

能低温降解木质纤维素的大型真菌菌株的筛选

刘明月^{1,2}, 王爱萍^{1*}, 赵瑞琳^{2,3*}

1 山西农业大学 农学院, 山西 晋中

2 中国科学院微生物研究所, 真菌学国家重点实验室, 北京

3 中国科学院大学 生命科学学院, 北京

刘明月, 王爱萍, 赵瑞琳. 能低温降解木质纤维素的大型真菌菌株的筛选[J]. 微生物学报, 2025, 65(4): 1529-1541.

LIU Mingyue, WANG Aiping, ZHAO Ruilin. Screening of macrofungal strains capable of degrading lignocellulose at low temperatures[J].

Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(4): 1529-1541.

摘要:【目的】为发掘具有高效降解秸秆能力的微生物资源, 提高秸秆在低温条件下的资源化利用效率, 对 955 株大型真菌的木质纤维素降解能力进行了筛选。【方法】采用平板筛选法初步筛选具有羧甲基纤维素酶(carboxymethyl cellulase, CMCase)、木聚糖酶(xylanase)和漆酶(laccase)活性的菌株; 通过滤纸崩解试验进一步筛选具备纤维素降解能力的菌株; 对筛选得到的菌株进行液体发酵培养, 并在第 3、6、9 和 12 天测定其酶活性, 以筛选出降解木质纤维素能力较强的优势菌株。【结果】筛选得到 11 株在低温(15 °C)条件下具有较强木质纤维素降解能力的优势菌株, 分别为香栓孔菌(*Trametes suaveolens*) ZRL20181126、乳白耙齿菌(*Irpex lacteus*) ZRL20200020、乳白鸟巢菌(*Crucibulum leave*) ZRL20211707、韧革菌(*Stereum hirsutum*) ZRL20211291、糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*) GX20170029、枫生射脉革菌(*Phlebia acerina*) ZRL20221433、黄斑蘑菇(*Agaricus xanthodermus*) QL20170055、灰孔新小层孔菌(*Neofomitella fumosipora*) GX20170468、多瓣鳞伞(*Pholiota multicingulata*) GX20170329、褐伞残孔菌(*Abortiporus biennis*) GX20172649 和黄小蜜环菌(*Armillaria cepistipes*) ZRL20190819。其中, 乳白鸟巢菌、黄斑蘑菇和多瓣鳞伞是首次报道具有较高木质纤维素降解能力的菌株。测定结果显示, 这 11 株菌的羧甲基纤维素酶、木聚糖酶和漆酶的最高活性分别达到 262.31、91.03 和 196.50 U/mL。香栓孔菌的羧甲基纤维素酶活性在 15 °C 条件下达到 168.17 U/mL, 显著高于常温条件下的 67.88 U/mL; 糙皮侧耳的羧甲基纤维素酶活性为 150.78 U/mL, 漆酶活性为 154.32 U/mL; 韧革菌的漆酶活性为 63.27 U/mL, 是常温条件下的 2 倍。【结论】本研究筛选得到 11 株在低温(15 °C)条件下降解木质纤维素能力较强的优势菌株, 为寒冷地区木质纤维素资源的降解及低温工业应用提供了重要的理论支持。

关键词: 低温耐受; 大型真菌; 木质纤维素降解

资助项目: 中国科学院战略性先导科技专项(XDA28030401)

This work was supported by the Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (XDA28030401).

*Corresponding authors. E-mail: WANG Aiping, wapdbn2001@163.com; ZHAO Ruilin, zhaorl@im.ac.cn

Received: 2025-01-13; Accepted: 2025-03-07; Published online: 2025-03-21

Screening of macrofungal strains capable of degrading lignocellulose at low temperatures

