

路强强,赵叶子,陈智坤,等.城市园林废弃物中纤维素高效降解微生物菌系的构建[J].江苏农业科学,2020,48(6):272-277.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.06.051

# 城市园林废弃物中纤维素高效降解微生物菌系的构建

路强强<sup>1,2</sup>, 赵叶子<sup>1,2,3</sup>, 陈智坤<sup>1,2</sup>, 孙晓宇<sup>2,4</sup>, 任英英<sup>1,2</sup>, 黄 标<sup>2,5</sup>

(1. 陕西省西安植物园/陕西省植物研究所, 陕西西安 710061; 2. 陕西省科学院土壤资源与生物技术应用重点实验室, 陕西西安 710061; 3. 西安科技大学地质与环境学院, 陕西西安 710043; 4. 陕西省微生物研究所, 陕西西安 710043; 5. 中国科学院南京土壤研究所, 江苏南京 210008)

**摘要:**采用羧甲基纤维素钠(CMC-Na)水解透明圈法、滤纸条崩解法、酶活力比较法、枯茎降解失重法,研究13种常用的纤维素降解菌菌株和5个组合菌系对纤维素的降解效率,结果表明,模式菌种白腐菌(F-6)对CMC-Na具有非常好的降解作用,且产酶活性显著高于其他12种单一菌株( $P < 0.05$ );与未接种菌系(株)相比,组合菌系的滤纸条崩解速率有明显提高;由“链霉菌属A-1+潮湿纤维单胞菌B-3+热带假丝酵母F-5+白腐菌F-6”构建的菌系JX-1产葡聚糖内切酶、外切酶、苷酶活性分别为25.12、14.41、18.54 U/mL,显著高于其他4个菌系,恒温培养5、10、15 d时的枯茎降解失重率分别较白腐菌显著提高151.94%、73.21%、67.49%,菌系JX-1为园林废弃物堆腐发酵实现纤维素高效降解的最佳微生物组合。

**关键词:**园林废弃物;纤维素;降解;酶活;白腐菌;微生物菌系

**中图分类号:**S182 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)06-0272-06

近年来,随着美丽中国理念的深化和生态城市建设规模的扩张,我国城市绿化水平、整体绿量均得到不断提高,同时也产生了大量园林绿化废弃物。城市园林废弃物主要是指在城市绿地、行道树及城郊林地中绿化植物自然或养护过程中产生的草坪、枯枝落叶及林木修剪物等,含有大量的淀粉、纤维素、木质素和营养元素,是一种可再利用的有机资源,也是生态系统物质循环的重要组成部分<sup>[1-2]</sup>。然而,作为城市固体垃圾的主要来源,每年有近5 000万t的园林废弃物进入环卫填埋系统,这不仅造成园林生物质资源浪费和垃圾填埋场容纳能力的下降,也易导致周围水体、大气和土壤环境的二次污染。

目前,关于城市园林废弃物的资源化利用主要是就地粉碎作为绿化土壤覆盖物或简易堆肥作为植物生长基质,但存在粉碎时易产生扬尘、堆腐不透彻时易孳生病菌和臭气等问题<sup>[3-4]</sup>。经过一定预

处理,在适宜条件下利用好氧微生物进行堆肥发酵,以促进大分子有机物降解和腐殖质类物质形成,这是实现园林绿化废弃物资源化、高效化利用的主要途径<sup>[5-7]</sup>,而构建快速降解、彻底腐熟的微生物菌系是促进大分子物质分解、转化及合成土壤有机质、植物生长营养物质的关键<sup>[8-10]</sup>。有研究表明,纤维素酶主要包括葡聚糖内切酶、外切酶、苷酶,是催化纤维素快速水解、诱导木质素降解酶(胞外过氧化酶、胞外酚氧化酶)产生的核心酶系,它们协同作用可将纤维素水解、降解为纤维低聚糖及葡萄糖<sup>[11-17]</sup>;而产纤维素酶的微生物菌系组合与剂量差异在很大程度上影响堆肥过程中堆体的升温速率和腐熟彻底性<sup>[18-19]</sup>。

