

真菌固态载体预处理对不灭菌玉米秸秆降解的影响

郭建斌 郭亚琳 赵倩 吴树彪 董仁杰
(中国农业大学工学院, 北京 100083)

摘要: 采用云芝变色栓菌 (*Trametes versicolor*)、色精木霉菌 (*Trichoderma chromospermum*)、深绿木霉菌 (*Trichoderma atroviride*) 和云芝变色栓菌分别与色精木霉菌、深绿木霉菌的混合菌对干黄玉米秸秆进行真菌预处理。结果显示, 真菌预处理不灭菌秸秆 30 d 后, 木质纤维素的降解率几乎可以忽略, 在不灭菌的环境中, 接入的真菌对秸秆本身附着的微生物群落不能形成竞争优势, 造成较低的木质素降解率。而云芝变色栓菌、色精木霉菌、深绿木霉菌以及云芝变色栓菌分别与色精木霉菌、深绿木霉菌的混合菌对灭菌秸秆预处理 30 d 后, 木质素的降解率分别为 34.0%、38.1%、38.1%、39.1% 及 40.3%。为降低秸秆的灭菌成本, 将真菌预处理 30 d 后的灭菌秸秆作为真菌固态载体与不灭菌秸秆按照 1:9、1:4 及 1:1 的干质量比混合培养 30 d, 结果显示, 采用云芝变色栓菌分别与色精木霉菌和深绿木霉菌的混合菌固态载体预处理不灭菌秸秆, 木质素降解率可达到 30% ~ 40%。因而, 真菌固态载体可以较好地适应非灭菌环境并对秸秆中的木质素进行有效降解, 是一种有效降低过程成本的预处理手段。

关键词: 玉米秸秆; 木质素; 真菌预处理; 载体; 灭菌

中图分类号: S216.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2016)05-0197-06

Effect of Precolonized Fungi Carrier on Lignin Degradation of Corn Straw under Unsterilized Condition

Guo Jianbin Guo Yalin Zhao Qian Wu Shubiao Dong Renjie
(College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: Delignification is crucial in the energy utilization process of lignocellulose materials. In this study, efficiency of biological pretreatment of corn straw using different carriers of pre-colonized fungus, including *Trametes versicolor*, *Trichoderma chromospermum*, *Trichoderma atroviride* and combined fungi (*T. versicolor* + *T. chromospermum*, *T. versicolor* + *T. atroviride*) was investigated under unsterilized condition. Results showed that nearly negligible lignin degraded in the process of direct fungal pretreatment of unsterilized corn straw within 30 d. It seems that inoculum of fungi cannot compete to the indigenous microorganisms of unsterilized corn straw, resulting in low lignin degradation rate. However, the degradation rates of 34.0%, 38.1%, 38.1%, 39.1% and 40.3% lignin in the sterilized corn straw were observed after 30 d of cultivation by *T. versicolor*, *T. chromospermum*, *T. atroviride*, *T. versicolor* + *T. chromospermum* and *T. versicolor* + *T. atroviride*, respectively. To decrease the cost of sterilization, corn straw was pretreated by *T. versicolor* + *T. atroviride* and *T. versicolor* + *T. atroviride* with 1:9, 1:4 and 1:1 of the ratio of pre-colonized carrier and substrate for 30 d. During *T. versicolor* + *T. chromospermum* and *T. versicolor* + *T. atroviride*, pretreatment with an inoculum/substrate ratio of 1:9, 1:4 and 1:1, the degradation rate of lignin were 30% ~ 40%. Therefore, pre-colonized carrier inoculum is an effective pretreatment method to decrease cost due to pre-colonized carrier can adjust the unsterilized condition and degrade lignin effectively.