LIU Mingyue^{1,2}, WANG Aiping^{1*}, ZHAO Ruilin^{2,3*}

1 College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Jinzhong, Shanxi, China

2 State Key Laboratory of Mycology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing, China

3 College of Life Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing, China

Abstract: [Objective] To mine the macrofungal strains capable of efficiently degrading straw at low temperatures, thereby improving the utilization efficiency of straw resources, we measured the lignocellulose degradation abilities of 955 macrofungal strains. [Methods] First, we employed the plate method to screen the strains with carboxymethyl cellulase, xylanase, and laccase activities. Then, we carried out a filter paper degradation test to screen the cellulose-degrading strains. Finally, we performed liquid fermentation with the selected strains and measured their enzyme activities on days three, six, nine, and 12 to identify the dominant strains with strong lignocellulose-degrading abilities. [Results] We identified 11 macrofungal strains exhibiting strong lignocellulose degradation capabilities at a low temperature (15 °C). The 11 strains were *Trametes suaveolens*, *Irpex lacteus*, *Crucibulum laeve*, *Stereum hirsutum*, *Pleurotus ostreatus*, *Phlebia acerina*, *Agaricus xanthodermus*, *Neofomitella fumosipora*, *Pholiota multicingulata*, *Abortiporus biennis*, and *Armillaria cepistipes*. Notably, *C. laeve*, *A. xanthodermus*, and *P. multicingulata* were newly reported for their high lignocellulose-degrading abilities. The maximum activities of carboxymethyl cellulase, xylanase, and laccase in the 11 strains reached 262.31, 91.03, and 196.50 U/mL, respectively. *T. suaveolens* exhibited carboxymethyl cellulase activity of 168.17 U/mL at 15 °C, which was significantly higher than that (67.88 U/mL) observed at room temperature. *P. ostreatus* showed the carboxymethyl cellulase activity of 150.78 U/mL and the laccase activity of 154.32 U/mL. *S. hirsutum* achieved the laccase activity of 63.27 U/mL at 15 °C, which was twice the level measured at room temperature. [Conclusion] We successfully identified 11 macrofungal strains with strong lignocellulose-degrading abilities at 15 °C. The findings provide valuable microbial resources for the degradation of lignocellulose in cold regions and lay a theoretical basis for application of these strains in low-temperature industries.

Keywords: low-temperature tolerance; macrofungi; lignocellulose degradation

随着农业生产的不断发展,我国农作物秸秆的年产量逐年增加,其中玉米秸秆的产量增幅尤为显著。2021年全国秸秆产生量为8.65亿t,其中玉米秸秆产生量达到3.21亿t^[1]。东北地区因优质黑土地和适宜的气候条件成为玉米的主要产区,资源丰富,占中国玉米总播种面积的

38%和玉米总产量的41%^[2]。然而,寒冷的气候和较长的低温期严重制约了玉米秸秆的自然降解过程,导致秸秆腐解速度缓慢。大量未妥善处理的秸秆被直接焚烧,不仅浪费了有机质,还加剧了空气污染和全球气候变化问题^[3-4]。因此,玉米秸秆的有效处理与资源化利用在寒冷

地区尤为迫切。

秸秆主要由纤维素、半纤维素和木质素等复杂有机物组成, 这些成分的交联结构使秸秆降解困难^[5]。目前, 秸秆的处理方法包括物理处理、化学处理和生物处理。其中, 物理处理能耗较高, 化学处理易产生二次污染, 而生物处理依靠微生物及其分泌的降解酶降解秸秆, 具有环保、经济和资源化利用的优势^[6-9]。在众多微生物中, 大型真菌, 尤其是白腐真菌[(如黄孢原革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)和云芝栓孔菌(*Trametes versicolor*)], 已被证明能够有效降解木质素和纤维素^[10-11]。然而, 低温条件下微生物的代谢活性受到抑制, 大多数已报道的菌株在低温条件下降解效率较低^[12]。

近年来, 已有研究报道了一些耐低温的微生物能够分解木质纤维素, 如在低温条件下纤维素酶活性较高的两形头孢霉(*Aspergillus janus*)和草酸青霉(*Penicillium oxalicum*), 但低温环境下的大型真菌资源仍然较少^[13-14]。因此, 筛选能够在低温条件下高效降解木质纤维素的大型真菌资源, 对于寒冷地区的秸秆资源化利用至关重要。本研究从 955 株大型真菌菌株中筛选出能降解木质纤维素的低温耐受菌株, 为寒冷地区玉米秸秆资源化利用提供新的微生物解决方案。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

本研究所用菌株为中国科学院微生物研究所赵瑞琳课题组分离保藏的 955 株大型真菌菌株, 分别属于担子菌门中 137 个属的 245 个物种。

1.2 主要试剂和仪器

酒石酸钾钠、3,5-二硝基水杨酸、羧甲基纤维素钠(carboxymethylcellulose-Na, CMC-Na)、木

聚糖和刚果红, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 苯酚, 国药集团化学试剂有限公司。

多功能酶标仪, Molecular Devices 公司; 振荡培养箱, 上海旻泉仪器有限公司。

1.3 木质纤维素降解菌初筛

1.3.1 平板法筛选木质纤维素降解菌株

将直径为 7 mm 的圆形菌块分别接种于羧甲基纤维素钠培养基、愈创木酚 PDA 培养基和木聚糖培养基^[15], 在 15 °C 下培养 7–14 d。以菌落直径与变色圈直径为指标, 筛选产酶菌株。漆酶(laccase)的筛选依据为是否在平板上形成橙红色环带或红褐色环带^[16]。羧甲基纤维素酶(carboxymethyl cellulase, CMCase)和木聚糖酶(xylanase)的筛选方法为: 将平板分别浸泡于 0.1% 或 0.2% 刚果红溶液中, 静置 15 min 后弃去染液, 再加入 15 mL 1 mol/L NaCl 溶液, 静置 20 min, 观察菌株周围是否形成透明圈^[17]。菌株产酶能力差异通过酶指数(enzyme index, EI 值)进行初步评估^[18]。EI 值计算如公式(1)所示。

