

玉米秸秆低温降解菌研究进展综述

张旭, 穆泽彦, 关春玲, 张思雨, 王欣*

(黑龙江省能源环境研究院, 哈尔滨 150090)

摘要: 我国东北是种植玉米的主要地区, 玉米秸秆产量丰富。东北地区全年平均气温较低, 因此筛选在低温环境下能够有效处理玉米秸秆的微生物尤为重要。综述了在低温环境下处理玉米秸秆的微生物, 为我国东北地区复配高效降解玉米秸秆菌剂提供参考。

关键词: 玉米秸秆; 木质纤维素; 微生物降解

中图分类号: Q939.9

文献标志码: A

文章编号: 1674-8646(2024)14-0011-05

Research Progress of Low Temperature Degrading Bacteria of Maize Straw

Zhang Xu, Mu Zeyan, Guan Chunling, Zhang Siyu, Wang Xin*

(Heilongjiang Institute of Energy and Environment, Harbin 150090, China)

Abstract: Northeast China is the main area for planting corn, and the yield of corn straw is rich. The average temperature in Northeast China is low throughout the year, so it is particularly important to screen microorganisms that can effectively treat corn stalks in low temperature environment. The study reviews the microorganisms that treat corn straw in low temperature environment, which can provide reference for the combination of efficient degrading corn straw bactericides in Northeast China.

Key words: Corn stalk; Lignocellulose; Microbial degradation

2022年,我国玉米种植面积达到43 070 km²,其中东三省种植面积达到13 197.6 km²,约占全国种植面积的30.64%,玉米产量达到27 720.3万t。根据朱建春等^[1]归纳的玉米秸秆系数,推算出秸秆产量达到28 829.11万t,同比2012年玉米秸秆产量增长20.75%,环比2021年增长1.71%。其中,东三省玉米秸秆产量达到9625.51万t,占全国玉米秸秆产量的33.39%^[2]。以上数据表明,无论是玉米种植面积,还是玉米秸秆产量,东三省都占全国30%以上。降解玉米秸秆的方法有物理法、化学法和生物法。物理法包括粉碎加工处理、高压蒸汽爆破处理、膨化处理和电子束照射处理等。化学法包括酸处理、碱处理、氨化处理、氨碱复合处理和氧化处理等。生物处理则是利用一种或多种微生物,在微生物分泌酶的作用下降解玉米秸秆^[3]。物理处理成本较大,化学处理会对环境造成一定的污染,生物法处理玉米秸秆对环境友好,成本较低。微生物生长及微生物分泌的酶对温度敏感,为了筛选出适应我国东北低温气候的玉米秸秆降解微生物,综述了在低温环境下处理玉米秸秆的微生物。

1 微生物分泌低温条件下降解木质纤维素的酶

酶对温度敏感,其活性受温度影响较大,微生物之所以能够在低温条件下降解玉米秸秆,一方面是微生物自身能够在低温条件下存活,另一方面是其分泌的酶能够在低温条件下降解玉米秸秆,从而被微生物自身所利用。在低温环境下,酶的活性不一定最高,但只要具有一定的活性,就能够有效降解玉米秸秆。

玉米秸秆的化学组成主要是木质纤维素,由38%的纤维素、26%的半纤维和17%的木质素组成^[4]。降解纤维素的酶为复合酶系,包括外切葡聚糖酶(EC 3.2.1.91)、内切葡聚糖酶(EC 3.2.1.4)和 β -1,4-葡萄糖苷酶(EC 3.2.1.21)^[5]。Huy ND等^[6]克隆黄孢原毛平革菌内切葡聚糖酶(EC 3.2.1.4)基因在巴斯德毕氏酵母中表达,研究表明,20℃仍能保持50%的活性。Lee J P等^[7]从加拿大高山地区的土壤中分离出1株纤维素分解菌株类芽孢杆菌(Paenibacillus sp.),该菌种分泌的冷活性内切葡聚糖酶(EC 3.2.1.4)在20℃能保持79%的活性。Ogura J等^[8]发现,溶杆菌属(Lysobacter sp.)分泌 β -1,4-葡聚糖酶(EC 3.2.1.4)在20℃时保持55%的活性。Barbagallo R N等^[9]发现,黑曲霉(Aspergillus niger)分泌的 β -1,4-葡萄

糖苷酶(EC 3.2.1.21)在 20 ℃ 条件下具有 40% 的活性。Yang L 等^[10]发现,假单孢菌属(*Pseudomonas* sp.)分泌的 β -1,4-葡萄糖苷酶(EC 3.2.1.21)在 20 ℃ 条件下具有 60% 的活性。