本研究结合菌间拮抗关系,采用羧甲基纤维素钠水解透明圈法、滤纸条崩解法、酶活力比较法及枯茎降解失重法,对微生物肥料中常用的13种纤维素降解菌进行单一菌株筛选和组合菌系复配,以期获得高效降解园林废弃物中纤维素的复合微生物菌系,为城市园林绿化废弃物的资源化处置与高效化利用提供参考依据与技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 降解纤维素常用的13种功能菌株(表1)由中国工业微生物菌种保藏管理中心、中

收稿日期:2019-02-13

基金项目:陕西省科学院科技计划(编号:2018K-11);陕西省西安市科技计划(编号:2017127SF/SF021);陕西省重点研发计划(编号:2017ZDXM-NY-049)。

作者简介:路强强(1988—),男,陕西铜川人,博士,助理研究员,从事植物资源化学相关研究。E-mail:lusdau@163.com。

通信作者:黄 标(1962—),男,江苏南京人,博士,研究员,从事土壤地球与环境化学研究。E-mail:bhuang@issas.ac.cn。

国普通微生物菌种保藏管理中心、陕西省科学院土壤资源与生物技术应用重点实验室、陕西省微生物研究所提供,经陕西省微生物研究所孙晓宇副研究

员菌间拮抗关系鉴定,表明菌株相互间无拮抗关系、无抑制孢子产生作用。

表 1 常用的降解纤维素菌种基本信息

编号	名称	拉丁名称	菌种收录号
A-1	链霉菌属	<i>Streptomyces</i> sp.	11021a
A-2	乳糖细黄链霉菌	<i>Streptomyces microflavus</i>	23626a
B-1	蜡状芽孢杆菌	<i>Bacillus cereus</i>	1.8589b
B-2	枯草芽孢杆菌	<i>Bacillus subtilis</i>	X1001c
B-3	潮湿纤维单胞菌	<i>Cellulomonas uda</i>	1.1002b
B-4	产黄纤维单胞菌	<i>Cellulomonas flavigena</i>	1.1914b
B-5	胶冻样芽孢杆菌	<i>Paenibacillus mucilaginosus</i>	X1002c
F-1	黑曲霉	<i>Asprgillus niger</i>	3.3012d
F-2	绿色木霉	<i>Trichoderma viride</i>	3.2942b
F-3	康宁木霉	<i>Trichoderma koningii</i>	3.3743b
F-4	灰黄青霉	<i>Penicillium griseofulvum</i>	1.10711b
F-5	热带假丝酵母	<i>Candida tropicalis</i>	3.3020d
F-6	白腐菌(黄孢原毛平革菌)	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	3.3006d

注:编号中 A、B、F 表示菌属类型,依次表示为放线菌、细菌、真菌;菌种收录号后 a、b、c、d 表示菌种来源,依次分别为中国工业微生物菌种保藏管理中心、中国普通微生物菌种保藏管理中心、陕西省科学院土壤资源与生物技术应用重点实验室、陕西省微生物研究所。

1.1.2 菌株培养及发酵 细菌采用营养肉汤培养基(NA)发酵培养,培养基组分为:牛肉膏 3 g,蛋白胨 10 g,氯化钠 5 g,蒸馏水 1 000 mL,pH 值为 7.0~7.2;发酵条件为:装液量 50 mL/250 mL 三角瓶,培养温度 32 ℃,摇床转速 160 r/min,培养时间 24 h。

真菌采用马铃薯培养基(PDA)发酵培养,培养基组分为:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,蒸馏水 1 000 mL,pH 自然;发酵条件为:装液量为 50 mL/250 mL 三角瓶,培养温度为 28 ℃,摇床转速为 160 r/min,培养时间为 72 h。

放线菌采用马铃薯改良培养基(PDA+)发酵培养,培养基组分为:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,磷酸二氢钾 3 g,硫酸镁 2 g,蒸馏水 1 000 mL,pH 自然;发酵条件为:装液量为 50 mL/250 mL 三角瓶,培养温度为 28 ℃,摇床转速为 160 r/min,培养时间为 48 h。

1.1.3 菌系组合与发酵 在单株初筛的基础上,选择降解纤维素效率较高的菌株组合成 5 个菌系,每组菌系至少包含细菌、真菌、放线菌各 1 株(表 2),由于白腐菌为降解纤维素的模式菌,设计每组菌系时均含有该菌株<sup>[20-22]</sup>。根据各菌种差异进行单独培养,再等体积比例混合。发酵条件为:液体装液量为 50 mL/250 mL 三角瓶,培养温度为 30 ℃,摇床