$$EI = \frac{\text{变色圈直径}}{\text{菌圈直径}} \quad (1)$$

1.3.2 滤纸崩解法筛选纤维素降解菌株

将初筛获得的菌株接种于液体培养基中, 在 25 °C、150 r/min 振荡培养 3 d, 获得菌液^[19]。取 5 mL 菌液接种于 100 mL 赫奇逊氏(Hutchinson)培养基^[20], 加入滤纸条(1 cm×6 cm)作为碳源, 15 °C、150 r/min 恒温振荡培养 9 d。通过观察滤纸的破损程度判断降解效果, 具体标准如下: 滤纸无明显变化–; 滤纸边缘膨胀为+; 滤纸整齐膨胀并弯曲为++; 滤纸变为不定形状为+++; 滤纸成团糊状为++++; 液体呈半清状为+++++[²¹⁻²³]。

1.4 木质纤维素降解菌复筛

粗酶液制备: 将 5 个直径为 7 mm 的圆形菌

块接种到 100 mL 的玉米秸秆产酶培养基中, 15 °C、150 r/min 振荡培养 12 d 后, 8 000 r/min 离心 10 min, 收集发酵上清液保存, 用于漆酶、羧甲基纤维素酶和木聚糖酶活性的测定^[24]。羧甲基纤维素酶活测定: 以 1% 羧甲基纤维素钠溶液为底物, 采用 3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitro salicylic acid, DNS)法测定发酵液中的羧甲基纤维素酶活性^[25]。木聚糖酶活测定: 以 1% 木聚糖溶液为底物, 采用 DNS 法测定发酵液中的木聚糖酶活性^[26]。漆酶活测定: 先将 78 μ L 超纯水和 100 μ L 酒石酸缓冲液(pH 4.0)混合后水浴加热至 40 °C, 加入 20 μ L 4.9 mmol/L ABTS 母液, 然后加入 2 μ L 发酵液混匀并开始计时, 分别在 30 s 和 90 s 时测定 420 nm 处吸光值的变化, 以加入等体积的煮沸灭活发酵液作为对照^[27]。

1.5 玉米秸秆失重率测定

称取 1.6 g 玉米秸秆至 100 mL 三角瓶中, 加入 80 mL 赫奇逊氏培养基, 并用无菌打孔器切取直径为 7 mm 的圆形菌块 5 个, 接种于培养基中, 置于 15 °C、150 r/min 振荡培养 9 d。培养结束后, 将降解后的玉米秸秆残余物在 45 °C 烘干至恒重, 计算玉米秸秆绝对失重率, 如公式(2)所示。

$$\text{失重率} = \frac{m_1 - m_0}{m_0} \quad (2)$$

式中: m_0 为对照组玉米秸秆干重, m_1 为处理组玉米秸秆干重。对照组除不接种菌块外, 其余处理与实验组相同, 每份样品设置 3 个重复。

2 结果与分析

2.1 木质纤维素降解真菌的快速筛选

将活化后的菌株分别进行羧甲基纤维素酶、木聚糖酶和漆酶的平板快速筛选。结果显示, 分别产木聚糖酶、漆酶和羧甲基纤维素酶 1 种酶的菌株分别有 26、32 和 69 株; 同时产木聚

糖酶和漆酶的菌株 36 株, 产木聚糖酶和羧甲基纤维素酶的菌株 123 株, 产漆酶和羧甲基纤维素酶的菌株 130 株; 同时产生羧甲基纤维素酶、木聚糖酶和漆酶 3 种酶的菌株共 208 株。其中, 将产生羧甲基纤维素酶、木聚糖酶和漆酶的酶指数(EI 值)分别排名前 10 的菌株, 以及同时产生这 3 种酶的菌株共 228 株作为后续进一步筛选的目标菌株。这 228 个菌株间的酶活性存在显著差异, 具体酶指数原始数据存储在国家微生物科学数据中心(<http://nmcdc.cn>), 编号为 NMDCX0002085, 部分菌株的平板菌落及变色圈见图 1。

2.2 滤纸崩解试验

为了进一步探查 228 株菌株对纤维素的降解能力, 对其开展了滤纸崩解试验(NMDCX0002085)。228 株菌株对滤纸条均有一定程度的崩解能力, 其中 44 个菌株滤纸崩解较为明显(表 1), 具体为: 滤纸降解变为不定形状态(+++)的菌株 38 株; 为团糊状(++++)的菌株 5 株; 降解后滤纸呈半清状(++++)的菌株 1 株。