降解半纤维素的酶主要为内切 1,4- β -木聚糖酶(EC 3.2.1.1.136)、木聚糖 1,4- β -木糖苷酶(EC 3.2.1.37)。Yin YR 等^[11]从耐盐嗜热双歧杆菌(*Thermobifida halotolerans*)中克隆了编码木聚糖 1,4- β -木糖苷酶(EC 3.2.1.37)的基因,在大肠杆菌中过量表达并纯化了重组蛋白,该酶在 15 ℃ 时有 27% 的活性,在 25 ℃ 时具有 40% 的活性。Zhang J 等^[12]克隆肠杆菌属(*Enterobacter ludwigii*)木聚糖 1,4- β -木糖苷酶(EC 3.2.1.37)的基因在大肠杆菌中表达,在 20 ℃ 时具有 40% 的活性。

降解木质素的酶主要为木质素过氧化物酶(EC 1.11.1.14)、锰过氧化物酶(EC 1.11.1.13)和漆酶(EC 1.10.3.2)。Khatoon N 等^[13]研究表明,黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)分泌的木质素过氧化物酶(EC 1.11.1.14)在 10 ℃、pH 为 3 时,酶活力为 43 U/mL。Zhang H 等^[14]研究贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)分泌的锰过氧化物酶(EC 1.11.1.13)在 20 ℃ 时对四环素的降解达到了 60~70 mg/L。Wang Z 等^[15]分离出 1 株密孔菌(*Pycnoporus* sp.),该菌株分泌的漆酶(EC 1.10.3.2)在 0 ℃ 时催化活性为 30.2%。

2 低温环境下微生物降解玉米秸秆

为了适应北方寒冷的气候条件,筛选能够降解玉米秸秆的嗜冷微生物和耐冷微生物,使其在低温环境下能够有效降解玉米秸秆。嗜冷微生物和耐冷微生物在自然界中有广泛的分布,其中嗜冷微生物生长温度不超过 20 ℃,最适生长温度为 15 ℃。耐冷微生物最适生长温度为 20 ℃,生长温度为 5 ℃~20 ℃^[16]。

2.1 单一微生物低温降解玉米秸秆

在高寒地区土壤中筛选能够在低温环境下降解玉米秸秆的微生物。黄亚丽等^[17]从中国黑龙江省、内蒙古等地区采集土壤样品,在 16 ℃ 条件下筛选 1 株具有低温秸秆降解作用的菌株,经分子生物学鉴定为长枝木霉(*T. longibrachiatum*),将该菌株与常温降解秸秆菌剂[娄彻氏链霉菌(*Streptomyces roche*)和地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)]进行对比实验。长枝木霉(*T. longibrachiatum*)接种的第 15 d,玉米秸秆降解率为 43.89%,比常温秸秆降解菌剂高 3.78%,比空白对照高 18.78%。接种的第 30 d 玉米秸秆降解率为 49.63%,比常温秸秆降解菌剂高 5.27%,比空白对照高 12.1%。接种的第 45 d,玉米秸秆的降解率为 56.73%,比常温

秸秆降解菌剂高 11.03%,比空白对照高 17.07%。长枝木霉(*T. longibrachiatum*)处理玉米秸秆后,玉米秸秆降解率显著高于常温秸秆降解菌剂和空白对照。长枝木霉(*T. longibrachiatum*)处理玉米秸秆后,有机质含量比常温秸秆降解菌剂提高 4.33%,比空白对照提高 12.96%。全氮含量比常温秸秆降解菌剂提高 9.38%,比空白对照提高 13.64%。碱解氮含量比常温秸秆降解菌剂提高 5.12%,比空白对照提高 15.09%。有效磷含量比常温秸秆降解菌剂提高 25.22%,比空白对照提高 7.09%。速效钾含量比常温秸秆降解菌剂提高 17.00%,比空白对照提高 25.53%。土壤养分含量各项指标都显著高于常温降解菌剂和空白对照,促进了物质循环。李娜^[18]从小兴安岭山区土壤中采集土样,在 18 ℃ 条件下筛选出 1 株在低温环境下降解玉米秸秆的菌种,经形态学和分子生物学鉴定为青霉菌属(*Penicillium* sp.),在 18 ℃ 条件下,该菌株的滤纸酶活为 18.4 U/mL,CMC 酶活 54.3 U/mL,15 d 内玉米秸秆降解率达到 55.6%,在低温环境下有较高的酶活性和玉米秸秆降解能力。赵旭等^[19]利用从定西市高海拔山地采集的样品,在 15 ℃ 条件下筛选出 1 株在低温环境下具有降解玉米秸秆能力的菌株,经分子生物学鉴定为青霉菌属(*Penicillium* sp.),该菌在液体培养 7 d 的木聚糖酶活性为 52.7 U/mL,CMCase 酶活性为 31.5 U/mL,滤纸酶活性为 29.6 U/mL。15 ℃ 条件下,该菌对玉米秸秆降解率达 29.8%。韩月颖等^[20]从长白山南坡麓下阔叶林中腐烂树叶下深度 10~20 cm 的土壤中筛选出 1 株温木质素降解菌嗜麦芽窄食单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*),在 15 ℃、pH 8.0、培养时间 3 d 时产酶效果最佳,其中,木质素过氧化物酶活力达到 23.34 U/mL、锰过氧化物酶活力达到 9.37 U/mL、漆酶活力达到 50.89 U/mL。Li D 等^[21]从黑龙江省哈尔滨市的土壤中筛选出 1 株嗜冷细菌鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas* sp.),该菌株具有较高的羧甲基纤维素酶(CMCase)活性,在接种量为 2.1%、培养温度为 10.4 ℃、发酵时间为 73.5 h 且 pH 为 7.2 时,获得了最高纤维素酶活性 16.95 U/mL。Jiang C 等^[22]筛选出 1 株嗜冷细菌节杆菌(*Arthrobacter* sp.),在初始 pH 6.74、温度 14.9 ℃、培养时间 6.87 d 和接种量 2.24% 的最佳酶活性条件下,木质素过氧化物酶活力达到 29.8 U/L,锰过氧化物酶的活力达到 56.4 U/L,玉米秸秆降解率达到 40.1%。邵娜娜等^[23]从内蒙古森林中表层土壤中取样,在 10 ℃ 下筛选出 1 株产纤维素酶的耐低温菌株,经形态学和分子生物学鉴定为链霉菌属(*Streptomyces* sp.)的放线菌,该菌生长的温度范围为 10 ℃~35 ℃,其中 25 ℃ 为最适生长温度。该菌在 18 ℃ 条件下能够高效崩解滤纸,该菌株所产的羧甲基纤维素酶