表 2 菌系不同组合情况

菌系	菌种组合
JX-1	A-1+B-3+F-5+F-6
JX-3	A-1+B-3+F-3+F-6
JX-5	A-1+B-2+B-3+F-3+F-5+F-6
JX-2	A-1+B-2+F-5+F-6
JX-4	A-1+B-2+F-3+F-6

转速为 160 r/min,培养时间为 36~48 h。

1.1.4 菌种斜面和平板的制备 制备不同菌种斜面和平板时,在每 1 000 mL 相应液体培养基中添加琼脂 15~20 g,经高温高压湿热灭菌,自然冷却即可,灭菌温度为 121 ℃,灭菌时间为 20 min。

1.2 微生物对纤维素降解效率的测定

1.2.1 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)水解透明圈法测定 将各菌株直径为 1 cm 的菌饼分别接种至 CMC-Na 平板培养基上培养 24~72 h,以不添加任何菌株作为空白对照(CK);0.1% 刚果红水溶液浸染 30 min,弃染液,用 1 mol/L NaCl 水溶液脱色 1 h;分别测定菌落直径(*d*)、水解透明圈直径(*D*),单位为 cm;计算 CMC-Na 水解透明圈的 *D<sub>p</sub>* 值表示菌株降解纤维素的能力<sup>[23]</sup>,公式为:

$$D_p = (D/d)^2。$$

1.2.2 滤纸条崩解法测定 各菌株采用相对应的

液体培养基和发酵条件进行三角瓶培养,以不添加任何菌株作为空白对照(CK);每瓶中放置 1 cm × 6 cm 滤纸条 3 片,重复 3 次;每隔 3 h 观察并记录滤纸条崩解情况和时间<sup>[24]</sup>。

**1.2.3 酶活力法测定** 采用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法<sup>[25-26]</sup>测定葡聚糖内切酶、外切酶、苷酶活力,用 1 mL 酶底物反应液 1 min 催化纤维素水解产生还原糖(葡萄糖)的量( $\mu\text{mol}$ )反映微生物对纤维素的降解效率。测定内切酶活力的处理方法为:取适量稀释倍数的粗酶液 0.5 mL,加入 pH 值为 5.0 的 1% CMC-Na 柠檬酸缓冲液 1.5 mL,50 ℃ 恒温水浴 30 min;加入 DNS 试剂 3 mL,煮沸 5 min。测定外切酶活力的处理方法为:取适量稀释倍数的粗酶液 0.5 mL,加入 pH 值为 5.0 的 0.05 mol/L 柠檬酸缓冲液 1.5 mL、脱脂棉 50 mg,50 ℃ 恒温水浴 60 min;加入 DNS 试剂 3 mL,煮沸 5 min。测定苷酶活力的处理方法为:取适量稀释倍数的粗酶液 0.5 mL,加入柠檬酸缓冲液 1.5 mL、脱脂滤纸条 50 mg,50 ℃ 恒温水浴 60 min;加入 DNS 试剂 3 mL,煮沸 5 min。处理液均采用 TECAN Infinite 200 PRO 酶标仪测定波长为 540 nm 处的吸光度值,以不添加任何菌株处理的作为空白对照(CK),并根据葡萄糖标准曲线折算酶活。酶活计算公式为:

$$X = (A \times N) / (V \times T \times M)。$$

式中: $X$  表示纤维素酶活力, U/mL;  $A$  表示根据吸光度值在葡萄糖标准曲线获得的还原糖生成量,  $\mu\text{g/mL}$ ;  $N$  表示粗酶液的稀释倍数;  $V$  表示加入酶液的体积,即为 0.5 mL;  $T$  表示酶促反应时间,内切酶为 30 min,外切酶和苷酶为 60 min;  $M$  表示葡萄糖的分子质量,为 180。