Key words: corn straw; lignin; fungal pretreatment; carrier; sterilization

收稿日期: 2015-11-27 修回日期: 2015-12-23
基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金项目(15055171)、“十二五”国家科技支撑计划项目(2015BAD21B04)、北京市科技计划项目(D141100001214001、Z151100001115010)和中欧国际合作项目(SQ2013Z0A000017)
作者简介: 郭建斌(1982—),男,副教授,博士,主要从事固态废弃物的资源化和无害化处理研究,E-mail: jianbinguo@cau.edu.cn
通信作者: 吴树彪(1983—),男,副教授,主要从事有机废弃物生物处理及资源化研究,E-mail: wsb4660017@126.com

引言

我国农作物秸秆资源量十分丰富,年产秸秆总量可达 7 亿 t 左右^[1]。作物秸秆的用途主要有造纸、饲料、农村能源、还田等^[2]。其中,厌氧发酵技术能够将秸秆转化为高效清洁能源,解决秸秆露天燃烧带来的大气污染问题,缓解农村能源紧张局面,同时发酵剩余物还田利用还可实现养分的循环,促进农业可持续发展。然而,由于秸秆主要由木质素、纤维素及半纤维素构成,木质素属高分子芳香类聚合物,难以水解,而纤维素被木质素和半纤维素以共价键形式包裹其中,导致其难以降解,而且,纤维素的结晶性,聚合程度等因素也增大了木质纤维素的降解难度,因此将秸秆类原料用于厌氧发酵,水解酸化往往成为其限速阶段,发酵周期长,难以推广应用。为提高秸秆类原料的甲烷转化率,需对其进行必要的预处理,目的在于破坏木质素结构^[3-5]。常见的预处理方法有物理^[6]、化学^[7-8]、生物^[9-11]及组合预处理^[12-14],其中生物预处理具有低能耗、低污染、高产量的优点,引起学者们广泛关注。然而,尽管生物预处理能够显著地增加甲烷的产量^[15-16],但以往研究中,在微生物预处理之前往往需对原料进行灭菌处理^[9-11,17],灭菌带来的能耗足以抵消由于预处理而增加的甲烷产量,经济效益比较低^[19]。因此,本文利用已经筛选获得的真菌菌株,采用单一及混合真菌预处理干黄玉米秸秆,比较秸秆灭菌与否对其木质纤维素降解的影响;同时,为降低由于灭菌而增加的成本,进一步利用真菌预处理后的灭菌秸秆作为真菌固态载体,研究其对不灭菌干黄玉米秸秆降解效果的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

干黄玉米秸秆取自于中国农业大学上庄实验站,秸秆取回后用水洗掉表面灰尘,风干后粉碎至小于 30 mm(3ZXC 型中新牌多功能粉碎机,出料粒度:1~30 mm),于 60℃ 干燥至含水率为 10% 以下备用。干黄玉米秸秆的组成成分如表 1 所示。

试验采用 3 株真菌,白腐真菌云芝变色栓菌(*Trametes versicolor*)、色精木霉菌(*Trichoderma chromospermum*)以及深绿木霉菌(*Trichoderma atroviride*)均取自于中国科学院微生物研究所。菌株活化及单一与混合孢子悬浮液的制备:将每种真菌在马铃薯固体培养基上培养 7 d(28℃)后,取 3 片带有真菌菌丝体的琼脂培养基转移到装有 20 mL 的马铃薯液体培养基的 300 mL 三角瓶中,三角瓶用棉

花封口,在 28℃ 条件下培养 7 d,加入 40 mL 去离子水后混匀^[9,15,19]得到各菌株单一孢子混合液。混合菌种孢子悬浮液为将云芝变色栓菌分别与色精木霉菌、深绿木霉菌的孢子悬浮液按照 1:1(体积比)混合均匀待用。

表 1 秸秆样品组成成分
Tab.1 Components of corn straw samples

参数	数值
纤维素质量分数/%	39.4 ± 0.60
半纤维素质量分数/%	32.1 ± 0.10
木质素质量分数/%	3.4 ± 0.69
可溶性糖质量分数/%	3.8 ± 0.03
pH 值	6.5 ± 0.01
干物质质量分数/%	93.5 ± 0.36
有机干物质质量分数/(干物质)	80.4 ± 1.88

1.2 真菌预处理玉米秸秆

秸秆灭菌处理:将 12.5 g(干质量)粉碎后的玉米秸秆装入 300 mL 三角瓶在 121℃ 条件下灭菌 20 min,冷却到室温后,每个三角瓶接种 2.5 mL 制备的单一或混合孢子悬浮液,利用去离子水调整含水率为 75%(包含接种的水分)^[20-22],最后以棉花封口,避免杂菌污染。