(CMCase)在4℃~35℃条件下酶活性稳定,该菌株不仅能够在低温环境下生长且分泌的CMCase在低温条件下活性稳定。冯欣欣^[24]等从新疆高海拔地区取样,在4℃条件下筛选出4株能够在低温条件下降解玉米秸秆的耐冷菌,经形态学和分子生物学鉴定,4株菌中有2株为桔绿木霉(*Trichoderma citrinoviride*),其余2株菌分别为黄青霉(*Penicillium chrysogenum*)和脉纹孢菌(*Neurospora sitophila*),4株菌在低温条件下对玉米秸秆降解率都达到40%以上,其中,桔绿木霉(*Trichoderma citrinoviride*)秸秆降解率最高,达到47%以上。杨会敏等^[25]利用愈创木酚筛选培养基筛选产生漆酶的菌株,利用CMC-Na筛选培养基筛选产生纤维素的菌株,利用木聚糖筛选培养基筛选产生半纤维酶的菌株,用苯胺蓝筛选培养基筛选产生过氧化物酶的菌株,对保存的45个真菌进行平板筛选,筛选出6株在低温条件下降解玉米秸秆降解效果较好的菌株,其中1株菌在20℃条件下处理50d,玉米秸秆降解率达到43.4%。在低温环境下筛选降解玉米秸秆的菌种,为接下来复配复合菌剂打下了基础。

2.2 复合微生物低温降解玉米秸秆

单一微生物很难分泌完整的纤维素酶系,因此可通过构建复合微生物分泌完整的纤维素酶系降解玉米秸秆。

2.2.1 从环境中筛选后复配

复合微生物可先从环境中筛选低温条件下降解玉米秸秆的微生物,复配成复合菌剂用于低温条件下降解玉米秸秆。Zhang S^[26]等从10℃低温环境下的土壤中分离得到3株具有高羧甲基纤维素酶活性的纤维素降解菌株,S-7为枝孢霉属(*Cladosporium* sp.),ZS-8为黑斑病菌(*Alternaria porri*),ZS-10为哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)。将它们混合,标记为ZS-M,并在15℃下用于玉米秸秆降解,静置培养30d后,ZS-7、ZS-8、ZS-10和ZS-M对玉米秸秆的高效降解率分别为45.98%、47.96%、34.215%和33.56%。于素素^[27]从辽宁省沈阳市沈阳农业大学长期玉米秸秆还田科研试验基地采集土样,在低温条件下筛选出3株具有秸秆降解能力的微生物,经分子生物学鉴定为嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)、约氏黄杆菌(*Flavobacterium johnsoniae*)和泛菌属(*Pantoea rodarii*),将3株菌组合在一起构建了1个复合菌系,将3株菌两两组合又构建了3个复合菌系,在测定纤维素酶活力试验和45d固态液态低温发酵试验中,3株菌构成的复合菌系均优于其他3个复合菌系。邢慧珍^[28]从不同高寒地区的多个土壤样品中筛选出8株在16℃下对秸秆有降解作用的菌株,采用形态学和分子生物学对8株菌株进行鉴定,其中2株为黑曲霉属,其他6