**1.2.4 枯茎降解失重率法测定** 2017 年 11 月,采集西安植物园水景区自然枯萎芦苇 [*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steu] 的茎秆、枯叶、花穗,其基本物料有机质、全碳、全氮含量分别为 830.06、481.47、4.15 g/kg,碳氮比为 116.02, pH 值为 7.8;风干,并剪碎至 1~2 cm 细条,经湿热灭菌法灭杀杂菌及虫卵;无菌水浸泡过夜,并冲洗可溶性有机物;105 ℃ 烘干,待用;称取已处理的枯茎 10 g、硫酸铵 0.4 g、硫酸镁 0.1 g 装入 250 mL 三角瓶,每瓶加入 pH 值为 7.0 的 5 mmol/L 磷酸缓冲液 30 mL、混合菌悬液 6 mL,以加入 6 mL 蒸馏水为空白对照(CK);混匀,50 ℃ 恒温培养 15 d;每菌系处理 9 组,

并分别在恒温培养 5、10、15 d 时观察枯茎的降解情况,每次取 3 组,蒸馏水洗涤、过滤其降解物,剩余物 105 ℃ 烘干至恒质量,称量未降解枯茎质量,计算其降解失重率<sup>[27]</sup>。降解失重率计算公式为:

$$D = (M_p - M_s) / M_p \times 100\%。$$

式中: $D$  表示降解失重率,%;  $M_p$  表示降解前枯茎质量,即为 10 g;  $M_s$  表示未降解物质量, g。

### 1.3 数据统计分析

采用 Excel 2010 软件对试验数据进行整理与制图,采用 DPS 9.50 软件进行差异性显著分析,显著性检验采用最小显著性差异检验法(LSD法)( $\alpha = 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 单一菌株对纤维素的降解效率

**2.1.1 CMC-Na 水解透明圈法测定** 葡聚糖内切酶对 CMC-Na 具有很强的水解能力,测定计算 CMC-Na 水解透明圈的  $D_p$  值,可反映不同菌株产内切酶的活力水平,进而可有效反映降解纤维素分子内多聚糖的能力<sup>[28]</sup>。由表 3 可见,模式菌种白腐菌(F-6)对 CMC-Na 具有非常好的降解作用,其水解透明圈  $D_p$  值相对最高,达 7.23;按照菌种的种属类型, $D_p$  值大小由高到低大致呈:真菌 > 放线菌 > 细菌;真菌 F-3、F-2、F-5 的  $D_p$  值相对偏高,分别为 6.95、6.41、5.54,放线菌中菌株 A-1 的  $D_p$  值相对较高,为 6.22,细菌中菌株 B-3、B-4、B-2 的  $D_p$  值相对较高,依次为 5.37、4.43、3.49。

**2.1.2 滤纸条崩解法测定** 纤维素酶是具有纤维素降解能力酶的总称,在相同培养条件下,不同微生物菌株对滤纸条的崩解速率差异可反映其产纤维素酶的生物代谢活力大小,从而进一步可反映降解纤维素的能力。由表 3 可见,放线菌、细菌类菌株对滤纸条崩解所需时间相当,为 30 h 左右,而真菌类所需时间相对长,约为 36 h;放线菌中,菌种 A-1 的崩解时间相对最短,为 29 h;细菌中,菌株 B-3、B-2、B-4 导致滤纸条崩解时间相对较短,分别为 25、29、29 h;真菌中,菌株 F-3、F-1、F-4、F-6 崩解滤纸条的时间相对较短,分别为 34、35、36、36 h。

**2.1.3 酶活力法测定** 葡聚糖内切酶能在纤维素分子内部任意裂解  $\beta$ -1,4 糖苷键,而外切酶主要从纤维素分子的非还原端依次裂解  $\beta$ -1,4 糖苷键,释放纤维二糖分子。由表 3 可见,真菌菌株 F-6、F-5、F-3 的产内切酶活性分别为 21.51、19.78、