秸秆不灭菌处理:将 12.5 g(干质量)粉碎后的玉米秸秆装入 300 mL 三角瓶后,直接接种入 2.5 mL 的单一或混合孢子悬浮液,利用去离子水调整含水率为 75%,以棉花封口。

对照组:将 12.5 g(干质量)粉碎后的玉米秸秆装入 300 mL 三角瓶后,只添加相同量的马铃薯液体培养基,并利用去离子水调整含水率为 75%,以棉花封口。

培养条件与取样:真菌接种完成后,将所有实验组置于 LRH 系列生化培养箱(上海一恒科技有限公司),控制温度为 28℃,湿度为 75%。静置培养 30 d。30 d 后取样,置于 -20℃ 条件下贮存用于后续试验分析,所有的试验组至少 3 个平行。

1.3 真菌固态载体预处理玉米秸秆

复合菌种通常被认为较单一菌种具有更强的环境适应能力^[23-24],因而,本研究中将 1.2 节中接种混合菌种孢子悬浮液培养 30 d 后的灭菌秸秆作为真菌固态载体,将其按照与不灭菌秸秆干质量比 1:1、1:4、1:9 的比例接种到不灭菌秸秆中,用去离子水调整含水率为 75%,以棉花封口,置于培养箱中培养 30 d(温度 28℃,湿度 75%),所有试验组至少 3 个平行。

2 分析方法

2.1 秸秆木质纤维素成分测定

将干燥后的玉米秸秆粉碎过 1 mm 筛孔,准确

称取 0.5 g 筛下物,装入 F57 专用滤袋中,封口,根据改进的范氏洗涤法,用 ANKOM A200i 型纤维分析仪 (USA) 测定半纤维素、纤维素和木质素含量,则木质纤维组分降解率计算式为

$$D_1 = \frac{M_0 - M_{30}}{M_0} \times 100\%$$

(1)

式中 D_1 ——木质纤维组分降解率, %
 M_0 ——预处理前秸秆细胞壁成分质量, g
 M_{30} ——预处理后秸秆细胞壁成分质量, g

2.2 干物质损失测定

干物质 (Dry matter) 由 60℃ 干燥至恒质量后计算质量损失率

$$D_2 = \frac{m_0 - m_{30}}{m_0} \times 100\%$$

(2)

式中 D_2 ——干物质损失率, %
 m_0 ——预处理前秸秆干物质质量, g
 m_{30} ——预处理后秸秆干物质质量, g

2.3 可溶性碳水化合物测定

可溶性碳水化合物采用蒽酮比色法测定^[25]。

2.4 酶水解性测定

将秸秆底物以 2.5% 的物液比添加到 50 mmol/L 柠檬酸钠缓冲液 (pH 值 4.8) 中,诺维信酶 Celluclast 1.5 L (编号 NS50010) 与 Novozyme 188 (编号 NS50013) 添加量分别为 4 μg/mL 及 8 μg/mL,于 50℃ 的水浴锅中,150 r/min 振荡水解 72 h。向溶液中添加 100 μg/mL 的氨苄防止酶解过程中细菌的生长,水解完成后于沸水中煮沸 10 min 钝化纤维素酶活,冷却之后取悬浮液于 8 000 r/min 离心 10 min,过 0.22 μm 的滤膜,3,5-二硝基水杨酸法测定可溶性糖含量,每个样品 3 个重复。

$$Y = \frac{0.9C}{A + B} \times 100\%$$

(3)

式中 Y ——还原糖得率, %
 A ——样品中纤维素质量分数, %
 B ——样品中半纤维素质量分数, %
 C ——酶水解液中还原糖质量分数, %

2.5 数据分析

数据通过 SigmaPlot 12.5 软件分析。

3 结果与讨论

3.1 真菌预处理对不灭菌秸秆木质纤维素的降解效果

如图 1 所示,云芝变色栓菌 (A)、色精木霉菌 (B)、深绿木霉菌 (C)、云芝变色栓菌与色精木霉复合菌 (A + B)、云芝变色栓菌与深绿木霉复合菌 (A + B) 预处理不灭菌秸秆 30 d 后,各试验组纤维