株分别为丛毛单胞菌属、暹罗芽孢杆菌属、芽杆菌属、苏云金杆菌属、青霉属和草酸青霉属。将8株菌构建了31种复合菌系,结果表明,黑曲霉属、苏云金杆菌属和青霉属构建的复合菌系对秸秆的降解率最高。张爽^[29]从土壤中筛选出3株在10℃下具备玉米秸秆降解能力的微生物,经分子生物学鉴定为链格孢霉菌(*Alternaria* sp.)、哈茨木霉菌(*Trichoderma harzianum*)和枝孢霉菌(*Cladosporium* sp.),将3株菌构建复合菌系用于玉米秸秆还田实验,枝孢霉菌(*Cladosporium* sp.)将玉米秸秆降解了30.64%,链格孢霉菌(*Alternaria* sp.)将玉米秸秆降解了30.53%,哈茨木霉菌(*Trichoderma harzianum*)将玉米秸秆降解了27.79%,复合菌系将玉米秸秆降解了26.06%。在15℃条件下,经过30d静止发酵实验,枝孢霉菌(*Cladosporium* sp.)将玉米秸秆降解了45.98%,链格孢霉菌(*Alternaria* sp.)将玉米秸秆降解了47.96%,哈茨木霉菌(*Trichoderma harzianum*)将玉米秸秆降解了34.22%,复合菌系将玉米秸秆降解了33.56%。无论是玉米秸秆还田实验,还是静止发酵实验,复合菌系对玉米秸秆的降解率均优于单一菌株。陈世珩等^[30]从长白山静水污泥中取样用于玉米秸秆低温降解菌的筛选,在15℃条件下筛选出5株玉米秸秆低温降解菌,经分子生物学鉴定,5株菌分别为链霉菌(*Streptomyces*)、青霉(*Penicillium*)、钩状木霉(*T. asperellum*)、棘孢木霉(*T. asperellum*)和曲霉(*Aspergillus*),其中,青霉(*Penicillium*)与其他菌株存在拮抗作用,选用其他4株菌构建复合菌系,其曲霉(*Aspergillus*)、链霉菌(*Streptomyces*)和钩状木霉(*T. asperellum*)构建的复合菌系在15℃条件下对滤纸降解率达到69.96%,优于其他3种复合菌系,在15℃对玉米秸秆降解率达到60.12%,比空白对照组高56.48%。说明用于低温降解玉米秸秆的菌系并不是菌种丰富度越高越好,当有的菌株对其他菌株的生长存在拮抗作用时,反而会影响其他菌株的生长,从而降低玉米秸秆降解能力。路垚等^[31]从河北省土壤中取样,在10℃低温条件下筛选出3株细菌、2株真菌和3株放线菌,与保存的2株菌构建2组复合菌系,复合菌系1纤维素酶活性为31.0U/mL,复合菌系2纤维素酶活性为53.0U/mL,复合菌系1对玉米秸秆降解率为31.8%,复合菌系2对秸秆降解率为45.1%,对复合菌系2鉴定为葡萄球菌(*Staphylococcus* sp.)、白蚁菌(*Isoptericola* sp.)、长柄木霉(*Trichoderma longibrachiatum*)和芬莱氏链霉菌(*Streptomyces finlayi*)。