表 3 单一菌种对纤维素的降解情况

菌种	水解圈 $D_p$ 值	滤纸条崩解时间 (h)	酶活性(U/mL)		
			内切酶	外切酶	苷酶
A-1	6.22 ± 0.17b	29 ± 1.73	5.04 ± 0.08d	4.00 ± 0.06d	6.03 ± 0.04c
A-2	5.48 ± 0.38c	31 ± 1.73	4.60 ± 0.09e	2.59 ± 0.65efg	5.45 ± 0.05d
B-1	2.79 ± 0.16fc	32 ± 1.73	1.36 ± 0.05i	2.19 ± 0.08fgh	3.15 ± 0.04g
B-2	3.49 ± 0.45e	29 ± 1.73	1.50 ± 0.03i	2.72 ± 0.03ef	3.38 ± 0.05f
B-3	5.37 ± 0.27c	25 ± 1.73	1.73 ± 0.04h	2.84 ± 0.03e	3.29 ± 0.03f
B-4	4.43 ± 0.20d	29 ± 3.46	1.37 ± 0.03i	2.10 ± 0.07gh	1.92 ± 0.03i
B-5	2.37 ± 0.21f	30 ± 3.00	1.40 ± 0.02i	1.91 ± 0.05h	2.14 ± 0.03h
F-1	5.19 ± 0.29c	35 ± 1.73	3.59 ± 0.03f	2.18 ± 0.03fgh	3.03 ± 0.04g
F-2	6.41 ± 0.35b	37 ± 1.73	4.73 ± 0.04e	4.46 ± 0.05d	5.21 ± 0.05e
F-3	6.95 ± 0.15a	34 ± 1.73	7.35 ± 0.04c	5.48 ± 0.03c	5.50 ± 0.04d
F-4	5.17 ± 0.21c	36 ± 3.00	3.39 ± 0.04g	4.49 ± 0.05d	5.13 ± 0.03e
F-5	5.54 ± 0.29c	36 ± 1.73	19.78 ± 0.08b	12.38 ± 0.06b	12.60 ± 0.05b
F-6	7.23 ± 0.27a	36 ± 3.00	21.51 ± 0.05a	14.33 ± 0.05a	16.02 ± 0.07a

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )。下表同。

7.35 U/mL,产外切酶活性分别为 14.33、12.38、5.48 U/mL,显著高于放线菌、细菌和其他真菌( $P<0.05$ ),真菌菌株 F-6、F-5 产苷酶活性分别为 16.02、12.60 U/mL,显著高于放线菌、细菌和其他真菌;放线菌中,菌株 A-1 产内切酶、外切酶、苷酶活力相对较高,对应各酶活性分别为 5.04、4.00、6.03 U/mL;细菌中,各菌株产内切酶活力相对较低,酶活性在 1.36~1.73 U/mL 之间,其中菌株 B-3 的产内切酶活力相对最高,菌株 B-3、B-2、B-1 产外切酶和苷酶活力相对较高,酶活性分别为 2.84、2.72、2.19 U/mL 和 3.29、3.38、3.15 U/mL。

2.3 组合菌系对纤维素的降解效率

2.3.1 滤纸条崩解法测定 由表 4 可见,5 个组合菌系在 25~30 h 内可彻底崩解滤纸条,其中,JX-1 的滤纸条崩解速率相对最快,崩解时间约为 25 h。

2.3.2 酶活力法测定 由表 4 可见,组合菌系的产纤维素酶活力明显高于单一菌株,相互间存在显著性差异( $P<0.05$ );菌系 JX-1、JX-2、JX-3 产内切酶活力相对较高,酶活性分别为 25.12、22.23、20.52 U/mL,菌系 JX-1、JX-2、JX-5 产外切酶和苷酶活力相对较高,酶活性分别为 14.41、14.07、13.64 U/mL 和 18.54、17.16、16.17 U/mL。

表 4 菌系的降解和酶活力情况

菌系	滤纸条崩解时间 (h)	酶活性(U/mL)		
		内切酶	外切酶	苷酶
JX-1	25 ± 1.73	25.12 ± 0.07a	14.41 ± 0.02a	18.54 ± 0.04a
JX-2	27 ± 3.00	22.23 ± 0.05b	14.07 ± 0.06b	17.16 ± 0.06b
JX-3	31 ± 1.73	20.52 ± 0.03c	13.05 ± 0.05d	15.83 ± 0.02d
JX-4	29 ± 1.73	19.97 ± 0.05d	12.46 ± 0.03e	14.90 ± 0.03e
JX-5	30 ± 3.00	16.11 ± 0.04e	13.64 ± 0.02c	16.17 ± 0.03c
CK	48 ± 3.00			