素、半纤维素均有不同程度的降解,木质素几乎不降解。但对照组在未接种真菌的情况下,纤维素、半纤维素降解率也分别达到 37.7% 和 24.9%。就木质素降解结果看,此试验结果与 REID 等^[26] 及 ZHAO 等^[10-11] 的试验结果相似。REID 等的试验结果显示,将液体培养基中的白腐真菌菌丝体接种到不灭菌的杨木中,未发现其对木质素产生去除作用;ZHAO 等的试验结果也显示将白腐真菌虫拟蜡菌直接接种到庭院废弃物中,30 d 后木质素的降解率几乎为零。因而,真菌预处理 30 d 后,不灭菌秸秆的纤维素、半纤维素的降解率较高,可能是因为在不灭菌的环境中,接入的真菌对秸秆本身带有的微生物群落,不能形成竞争优势而造成的^[26]。因此,如何使接入秸秆的真菌快速成为优势菌群,是实现木质素有效降解的关键。

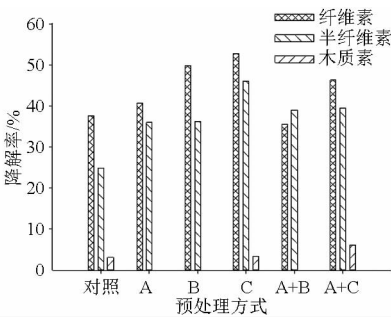


图 1 不灭菌秸秆真菌预处理 30 d 后木质纤维组分的降解率

Fig. 1 Fiber components degradation rate of fresh corn straw after fungi pretreatment for 30 d

将秸秆进行灭菌处理后再接入真菌进行固态发酵,如图 2 所示,预处理 30 d 后,云芝变色栓菌 (A)、色精木霉菌 (B)、深绿木霉菌 (C)、变色栓菌与色精木霉菌的混合菌 (A + B) 及变色栓菌与深绿木霉菌的混合菌 (A + C) 的木质素降解率显著升高,分别达到 34.0%、38.1%、38.1%、39.1% 及 40.3%,此降解率高于 ZHAO 等^[10-11] 采用虫拟蜡菌预处理庭院废弃物 30 d 的木质素降解率 (20.9%),高于 YU 等^[27] 采用紫杉木齿菌预处理柳木 30 d 的木质素降解率 (26.0%)。可见,秸秆经过灭菌去除自身附着微生物后再接入真菌,其对木质素的降解能力得以体现。

3.2 灭菌对真菌预处理秸秆酶水解性的影响

为了表征玉米秸秆生物预处理后的生物降解特性,对秸秆灭菌预处理组和不灭菌预处理组进行了酶水解性测定。如表 2 所示,不灭菌的秸秆在真菌预处理 30 d 后的酶水解还原糖量较低,从对照组看,灭菌过程本身可使秸秆酶水解率从 3.2% 提高到 6.4%。相较于对照组,被 3 株单一菌及其混合

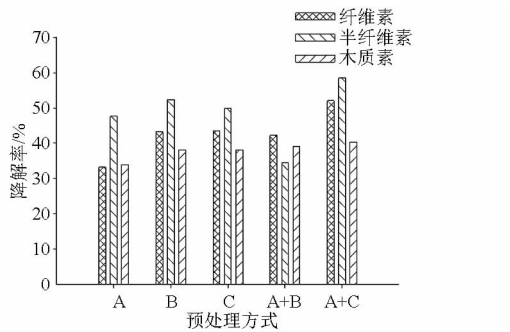


图2 灭菌秸秆真菌预处理30 d后木质纤维组分的降解率
Fig.2 Fiber components degradation rate of sterilized corn straw after fungi pretreatment for 30 d

