为 99%, 初步确定菌株 LYW-1 属于栓菌属(*Trametes*)。

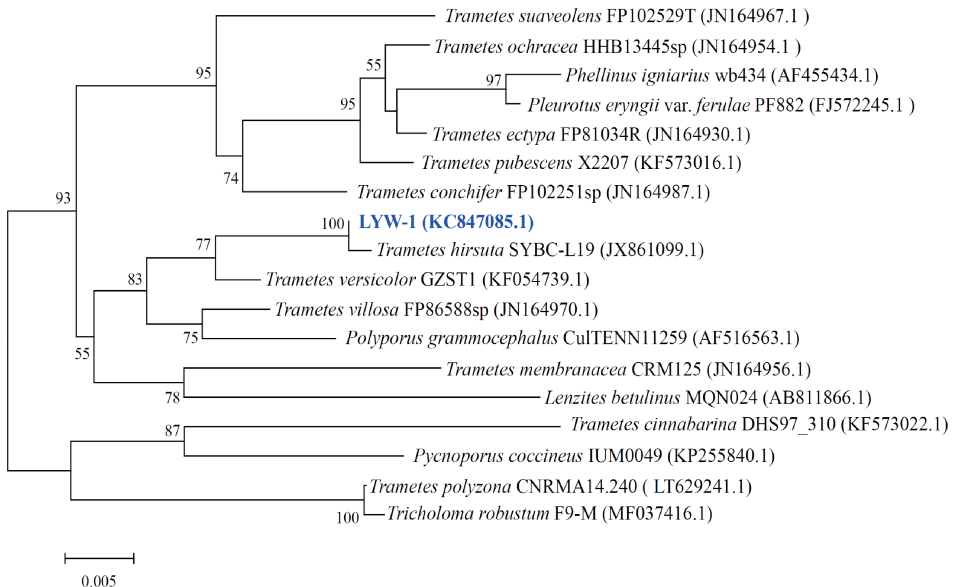


(a) 刚果红染色透明圈观察, 箭头指示为透明圈; (b) 菌株基因组琼脂糖凝胶电泳图; (c) ITS rDNA 序列琼脂糖凝胶电泳图。1 为对照, 2 为目的条带。

(a) The observation of transparent zone with Congo red staining, the arrow shows transparent zone; (b) Agarose gel electrophoresis of genome of LYW-1; (c) Agarose gel electrophoresis of LYW-1 ITS rDNA sequence. 1, CK; 2, Target fragment.

图 2 菌株 LYW-1 的筛选及分子生物学鉴定分析

Fig. 2 Selection and molecular identification of the LYW-1



标尺为 0.5% 序列分歧度。Scale bar, 0.5% sequence divergence.

蓝色为本试验筛选菌株名称。The candidate highlight with blue is the strain isolated in this study.

图 3 利用 Neighbor-joining 建树法对菌株 LYW-1 系统发育树分析

Fig. 3 Unrooted neighbor-joining tree of strain LYW-1 and related genera based on ITS gene sequences