2.3.3 枯茎降解失重率法测定 测定枯茎降解失重率可真实反映微生物菌系对园林废弃物的降解效率,体现菌系所产纤维素酶、木质素酶及其他酶的活力水平。本试验发现,在芦苇枯茎混合液中接种 5 个组合菌系和单一菌株白腐菌(F-6)恒温培养 3 d 时,芦苇枯茎表面均不同程度地有白色菌丝

散布生长;恒温培养 8 d 时,菌落基本铺满枯茎表面,并呈棉絮状。由图 1 可知,恒温培养 5 d 时,接种菌系 JX-1、JX-2、JX-5、JX-4 的枯茎降解较菌系 JX-3、白腐菌显著( $P<0.05$ ),失重率  $D$  值分别为 16.15%、13.69%、12.98%、11.19%;恒温培养 10 d 时,5 个组合菌系枯茎降解失重率达 20% 左

右,其中,失重率最高的为菌系 JX-1,其失重率  $D$  值达 21.11%,显著高于其他处理;与接种 F-6(白腐菌)的枯茎降解失重率相比,菌系 JX-1 恒温培养 5、10、15 d 时的枯茎降解失重率分别显著提高 151.94%、73.21%、67.49%;恒温培养 15 d 时,与

未接种菌株(CK)相比,接种各菌系的枯茎降解失重率有显著提高,其中,接种 JX-1、JX-5、JX-2 的失重率  $D$  值相对较高,分别为 33.37%、29.21%、28.87%。

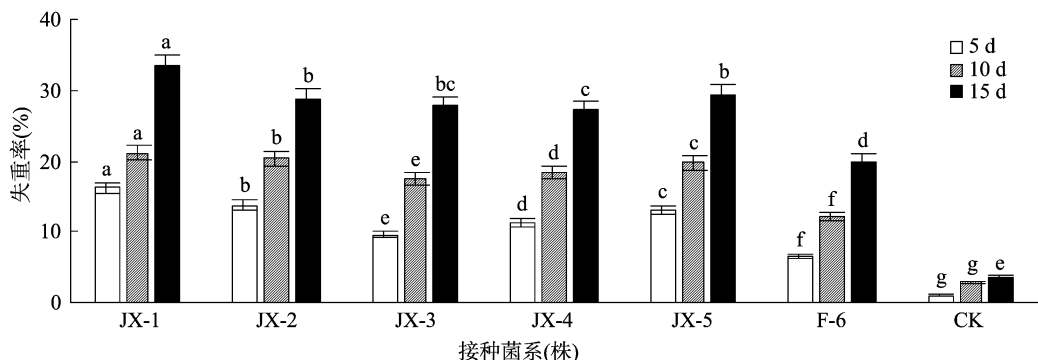


图1 接种菌系(株)对芦苇枯茎降解失重率的影响

### 3 结论与讨论

纤维素是吡喃型  $D$ -葡萄糖残基以  $\beta$ -1,4-糖苷键连接而成的复杂结晶分子,在适宜的发酵培养条件下可通过外源微生物代谢产酶作用,快速实现纤维素聚合物的裂解<sup>[29]</sup>。纤维素酶是一类能够任意切断  $\beta$ -1,4-糖苷键的酶总称,是单一微生物自然代谢和复合微生物协同作用的产物,而接种富产纤维素酶的微生物是实现农林废弃物快速降解的有效手段<sup>[30]</sup>。然而,由于单一微生物存在产酶条件和酶类型的差异,导致动态复合酶系不完善,从而对纤维素的降解速率产生影响。本研究通过单一微生物菌株的筛选和复合微生物菌系的构建,旨在获得园林废弃物堆腐过程中多样、高产纤维素酶的微生物菌群。

有研究表明,通过羧甲基纤维素钠(CMC-Na)水解透明圈的出现时间可推测菌株产酶时间,水解透明圈  $D_p$  值大小可直观反映菌株产酶能力和酶浓度;滤纸条崩解速率可反映菌株产酶的协同作用,而单一菌株的崩解时间与菌液在波长为 600 nm 生长曲线的吸光度峰值存在一致性<sup>[31]</sup>;单一菌株酶活筛选过程中,透明圈  $D_p$  值、滤纸条崩解速率与菌株产酶能力、酶活力及酶间协同作用存在一定的正相关性<sup>[32]</sup>。本研究发现,链霉菌属(*Streptomyces* sp.) A-1 菌株的水解透明圈  $D_p$  值为 6.22,在试验放线菌中相对最大,滤纸条崩解速率约为 29 h,相对最快,其产葡聚糖内切酶、外切酶、苷酶活性分别为 5.04、4.00、6.03 U/mL,也相对最高;潮湿纤维单胞