菌预处理30 d后,灭菌的玉米秸秆的还原糖产量平均增加77.5%,经深绿木霉菌预处理后的灭菌秸秆的还原糖产量最高,达到14.7%,相较于仅经过灭菌处理的秸秆增加了131.7%。任红玲等^[31]采用变色栓菌预处理灭菌后的慈竹28 d,其酶水解后的葡萄糖得率提高了22.5%,王伟^[32]的研究结果显示,几种白腐菌及其混合菌预处理灭菌后的杨木28 d后,还原糖得率为20.0%~30.0%之间,而本试验结果也表明,灭菌的秸秆经本试验采用的真菌预处理后,后续的酶水解过程得以促进。可见,秸秆自身附着菌群对于接入真菌存在竞争关系,秸秆灭菌对于接种真菌作用的发挥具有重要的作用。

表2 真菌预处理30 d后的秸秆酶水解率测定结果

预处理方式	酶水解率	
	不灭菌秸秆	灭菌秸秆
对照	3.2 ± 0.50	6.4 ± 0.43
云芝变色栓菌	2.3 ± 0.09	11.3 ± 0.84
色精木霉菌	6.0 ± 0.99	12.4 ± 0.39
深绿木霉菌	1.0 ± 0.05	14.7 ± 0.07
变色栓菌 + 色精木霉菌	6.3 ± 0.20	12.8 ± 0.77
变色栓菌 + 深绿木霉菌	1.5 ± 0.04	9.1 ± 0.42

3.3 真菌预处理对秸秆可溶性糖的影响

纤维素在微生物分泌的胞外纤维素外切酶、内切酶及β-葡萄糖苷酶3组纤维素酶的协同作用下,最终降解生成葡萄糖。半纤维素在微生物分泌的胞外聚糖酶的作用下,降解生成五碳糖或六碳糖。木质素在多种木质素降解酶协同作用下最终氧化产生二氧化碳。为进一步证明和解释不灭菌环境下,接种入的云芝变色栓菌(A)、色精木霉菌(B)、深绿木霉菌(C)、变色栓菌与色精木霉菌的混合菌(A+B)及变色栓菌与深绿木霉的混合菌(A+C)与秸秆自身附着菌落的竞争关系,本文继续探究了纤维素、半

纤维素的降解产物可溶性糖类与干物质损失的相关关系。对不灭菌的秸秆,真菌预处理30 d后,虽然试验过程各试验组微生物量的不完全可控造成了干物质损失的差异,但是不同菌株试验组呈现相类似的降解特征,即干物质损失与可溶性糖变化呈线性关系($R^2=0.4986$)(图3),说明这些试验组的微生物具有极为一致的菌群结构。说明在处理不灭菌秸秆时接入单一及混合菌株没有形成对于秸秆自身附着菌群的竞争优势,各试验组均仍旧呈现秸秆自身附着菌群的降解特征。

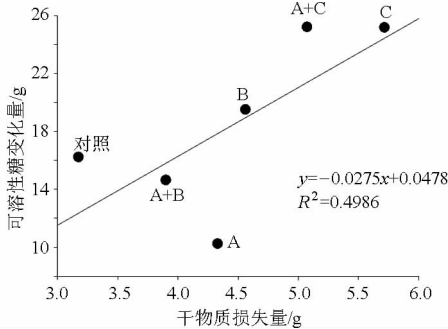


图3 真菌预处理不灭菌秸秆30 d后可溶性糖变化量与干物质损失量的相关性
Fig.3 Correlation between change of WSC amount and DM losing amount after of pretreated by fungi for 30 d in unsterilized corn straw

在真菌预处理灭菌秸秆的30 d内,干物质损失不再仅仅是由纤维素及半纤维素降解产物糖类的变化引起,木质素的降解与碳化同样也成为干物质损失的重要来源。因而,图4的结果显示,导致干物质损失率与可溶性糖的变化率相关性很弱($R^2=0.0005$)。各个试验组中没有菌群间竞争且呈现每株真菌自有的降解特征。

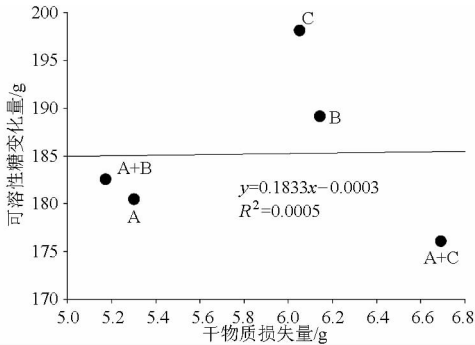


图4 真菌预处理灭菌秸秆30 d后可溶性糖变化量与干物质损失量的相关性
Fig.4 Correlation between change of WSC amount and DM losing amount after of pretreated by fungi for 30 d in sterilized corn straw