2.2.2 从现有的微生物中筛选

在现有保存能够降解玉米秸秆的微生物中,有些微生物在低温环境下仍具有降解玉米秸秆的活性,因此可在低温环境下从现有保存的微生物中筛选,筛选

出玉米秸秆降解菌再进行复配。台少华等^[32]对保存的 86 株木霉和 8 株真菌[假禾谷镰孢(*Fusarium pseudograminearum*)、葡萄座腔菌(*Botryosphaeria dothidea*)、尖孢镰孢(*Fusarium oxysporum*)、灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)、腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)、立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、禾谷丝核菌(*Rhizoctonia cerealis*)、白腐盾壳霉(*Coniothyrium diplodiella*)]采用 15 °C 下低温培养,结合纤维素酶、半纤维素酶、漆酶活性筛选,筛选出 1 株木霉菌株,经形态学和分子生物学鉴定为近深绿木霉(*Trichoderma paratroviride*),该菌株在 15 °C 条件下对玉米秸秆降解率为 22.28%,该菌种对 8 种病原菌[葡萄座腔菌(*Botryosphaeria dothidea*)、禾谷丝核菌(*Rhizoctonia cerealis*)、灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)、立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、白腐盾壳霉(*Coniothyrium diplodiella*)、假禾谷镰孢(*Fusarium pseudograminearum*)、腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)和尖孢镰孢(*Fusarium oxysporum*)]均有抑制作用。曾叶等^[33]测定了 31 种木霉属[非洲哈茨木霉(*Trichoderma afroharzia-num*)、深褐木霉(*T. atrobrunneum*)、深绿木霉(*T. atroviride*)、色精木霉(*T. chromospermum*)、盖姆斯木霉(*T. gamsii*)、球形孢木霉(*T. globoides*)、贵州木霉(*T. guizhouense*)、钩状木霉(*T. hamatum*)、河北木霉(*T. hebeiense*)、康宁木霉(*T. koningii*)、拟康宁木霉(*T. koningiopsis*)、光孢木霉(*T. laevisporum*)、新中国木霉(*T. neosinense*)、近深绿木霉(*T. paratroviride*)、近渐绿木霉(*T. paraviridescens*)、墨绿木霉(*T. perviride*)、彼得森木霉(*T. petersenii*)、假密梗木霉(*T. pseudodensum*)、垫状木霉(*T. pulvinatum*)、塔梗木霉(*T. pyramidale*)、俄罗斯木霉(*T. rossicum*)、四川木霉(*T. sichuanense*)、西蒙斯木霉(*T. simmonsii*)、弯梗木霉(*T. sinuosum*)、球孢木霉(*T. sphaerosporum*)、里氏木霉(*T. reesei*)、直毛木霉(*T. strictipile*)、喜温木霉(*T. thermophilum*)、绒毛木霉(*T. tomentosum*)、中国热带木霉(*T. tropicosinense*)和绿木霉(*T. virens*)]的 111 个菌株低温下的生长状况、水解纤维素和木聚糖产生的透明圈直径及部分菌株对玉米秸秆的相对降解率,研究表明,在 10 °C 和 5 °C 培养分别有 100 株和 42 株供试菌株能够生长,在 15 °C 均能生长,其中 19 个菌株培养 6 d 产生的水解纤维素和木聚糖产生的透明圈直径大于 60 mm、培养 10 d 对玉米秸秆的相对降解率为 0.45%~8.09%;菌株 9145、TC425、TC505 和 8987 的纤维素滤纸酶(FPase)、内切 β -1,4-葡聚糖酶(CMCase)和木聚糖酶(Xylanase)活性随着培养时间呈现动态变化,其中前两者的活性变化趋势基本一致,与相对降解率关系密切。因此,钩状木霉、西蒙斯木霉、深绿木霉和深褐木霉菌株在低温条件下对玉米秸秆具有较高的

降解能力。王一然等^[34]构建了 3 个复合菌系,复合菌系 1 由 10 株鞘氨醇杆菌(*Sphingobacter*)、1 株代尔夫特菌(*Delfteia*)、1 株鞘氨醇单胞菌(*Sphingosphomonas*)、4 株地杆菌(*Geobacter*)、2 株黄杆菌(*Flavobacterium*)和 2 株节杆菌(*Arthrobacter*)组成,复合菌系 2 在复合菌系 1 的基础上少 2 株节杆菌(*Arthrobacter*),复合菌系 3 在复合菌系 1 的基础上少 2 株黄杆菌(*Flavobacterium*)和 2 株节杆菌(*Arthrobacter*),复合菌系 2 和复合菌系 3 是在复合菌系 1 的基础上进行优化,在 15 °C 条件下培养 12 d 后,秸秆降解率相比于复合菌系 1 没有显著性变化,但对于纤维素酶的活性峰值,复合菌系 2 提高 43.66%,复合菌系 3 提高 37.99%。对于半纤维素酶活性峰值,复合菌系 2 提高 21.40%,复合菌系 3 提高 12.91%,说明经过优化后的菌群在低温条件下对玉米秸秆的降解潜力有所升高,也说明复合菌系并不是菌种丰富度越大效果越好。张必周等^[35]利用现有保藏的菌株[A3(*Achromobacter deleyi* strain LMG 3458)、A4(*Pseudomonas plecoglossicida* strain NBRC)、A(*Aspergillus terreus*)和 P(*Phanerochaete chrysosporium*)]构建 4 组复合菌系,复合菌系 1 为 A3 + A4,复合菌系 2 为 A3 + A4 + A,复合菌系 3 为 A3 + A4 + P,复合菌系 4 为 A3 + A4 + A + P,结果表明,复合菌系 4 在 15 °C 低温条件下对玉米秸秆的降解率最高,达到 38.79%,比复合菌系 1 提高 13.04%,滤纸酶活性比复合菌系 1 提高了 4.44 U/mL,木聚糖酶活性比复合菌系 1 提高了 4.00 U/mL,漆酶活性比复合菌系 1 提高了 60.04 U/L,纤维素、半纤维素和木质素降解率较复合菌系 1 分别提高了 10.77%、4.15% 和 21.10%,说明复合菌系 4 具有低温条件下较高的玉米秸秆降解效率。