菌 B-3 菌株的水解透明圈  $D_p$  值为 5.73,在试验细菌中相对最大,滤纸条崩解时间约为 25 h,崩解速率相对最快,其产葡聚糖内切酶、外切酶、苷酶活性分别为 1.73、2.84、3.29 U/mL,也相对最高;白腐菌的水解透明圈  $D_p$  值为 7.23,在试验真菌中相对最大,其滤纸条崩解速率约为 36 h,并非最快,但其产葡聚糖内切酶、外切酶、苷酶活性分别为 21.51、14.33、16.02 U/mL,显著高于其他单一菌株( $P < 0.05$ )。

纤维素降解是多种酶协同作用的结果,单一菌株通常无法产生所有的纤维素酶,而组合菌系可实现酶类型的复合和酶活力的提升,同时可提高降解过程中微生物菌群类型与数量、缩短纤维素降解时间,并促进难降解有机物的转化。本研究结果表明,与单一菌株相比,5 种组合菌系的产酶活性有明显提高,与白腐菌相比,菌系 JX-1、JX-2 的产内切酶活性分别较之提高 16.8%、3.3%,产苷酶活性提高 15.7%、7.1%,菌系 JX-1、JX-2 中均含有产酶活性相对较高的菌株 A-1、F-5、F-6;含单一菌株相对最多的组合菌系 JX-5,其产酶活性并非最高,甚至低于模式菌株白腐菌,这说明菌系产酶活性作用的发挥是多种酶有机协同的结果,而并非单一菌株酶活力的数量加和,而菌系中各菌株培养条件的差异对菌系酶活的影响、酶间的协同作用机理等有待深入研究;相对单一菌株,组合菌系的崩解速率有明显提高,菌系 JX-1 与潮湿纤维单胞菌菌株 B-3 的崩解速率一致,崩解时间约为 25 h,较热带假丝酵母菌株 F-5 崩解速率提高 34.2%;各菌系对芦苇枯茎的降解效率远高于白腐菌,菌系

JX-1 的降解效果相对最佳,恒温培养 5、10、15 d 的枯茎降解失重率  $D$  值分别为 16.15%、21.11%、33.37%,菌系 JX-1、JX-2、JX-3、JX-4 接种培养 15 d 时的枯茎降解失重率  $D$  值比白腐病菌株 F-6 分别提高 67.5%、44.9%、39.3%、46.7%。因此,由“链霉菌属 A-1 + 潮湿纤维单胞菌 B-3 + 热带假丝酵母 F-5 + 白腐菌 F-6”构建的菌系 JX-1 是促降解园林废弃物中纤维素相对较好的微生物组合,可应用于城市园林废弃物的资源化处理。