3.4 真菌固态载体接种对秸秆原料木质素的影响
经过以上研究,利用真菌进行预处理前,对秸秆进行灭菌处理,可实现秸秆木质素的有效降解。但

灭菌会导致整个秸秆处理成本的增加,为降低菌种及灭菌成本,本试验使用对木质素降解效果较好的 2 种混合孢子悬浮液制备真菌固态载体,将其接种到不灭菌秸秆中。

在云芝变色栓菌与色精木霉菌的混合菌固态载体预处理过程中,当接种物与底物的干质量比由 1:9 增加至 1:4 时,纤维素、半纤维素和木质素的降解率均随固态载体接种量的增加而增加,分别达到 49.9%、47.7% 和 37.2% (图 5)。当继续增加载体接种干质量比至 1:1 时,由于载体接种比例较大,可利用纤维素和半纤维素比例较低,影响了整体纤维素、半纤维素降解率的提高。

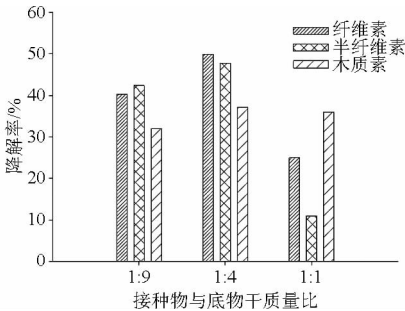


图 5 云芝变色栓菌与色精木霉菌混合菌固态预处理 30 d 后木质纤维素降解率

Fig. 5 Fiber components degradation rate of pre-colonized pretreatment unsterilized corn straw

在云芝变色栓菌与深绿木霉菌的混合菌固态载体预处理不灭菌秸秆过程中,当接种物与底物干质量比由 1:9 增加至 1:4 时,纤维素、半纤维素和木质素的降解率随固态载体接种量的增加而增加,分别达到 44.8%、43.5% 和 38.1%,如图 6 所示。当继续增加载体接种干质量比至 1:1 时,发现了与云芝变色栓菌与色精木霉菌的混合菌固态载体预处理试验组同样的现象,整体纤维素、半纤维素降解率没有

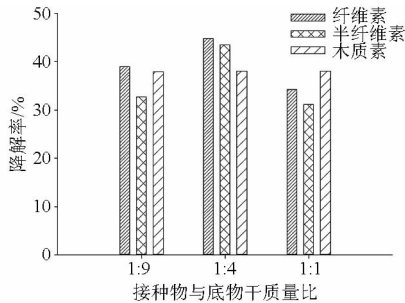


图 6 云芝变色栓菌与深绿木霉菌混合菌固态预处理 30 d 后木质素降解率

Fig. 6 Lignin degradation rate of pre-colonized pretreatment unsterilized corn straw

提高。但 2 种真菌固态载体试验组对木质素的降解率均达到 30% ~ 40% 之间。可见,真菌较直接接种方式更能适应以秸秆为原料的降解环境,有利于其在与固有种群的竞争中形成优势。ZHAO 等^[10-11]采用虫拟蜡菌固态载体按照与不灭菌庭院废弃物干质量比 1:19、1:9、1:4 的比例进行预处理,接种比 1:4 时,发现木质素降解率与直接接种处理灭菌庭院废弃物并无显著性差别。

4 结论

(1) 本文所用真菌在预处理过程中与秸秆自身附着菌群的竞争中处于劣势,利用真菌直接接种方式对不灭菌秸秆进行预处理时,其无法成为优势菌群,不能实现对木质素的有效降解(木质素降解率几乎为零)。

(2) 利用真菌固态载体对不灭菌秸秆进行预处理,可实现木质素的降解(30% ~ 40%),可有效降低预处理过程的灭菌处理成本。真菌固态载体接种(干质量比)预处理后木质素降解率略低于真菌预处理灭菌秸秆的木质素降解率(5% 左右)。

参 考 文 献

1 王克勤,陈亮,胡秋龙,等. 秸秆生物质处理方法的理论与技术问题[J]. 江苏师范大学学报:自然科学版,2015,33(3):36-39. WANG Keqin, CHEN Liang, HU Qiulong, et al. Theories and technical problems for processing method of straw biomass[J]. Journal of Jiangsu Normal University: Natural Science Edition, 2015,33(3):36-39. (in Chinese)

2 WANG Xiaohua, FENG Zhenmin. Biofuel use and its emission of noxious gases in rural China[J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2004, 8(2):183-192.