2.2.3 高通量测序构建复合菌系

随着高通量测序技术的发展,对样本中提取得到的所有微生物进行检测,分析微生物的丰度,探究其降解木质纤维素的潜力。张鑫等^[36]在北方高寒地区采集 57 份菌源材料,从 20 °C 逐渐降低到 15 °C 条件下继代培养,通过测定 3 种不同酶的活性、木质纤维素降解率和玉米秸秆降解率,明确其玉米秸秆降解特性,经过层层筛选后获得 3 个低温条件下高效降解玉米秸秆的菌系,在 15 °C 条件下培养 20 d 后,编号为 M14 的复合菌系对玉米秸秆降解率达到 33.34%,由高通量测序可知,M14 主要由固氮螺旋菌(*Azospirillum*)和肠球菌属(*Enterococcus*)组成。编号为 M2 的复合菌系对玉米秸秆降解率达到 31.33%,由高通量测序可知,M2 主要由代尔夫特菌属(*Delftia*)、鞘氨醇杆菌属(*Sphingobacterium*)组成。编号为 M44 的复合菌系对玉米秸秆降解率达到 35.33%,高出对照组 12.25%,半纤维

素降解率高出对照组 5.47% ,木质素降解率高出对照组 23.13% ,滤纸酶活性高出对照组 7.41% 、内切葡聚糖酶活性高出对照组 1.44% 、木聚糖酶活性高出对照组 13.85% ,漆酶的活性高出对照组 17.88% ,由高通量测序可知,M44 中的优势属为毛球菌属 (*Trichococcus*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)。何志刚等^[37]从吉林省和辽宁省高寒地区采集 4 份菌源样品,编号分别为 SLA、SLW、SLX 和 SLZ,在 10℃ 条件下培养 15 d,SLA 对玉米秸秆的降解率达到 38.00% ,SLW 对玉米秸秆的降解率达到 41.33% ,SLX 对玉米秸秆的降解率达到 58.97% ,SLZ 对玉米秸秆的降解率达到 50.10% ,滤纸酶活性 SLX 最高,通过高通量测序可知,复合菌群 SLX 主要含有酸杆菌门 (*Acidobacteria*)、芽单胞菌门 (*Gemmatimonadetes*)、放线菌门 (*Actinobacteria*)、变形菌门 (*Proteobacteria*) 和拟杆菌门 (*Verrucomicrobia*) 等菌群。在高寒地区采集菌样,在低温条件下进行筛选,淘汰不能在低温条件下降解玉米秸秆的微生物,测定各种酶的活性,从而优选出低温条件下降解玉米秸秆较好的菌样,通过高通量测序技术可以确定其主要菌种。

3 展望

玉米秸秆有多种利用途径,其经粉碎后还田作为肥料能够提升土壤有机碳及腐殖酸类物质的含量,增加腐殖化程度,加强土壤供肥能力^[38]。玉米秸秆经微生物菌种和酶制剂发酵后用作饲料,发酵后的玉米秸秆适口性好且营养价值提高^[39]。玉米秸秆还可用于厌氧发酵产甲烷,由于其结构稳定,直接用于厌氧发酵会导致发酵时间延长,产气效果减弱。施付艳等^[40]用玉米秸秆作为原料用于厌氧发酵前,用绿色木霉进行预处理,结果甲烷累计产量比未经预处理组提高了 39.0%。我国东北地区秸秆产量大,全年平均温度低,因此需筛选并复配出低温条件能够高效降解玉米的微生物。未来,应继续筛选低温环境下能够降解玉米秸秆的微生物,选择不同采样地区,筛选出土著微生物进行复配,通过复合菌剂降解玉米秸秆,提升降解效率。微生物降解玉米秸秆是通过酶的作用,当发现低温环境下酶有较高的活性时,利用分子生物学技术,将酶基因克隆到表达载体,在耐低温微生物细胞内表达。复配微生物后,通过多组学研究其机制,明确菌与菌之间、菌与环境之间的协同机制,为东北地区玉米秸秆的应用提供理论依据。

参考文献:

[1] 朱建春,李荣华,杨香云,等. 近 30 年来中国农作物秸秆资源量的时空分布[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2012,40

(04):139-145.