## 2.3 不同条件对菌株酶活的影响

### 2.3.1 培养基初始 pH 和培养温度对菌株产酶的影响

结果如图 4, 该菌最适产酶 pH 7.0, pH 高于或

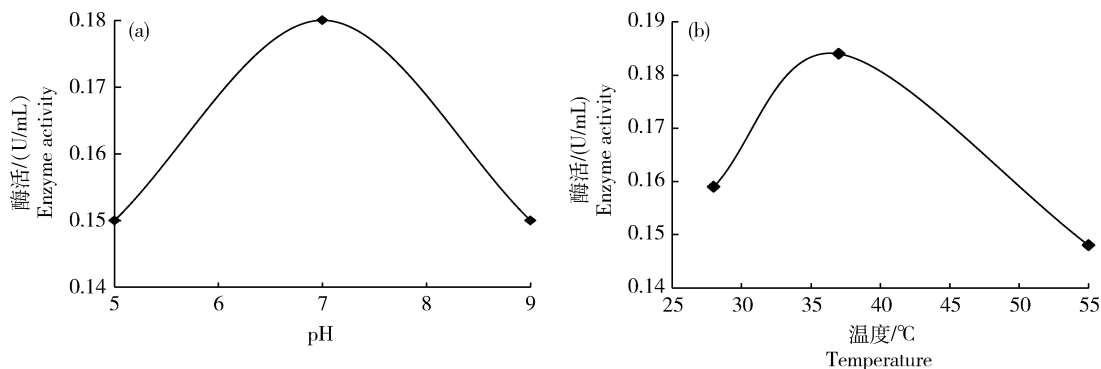


图 4 培养基初始 pH(a) 和培养温度 (b) 对菌株产酶的影响

Fig. 4 Effects of pH (a) and temperature (b) on enzyme activity

### 2.3.2 培养基碳氮源对菌株产酶的影响

以不同含量淀粉为碳源培养 LYW-1, 结果显示, 该菌的产酶量在所测范围内随淀粉含量的增加而增加, 可用淀粉代替羧甲基纤维素钠作为该菌的碳源(图 5(a))。以不同含量酒石酸铵或乙酸铵为

低于 7.0 该菌的产酶量均会降低。该菌最适产酶温度为 37 °C, 温度高于或低于 37 °C 该菌的产酶量均会降低。

氮源培养 LYW-1, 结果显示, 该菌的产酶量随酒石酸铵含量的增加而下降(图 5(b)), 酒石酸铵不宜代替硫酸铵作为该菌的氮源。而该菌的产酶量随乙酸铵含量的增加而增加(图 5(c)), 初步确定可用乙酸铵代替硫酸铵作为该菌的氮源。

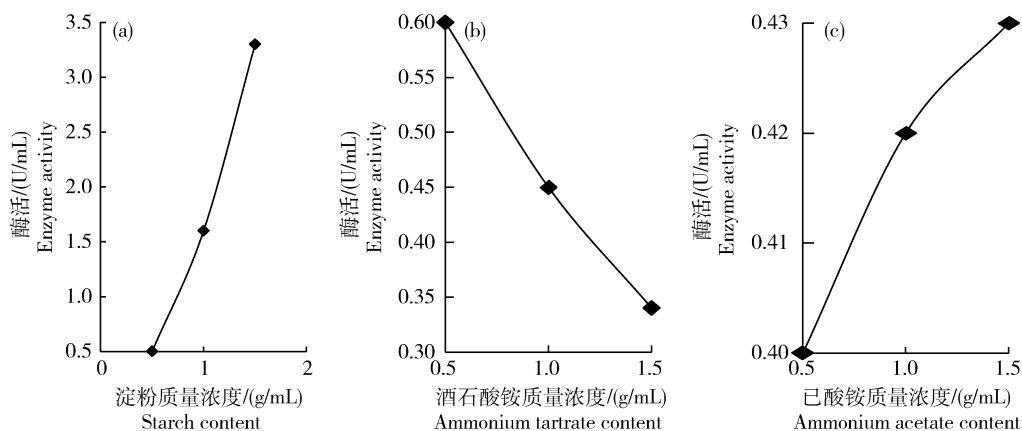


图 5 不同培养基成分淀粉 (a), 酒石酸铵 (b) 和乙酸铵 (c) 对菌株产酶的影响

Fig. 5 Effects of different carbon or nitrogen source starch (a), ammonium tartrate (b) and ammonium acetate (c) on enzyme activities

## 3 讨论

纤维素酶广泛应用于食品工业、环保产业以及生物乙醇生产等诸多工业领域。开发高产纤维素酶微生物资源, 深入研究纤维素酶的产酶条件将为更好地利用纤维素酶提供理论依据。许多微生物都被证明具有产纤维素酶活力。在细菌方面, 产自枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) (CB3 和 CB4) 和蜡样芽