3 AHRING B K, LICHT D, SCHMIDT A S, et al. Production of ethanol from wet oxidised wheat straw by *Thermoanaerobacter mathranii*[J]. Bioresource Technology, 1999, 68(1):3-9.

4 LIU H W, WALTER H K, VOGT G M. Steam pressure disruption of municipal solid waste enhances anaerobic digestion kinetics and biogas yield[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2002, 77(2):121-130.

5 邓媛方,邱凌,黄辉,等. 酶预处理对秸秆类原料厌氧发酵特性的影响[J]. 农业机械学报, 2015, 46(6):201-206. DENG Yuanfang, QIU Ling, HUANG Hui, et al. Effects of enzymatic pretreatment straw wastes on its characteristics of anaerobic digestion for biogas production[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(6):201-206. (in Chinese)

6 VIVEKANAND Vivekanand, RYDEN Peter, HORN Svein J, et al. Impact of steam explosion on biogas production from rape straw in relation to changes in chemical composition[J]. Bioresour Technology, 2012, 123: 608-615.

7 BINOD Parameswaran, MATHIYAZHAKAN Kuttiraja Mathiyazhakan, MOHAN Archana, et al. High temperature pretreatment and hydrolysis of cotton stalk for pro-ducing sugars for bioethanol production[J]. Fuel, 2012,92: 340-345.