- [2] 中华人民共和国国家统计局. 中国统计年鉴[M]. 北京:中国统计出版社,2023.
- [3] 张野,王吉平,苏天明,等. 筛选微生物降解木质纤维素的研究进展[J]. 中国生物工程杂志,2020,40(06):100-105.
- [4] Li X, Kim TH, Nghiem NP. Bioethanol production from corn stover using aqueous ammonia pretreatment and two-phase simultaneous saccharification and fermentation (TPSSF) [J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(15):5910-5916.
- [5] Bhat MK, Bhat S. Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications[J]. *Biotechnology Advances*, 1997, 15(3/4):583-620.
- [6] Huy ND, Nguyen CL, Park HS, et al. Characterization of a novel manganese dependent endoglucanase belongs in GH family 5 from *Phanerochaete chrysosporium* [J]. *J Biosci Bioeng*, 2016, 121(02):154-159.
- [7] Lee JP, Seo GW, An SD, et al. A cold-active acidophilic endoglucanase of *paenibacillus* sp. Y2 isolated from soil in an alpine region [J]. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 2017, 60(03):257-263.
- [8] Ogura J, Toyoda A, Kurosawa T, et al. Purification, characterization, and gene analysis of cellulase (Cel8A) from *Lysobacter* sp. IB-9374 [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2006, 70(10):2420-2428.
- [9] Barbagallo RN, Spagna G, Palmeri R, et al. Selection, characterization and comparison of β -glucosidase from mould and yeasts employable for enological applications [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2004, 35(01):58-66.
- [10] Yang L, Ning ZS, Shi CZ, et al. Purification and characterization of an isoflavone-conjugates-hydrolyzing β -glucosidase from endophytic bacterium [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(07):1940-1944.
- [11] Yin YR, Xian WD, Han MX, et al. Expression and characterisation of a pH and salt tolerant, thermostable and xylose tolerant recombinant GH43 β -xylosidase from *Thermobifida halotolerans* YIM 90462T for promoting hemicellulose degradation [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2019, 112(03):339-350.
- [12] Zhang J, Cui T, Li X. Screening and identification of an enterobacter ludwigii strain expressing an active β -xylosidase [J]. *Annals of Microbiology*, 2018, 68(05):261-271.
- [13] Khatoon N, Jamal A, Ali MI. Lignin peroxidase isoenzyme: a novel approach to biodegrade the toxic synthetic polymer waste [J]. *Environmental Technology*, 2019, 40(11):1366-1375.
- [14] Zhang H, Zhang X, Geng A. Expression of a novel manganese peroxidase from *Cerrena unicolor* BBP6 in *Pichia pastoris* and its application in dye decolorization and PAH degradation [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2020, 153:107402.
- [15] Wang Z, Cai Y, Liao X, et al. Production and characterization of a novel laccase with cold adaptation and high thermal stability from an isolated fungus [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2010, 162(01):280-294.
- [16] Morita RY. Psychrophilic bacteria [J]. *Bacteriological Reviews*, 1975, 39(02):144-167.
- [17] 黄亚丽,黄媛媛,马慧媛,等. 低温秸秆降解真菌的筛选及在秸秆还田中的应用[J]. 中国农学通报,2020,36(21):53-60.

(下转第 19 页)

料可降低窑尾烟气中 SO_2 、 NO_x 的排放量,有利于水泥企业实现超低排放。

4 结论

在窑产量无明显变化的情况下,未投加废旧轮胎时,熟料标准煤耗为 99.95 kg/t。随着废旧轮胎替代燃料投加量的增加,熟料标准煤耗逐渐降低,当废旧轮胎投料量为 5.0 t/h 时,熟料标准煤耗降低了 16.05 kg/t。废旧轮胎中氯离子含量波动较大,部分废旧轮胎氯离子含量高达 2.0% 左右。为了控制熟料中氯离子含量,需严格控制废旧轮胎替代燃料的投加量,当控制废旧轮胎投加量为 5.0 t/h 时,熟料中氯离子含量符合企业控制要求。在不同废旧轮胎投加量下,熟料的标准稠度用水量、凝结时间变化不明显,熟料 28 d 抗压强度略微降低,综合考虑控制废旧轮胎投加量小于 5.0 t/h。使用废旧轮胎替代煤炭, SO_2 、 NO_x 排放浓度略微降低,CO 排放浓度略微略有增加。煤炭硫化物、氮氧化物

含量较高,用废旧轮胎作为替代燃料可降低窑尾烟气中 SO_2 、 NO_x 排放量,有利于水泥企业实现超低排放。废旧轮胎替代燃料的热值偏低,为 23.04 MJ/kg。为了进一步提升废旧轮胎替代燃料的投加量,可考虑把废旧轮胎替代燃料破碎得更细,增加废旧轮胎在分解炉中的燃烧速率,进一步降低熟料生产的标准煤耗,提高燃料替代率,减少因燃烧煤炭而产生的二氧化碳排放量。

参考文献:

- [1] 马世春. 轮胎翻新—废旧轮胎综合利用的最佳选择[J]. 中国橡胶, 2007(01): 22–25.
- [2] 张震,连永祥. 我国废橡胶利用现状和发展趋势浅谈[J]. 科技风, 2015(05): 101.
- [3] T/CIC 049—2021, 水泥窑用固体替代燃料[S].
- [4] 姚秀丽. 废旧轮胎作为替代燃料在水泥生产中的应用[J]. 水泥, 2023(03): 23–24.
- [5] 刘文欢,刘宇,王涛,等. 危废替代燃料对水泥熟料性能、重金属含量及节煤减碳影响的应用研究[J]. 水泥,2023(07): 49–53.
- (上接第 15 页)
- [18] 李娜,韩永武,金勋,等. 1 株低温秸秆纤维素降解菌的分离、鉴定及降解特性[J]. 玉米科学,2019,27(01): 159–163.
- [19] 赵旭,王文丽,李娟. 玉米秸秆低温降解菌的分离筛选及鉴定[J]. 土壤与作物,2017,6(03): 192–198.
- [20] 韩月颖,张喜庆,曲云鹏,等. 1 株低温木质素降解菌的筛选、产酶优化及酶学性质[J]. 微生物学通报,2021,48(10): 3700–3713.
- [21] Li D, Feng L, Liu K, et al. Optimization of cold-active CMCase production by psychrotrophic *Sphingomonas* sp. FLX-7 from the cold region of China[J]. Cellulose, 2016, 23: 1335–1347.
- [22] Jiang C, Cheng Y, Zang H, et al. Biodegradation of lignin and the associated degradation pathway by psychrotrophic *Arthrobacter* sp. C2 from the cold region of China[J]. Cellulose, 2020, 27: 1423–1440.
- [23] 邵娜娜,轩换玲,罗锋,等. 1 株产低温纤维素酶放线菌的分离与产酶研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(24): 159–163, 168.
- [24] 董雪丽,季静,张松皓,等. 1 株耐低温纤维素降解菌的发酵条件优化和秸秆降解研究[J]. 农业生物技术学报, 2022, 30(05): 978–989.
- [24] 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(08): 1468–1476.
- [25] 杨会敏,李伟,汪世华,等. 耐低温玉米秸秆高效腐解真菌菌株的筛选及评价[J/OL]. 菌物研究: 1–12. [2023–04–23]. https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=nouGVBS_tgfw9mBbyTDXXLhKloAUEBzJ72QLFq-xnOCOGfxUOT6F9M.
- [26] Zhang S, Shan D, Liu X, et al. Cellulose-degrading strains: their screening and application to corn straw in low-temperature environments[J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2018, 27(05): 2349–2355.
- [27] 于素素. 低温玉米秸秆降解菌的筛选及其复合菌系产酶条件优化[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2019.
- [28] 邢慧珍. 玉米秸秆低温降解菌的筛选及复合菌系构建[D]. 天津: 河北工业大学, 2020.
- [29] 张爽. 低温纤维素降解菌的筛选及其玉米秸秆降解效果研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018.
- [30] 陈世珩,吕兆丰,王道武,等. 耐低温降解玉米秸秆复合菌剂的构建及其降解效果评价[J]. 安徽农业科学, 2022, 50(04): 64–68.
- [31] 路垚,刘雅辉,孙建平,等. 耐低温降解纤维素菌株的筛选及复合菌系构建[J]. 安徽农业科学, 2022, 50(10): 6–10, 27.
- [32] 台少华,扈进冬,位绍文,等. 低温降解秸秆木霉菌的筛选、鉴定及功能评价[J]. 山东科学, 2023, 36(02): 50–58.
- [33] 曾叶,庄文颖,余知和,等. 低温降解玉米秸秆的木霉菌株筛选[J]. 微生物学通报, 2023, 50(09): 3939–3951.
- [34] 王一然,康志超,朱国鹏,等. 耐低温玉米秸秆降解菌群的优化及其效果[J]. 浙江农业学报, 2022, 34(12): 2720–2727.
- [35] 张必周,洪博,张涛,等. 低温条件下玉米秸秆降解菌复配效果及降解特性研究[J]. 北方农业学报, 2021, 49(06): 71–78.
- [36] 张鑫,青格尔,高聚林,等. 玉米秸秆低温降解复合菌的筛选及其菌种组成[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(07): 1565–1574.
- [37] 何志刚,刘慧屿,刘艳,等. 基于高通量测序技术筛选低温秸秆降解菌群的研究[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2021, 41(06): 75–84.
- [38] 高盼,王宇先,蔡姗姗,等. 玉米秸秆还田下深松年限对土壤有机碳含量及胡敏酸结构特征的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2024(01): 214–222.
- [39] 寇宇,梁代华,刘双双,等. 玉米秸秆发酵饲料的研究进展[J]. 饲料博览, 2023(05): 18–22.
- [40] 施付艳,苏小红,王欣,等. 绿色木霉预处理协同外源氢对秸秆厌氧发酵产气性能提升的影响[J]. 中国沼气, 2023, 41(01): 47–52.