孢杆菌 (*Bacillus cereus*) (CB8) 的纤维素酶的最适 pH 均为 7, 最适温度分别为 40, 30 和 40 °C<sup>[16]</sup>。此外, 假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) 及沙雷氏菌 (*Serratia* sp.) 也具有产纤维素酶活力<sup>[17]</sup>。真菌方面, 近期, 来自 1 株赭绿青霉所产的纤维素酶的酶学性质得到解析。该酶在 pH 5.0, 温度 40 °C 时酶活最高, 并且在 50 °C 下保温 3 h 仍能保存 90% 剩余酶活<sup>[18]</sup>。在工业生产中占有重要地位的丝状真菌黑

曲霉也被证明具有产纤维素酶活力<sup>[19]</sup>。栓菌属 (*Trametes*) 已被确认为是具有产纤维素酶能力的微生物, 9 株来自津巴布韦森林的栓菌属真菌被证明具有纤维素降解活性<sup>[20]</sup>。1 株编号为 CGMMC-4587 的毛栓菌 (*T. hirsuta*) 具有内切纤维素酶、外切纤维素酶和  $\beta$ -葡萄糖苷酶活性浓度, 比活分别达到 55.00、0.28 和 5.00 U/mg。在不同碳源和氮源条件下, 3 种酶的产酶活性各不相同<sup>[21]</sup>。本研究筛选到高产纤维素酶真菌 LYW-1, 结合形态学和分子生物学鉴定, 确认其为栓菌属真菌。在液体培养条件下, 该菌株最适产酶 pH 7.0, 最适产酶温度为 37 °C。以淀粉为碳源和乙酸铵为氮源时可达较高的总酶活力, 且产酶活力与添加量成正比。后续研究将在产纤维素酶的基因克隆表达及其定向改造方面进行研究, 为拓宽产纤维素酶微生物资源及其开发应用提供依据。