#### 参考文献:

- [1] 胡嘉伟,刘勇,马履一,等. 园林废弃物堆肥替代油松容器苗基质材料的研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2015,39(5):81-86.
- [2] 南红岩. 园林废弃物生物炭对氮磷的吸附特性及其对土壤氮磷的淋溶影响[D]. 重庆:重庆大学,2017.
- [3] 徐玉坤,孙向阳,栾亚宁,等. 园林废弃物堆肥红外光谱特性分析[J]. 土壤通报,2014,45(5):1071-1076.
- [4] 连鹏,范周周,郭东鑫,等. 城市污泥与园林废弃物混合堆肥施用对林地土壤微生物量碳、氮及酶活性的影响[J]. 环境科学学报,2018,38(7):2842-2848.
- [5] 龚小强,孙向阳,李燕,等. 组配改良剂对园林废弃物堆肥基质理化性质及鸟巢蕨生长影响[J]. 西北林学院学报,2015,30(5):126-132.
- [6] 范如芹,罗佳,高岩,等. 农业废弃物的基质化利用研究进展[J]. 江苏农业学报,2014,30(2):442-448.
- [7] 李文玉,栾亚宁,孙向阳,等. 接种外源微生物菌剂对园林废弃物堆肥腐熟的影响[J]. 生态学杂志,2014,33(10):2670-2677.
- [8] 孟国欣,查同刚,巩潇,等. 污泥添加园林废弃物堆肥过程参数变化及腐熟度综合评价[J]. 生态环境学报,2018,27(8):1538-1546.
- [9] 张登晓,周惠民,潘根兴,等. 城市园林废弃物生物炭对小白菜生长、硝酸盐含量及氮素利用率的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2014,20(6):1569-1576.
- [10] 孙旭,刘臣炜,张龙江,等. 农业废弃物制备生物有机肥及其在小白菜栽培上的应用[J]. 江苏农业学报,2017,33(6):1333-1341.
- [11] 王元明. 高温纤维素降解菌的筛选及其复合菌剂对秸秆降解效果的研究[D]. 南京:南京农业大学,2013.
- [12] 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.
- [13] 王小娟,袁旭峰,王慧,等. 木质纤维素分解复合菌系 WSD-5 组成菌株的分离及其产酶特性[J]. 微生物学通报,2011,38(4):508-515.
- [14] 张丽娟,曲继松,朱倩楠,等. 不同剂量外源纤维素酶对设施土壤生物活性与番茄生长的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2017,23(4):1089-1094.
- [15] Saravanakumar K, Kai D, Lu Z X, et al. Enhanced biocontrol activity of cellulase from *Trichoderma harzianum* against *Fusarium graminearum* through activation of defense-related genes in maize [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2018, 103:130-136.
- [16] Han J, Luo P, Wang Y, et al. The development of nanobiocatalysis via the immobilization of cellulose on composite magnetic nanomaterial for enhanced loading capacity and catalytic activity [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 119: 692-700.
- [17] 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.
- [18] 石春芳,李欣,莫紫琳,等. 醋渣纤维素降解菌的筛选鉴定及混合菌系的构建[J]. 科学技术与工程,2018,18(9):194-197.
- [19] 王芳芳. 黄孢原毛平革菌降解杨木纤维素酶解木素相关机制的研究及白腐菌木素生物降解的应用[D]. 济南:山东大学,2016.
- [20] 王凤娟,李伟庆,牟志美,等. 木质纤维素降解白腐菌的蛋白质组学研究进展[J]. 生物学杂志,2016,33(4):65-69.
- [21] 杨立霞,马欣然,王玉英,等. 三种白腐菌生物学特性与木质纤维素酶基因遗传多样性[J]. 生态学报,2016,36(7):2034-2043.
- [22] 付丽,朱红雨,杜明楠,等. 秸秆降解菌株的筛选、鉴定及生物学特性研究[J]. 中国农业大学学报,2018,23(12):39-49.
- [23] 何楠,令利军,冯蕾,等. 1 株产纤维素酶细菌的筛选、鉴定及生长特性[J]. 微生物学杂志,2017,37(1):43-49.
- [24] 周东兴,王广栋,吴欣慰,等. 腐熟堆肥中纤维素降解菌筛选鉴定及酶学特性研究[J]. 东北农业大学学报,2018,49(5):60-68.
- [25] 孙萌,刘洋,李寒,等. 有机物覆盖对核桃园土壤有机碳库及酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2018,24(1):270-278.
- [26] 殷中伟. 秸秆纤维素高效降解菌株的筛选及对秸秆降解效果初步研究[D]. 北京:中国农业大学,2010.
- [27] 夏强. 纤维素降解混合菌剂的构建及降解效能[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学,2008.
- [28] 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):1-15.
- [29] 王佳佳,奚永兰,常志州,等. 秸秆快腐菌(*Streptomyces rochei*)对还田麦秸化感物质的响应[J]. 江苏农业学报,2016,32(5):1081-1087.
- [30] 陈辉宁. 堆肥化中协同降解木质纤维素的混合菌筛选及其培养[D]. 长沙:湖南大学,2007.
- [31] 蒋明星,丁晓帆. 纤维素降解细菌的筛选及其酶活测定[J]. 中国农学通报,2015,31(36):161-164.
- [32] 顾文杰,张发宝,徐培智,等. 接种菌剂对堆肥微生物数量和酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报,2009,28(8):1718-1722.