- 8 NASIM Shaibani Nasim, GHAZVINI Saba, ANDALIBI Mohammad R, et al. Ethanol production from sugarcane bagasse by means of enzymes produced by solid state fermentation method[J]. World Academy of Science, Engineering and Technology, 2011, 59: 1836 – 1839.
- 9 LIU Shan, WU Shubiao, PANG Changle, et al. Microbial pretreatment of corn stovers by solid-state cultivation of *phanerochaete chrysosporium* for biogas production[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2014, 172(3):1365 – 1376.
- 10 ZHAO Jia, GE Xumeng, VASCO-CORREA Juliana, et al. Fungal pretreatment of unsterilized yard trimmings for enhanced methane production by solid-state anaerobic digestion[J]. Bioresource Technology, 2014, 158:248 – 252.
- 11 ZHAO Jia, ZHENG Yi, LI Yebo. Fungal pretreatment of yard trimmings for enhancement of methane yield from solid-state anaerobic digestion[J]. Bioresource Technology, 2014, 156: 176 – 181.
- 12 BALAT Mustafa. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: a review [J]. Energy Conversion & Management, 2011, 52(2):858 – 875.
- 13 MARIA Carolina de Albuquerque Wanderleya, CARLOS Martin, GEORGE Jackson de Moraes Rocha, et al. Increase in ethanol production from sugarcane bagasse based on combined pretreatments and fed-batch enzymatic hydrolysis [J]. Bioresource Technology, 2013, 128: 448 – 453.
- 14 WANG Wei, YUAN Tongqi, CUI Baokai. Fungal treatment followed by FeCl_3 treatment to enhance enzymatic hydrolysis of poplar wood for high sugar yields[J]. Biotechnology Letters, 2013, 35:2061 – 2067.
- 15 柳珊,吴树彪,张万钦,等. 白腐真菌预处理对玉米秸秆厌氧发酵产甲烷影响实验[J]. 农业机械学报, 2013, 44(增刊2): 124 – 129.
- LIU Shan, WU Shubiao, ZHANG Wanqin, et al. Effect of white-rot fungi pretreatment on methane production from anaerobic digestion of corn stover[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2013, 44(Supp. 2):124 – 129. (in Chinese)
- 16 ZHONG Weizhang, ZHANG Zhongzhi, LUO Yijing, et al. Effect of biological pretreatments in enhancing corn straw biogas production[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(24):11177 – 11182.
- 17 WAN Caixia, LI Yebo. Microbial delignification of corn stover by *Ceriporiopsis subvermispora* for improving cellulose digestibility [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2010, 47(1–2): 31 – 36.
- 18 LIN Yunqin, GE Xumeng, LIU Zhe, et al. Integration of Shiitake cultivation and solid-state anaerobic digestion for utilization of woody biomass[J]. Bioresource Technology, 2015, 182:128 – 135.
- 19 CUI Zhifang, SHI Jian, WAN Caixia, et al. Comparison of alkaline- and fungi-assisted wet-storage of corn straw[J]. Bioresource Technology, 2012, 109:98 – 104.
- 20 REID Ian D. Solid-state fermentations for biological delignification[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1989, 11(12): 786 – 803.
- 21 WAN Caixia, LI Yebo. Microbial pretreatment of corn stover with *Ceriporiopsis subvermispora* for enzymatic hydrolysis and ethanol production[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(16): 6398 – 6403.
- 22 WAN Caixia, LI Yebo. Fungal pretreatment of lignocellulosic biomass[J]. Biotechnology Advances, 2012, 30(6):1447 – 1457.
- 23 KURAKAKE Masahiro, IDE Nozomi, KOMAKI Toshiaki. Biological pretreatment with two bacterial strains for enzymatic hydrolysis of office paper[J]. Current Microbiology, 2007, 54(6):424 – 428.
- 24 王志,陈雄,王实玉,等. 拟康氏木霉和自腐菌混菌发酵处理稻草秸秆的研究[J]. 可再生能源, 2009, 27(2):36 – 39.
- WANG Zhi, CHEN Xiong, WANG Shiyu, et al. Study on degradation of straw stalk by co-fermentation of *Trichoderma pseudokoningii* and *Phanerochaete chrysosporium*[J]. Renewable Energy Resources, 2009, 27(2):36 – 39. (in Chinese)
- 25 THOMAS T Arthur. An automated procedure for the determination of soluble carbohydrates in herbage[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1977, 28(7): 639 – 642.
- 26 REID Ian D. Optimization of solid-state fermentation for selective delignification of aspen wood with *Phlebia tremellosa* [J]. Enzyme and Microbial Technology, 1989, 11(12): 804 – 809.
- 27 YU Hongbo, GUO Guoning, ZHANG Xiaoyu, et al. The effect of biological pretreatment with the selective white-rot fungus *Echinodontium taxodii* on enzymatic hydrolysis of softwoods and hardwoods[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(21):5170 – 5175.
- 28 PEREZ J, DORADO J M, RUBIA T, et al. Biodegradation and biological treatment of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview[J]. International Microbiology, 2002, 5(1): 53 – 63.
- 29 王金主,王元秀,李峰,等. 玉米秸秆中纤维素、半纤维素和木质素的测定[J]. 山东食品发酵, 2010(3):44 – 47.
- WANG Jinzhu, WANG Yuanxiu, LI Feng, et al. Determination of cellulose, hemicellulose and lignin in corn stalk [J]. Shandong Food Fermentation, 2010(3):44 – 47. (in Chinese)
- 30 MICHAEL E Himmel, DING Shiyu, DAVID K Johnson, et al. Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production[J]. Science, 2007, 315(5813):804 – 807.
- 31 任红玲,张禄晨,安鑫,等. 真菌预处理提高慈竹酶水解葡萄糖得率的研究[J]. 林产工业, 2013, 40(2):50 – 52.
- REN Hongling, ZHANG Lucheng, AN Xin, et al. Enhancement of enzymatic hydrolysis glucose yield by fungi-pretreatment on *neosinocalamus affinis*[J]. Chinese Forest Products Industry, 2013, 40(2):50 – 52. (in Chinese)
- 32 王伟. 白腐菌处理与酶解转化杨木研究[D]. 北京:北京林业大学, 2014.
- WANG Wei. Biological pretreatment with white-rot fungi and enzymatic hydrolysis of poplar wood[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2014. (in Chinese)