## 参考文献 References

- [1] 刘绪. 棉花 SGT 家族基因的克隆和纤维素合成相关蛋白的抗体制备[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010  
Liu X. Cloning of cotton sgt family genes and antibody preparation of the proteins associated with cellulose synthesis [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010 (in Chinese)
- [2] 张坤. 羧乙基化法制备微纤化纤维素的研究[D]. 北京: 中国制浆造纸研究院, 2015  
Zhang K. Study on preparation of microfibrillated cellulose by carboxyethylation[D]. Beijing: China National Pulp and Paper Research Institute, 2015 (in Chinese)
- [3] 张平平, 刘宪华. 纤维素生物降解的研究现状与进展[J]. 天津农学院学报, 2004, 11(3): 48-54  
Zhang P P, Liu X H. Current situation and progress of biodegradation of cellulose [J]. *Journal of Tianjin Agricultural University*, 2004, 11(3): 48-54 (in Chinese)
- [4] Juturu V, Wu J C. Microbial cellulases: Engineering, production and applications[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2014, 33(6): 188-203
- [5] Kuhad R C, Gupta R, Singh A. Microbial cellulases and their industrial applications[J]. *Enzyme Res*, 2011, 2011(2): 1-10
- [6] Karmakar M, Ray R R. Current trends in research and application of microbial cellulases[J]. *Research Journal of Microbiology*, 2011, 6(1): 41-53
- [7] Doi R H, Kosugi A. Cellulosomes: plant-cell-wall-degrading enzyme complexes[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2004, 2(7): 541
- [8] Bayer E A, Chanzy H, Lamed R, Shoham Y. Cellulose, cellulases and cellulosomes[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 1998, 8(5): 548-57
- [9] Sahay H, Singh A K, Singh S, Kaushik R, Saxena A K, Arora D K. Exploration and characterization of agriculturally and industrially important haloalkaliphilic bacteria from environmental samples of hypersaline Sambhar lake, India[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012, 28(11): 3207-17
- [10] Nwodo-Chinedu S, Okochi V I, Smith H A, Omidiji O. Isolation of cellulolytic microfungi involved in wood-waste decomposition: Prospects for enzymatic hydrolysis of cellulosic wastes[J]. *International Journal of Biomedical and Health Sciences*, 2005, 1(2): 41-51
- [11] Sangkharak K, Vangsirikul P, Jantachai S. Isolation of novel cellulase from agricultural soil and application for ethanol production[J]. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 2011, 2(2): 230-239
- [12] Wee YJ. Isolation and characterization of a bacterial cellulose-producing bacterium derived from the persimmon vinegar[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2011, 10(72): 16267-76
- [13] 王垚, 韩燕峰, 虞泓, 梁宗琦. 爱尔兰帚霉产低温纤维素酶的酶学性质和发酵工艺[J]. 菌物学报, 2017, 36(8): 1132-1140  
Wang Y, Han Y F, Yu H, Liang Z Q. Characterization and optimal fermentation conditions of cold-adapted cellulase produced by *Scopulariopsis hibernica* [J]. *Mycosystema*, 2017, 36(8): 1-9 (in Chinese)
- [14] 师璐, 李阳, 李国龙, 马昕, 顾金刚, 李顺意. 高产纤维素酶枯草芽胞杆菌 S-16 的筛选及其发酵工艺优化[J]. 生物资源, 2017, 39(2): 118-24  
Shi L, Li Y, Li G L, Ma X, Gu J G, Li S Y. Screening of high yield cellulase *Bacillus subtilis* S-16 and optimization of its fermentation process [J]. *Amino Acids and Biotic Resources*, 2017, 39(2): 118-24 (in Chinese)
- [15] 郭建强, 柴秀娟, 庞学兵, 裴娟, 王爱英. 芽胞杆菌高产纤维素酶菌株的诱变选育与培养基优化[J]. 核农学报, 2017, 31(2): 263-70  
Guo J Q, Chai X J, Pang X B, Pei J, Wang A Y. Mutation breeding and medium optimization of bacillus sp with high cellulase yielding[J]. *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*, 2017, 31(2): 263-70 (in Chinese)
- [16] Vimal J. Isolation and identification of cellulose degrading bacteria and optimization of the cellulase production [J]. *International Journal of Research in Biosciences*, 2016, 5(3): 58-67
- [17] Khatiwada P, Ahmed J, Sohag M H, Islam K, Azad A K. Isolation, screening and characterization of cellulase producing bacterial isolates from municipal solid wastes and rice straw wastes [J]. *Journal of Bioprocessing and Biotechniques*, (2016-06-28) Doi: 10. 4172/2155-9821.

1000280

- [18] Bai H, Zi H, Huang Y, Han M, Irfan M, Liu N, Yang J, Wang H, Han X R. Catalytic properties of carboxymethyl cellulase produced from newly isolated novel fungus *Penicillium ochrochloron*, ZH1 in Submerged Fermentation [J]. *Catalysis Letters*, 2017, 147(8):2013-2022
- [19] Sarkar N, Aikat K. Alkali pretreatment of rice straw and enhanced cellulase production by a locally isolated fungus *Aspergillus fumigatus* NITDGPKA3 [J]. *Journal of Microbiology & Biotechnology Research*, 2017, 2(5):717-726
- [20] Mswaka A Y, Magan N. Wood degradation, and cellulase and ligninase production, by *Trametes* and other wood-inhabiting basidiomycetes from indigenous forests of Zimbabwe[J]. *Mycological Research*, 1998, 102(11): 1399-1404
- [21] Jeya M, Zhang Y W, Kim I W, Lee J K. Enhanced saccharification of alkali-treated rice straw by cellulase from *Trametes hirsuta* and statistical optimization of hydrolysis conditions by RSM[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(21): 5155-5161

责任编辑:吕晓梅