2.3 木质纤维素酶活测定及目的菌株鉴定

根据木聚糖标准溶液与 DNS 溶液反应后在 540 nm 波长处的吸光值, 绘制用于木聚糖酶活测定的木聚糖标准曲线: $Y=0.247\ 3X-0.004\ 4$, $R^2=0.999\ 4$ 。根据葡萄糖标准溶液与 DNS 溶液反应后在 540 nm 波长处的吸光值, 绘制用于羧甲基纤维素酶活测定的葡萄糖标准曲线: $Y=0.239\ 6X-0.004\ 1$, $R^2=0.999\ 5$ 。其中, X 代表标准溶液浓度(mg/mL), Y 为反应后在 540 nm 波长处测得的吸光值。

对初筛得到的菌株接种到玉米秸秆产酶培养基中进行液体发酵培养, 在第 3、6、9、12 天分别测定其产生的羧甲基纤维素酶、木聚

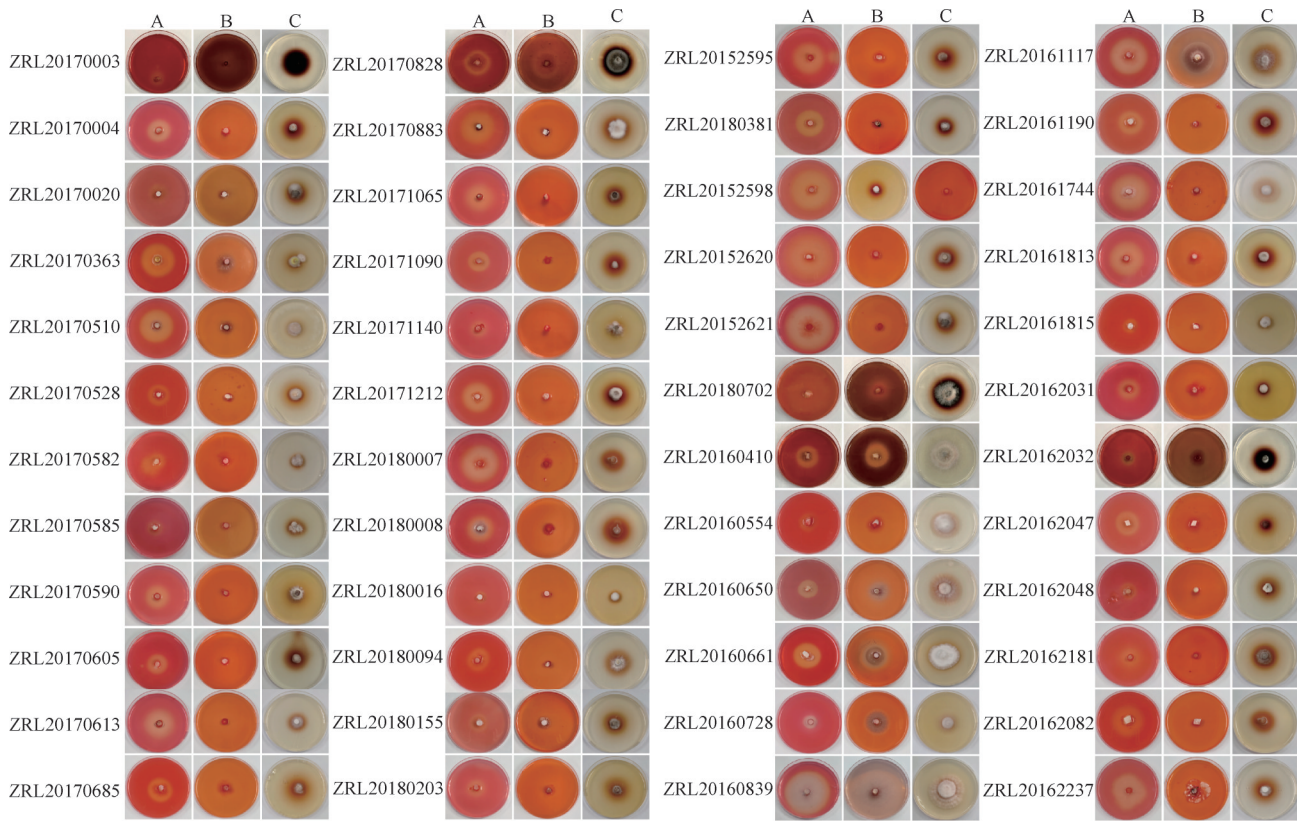


图1 产木质纤维素酶的真菌菌株平板快速筛选显色分析。A: 羧甲基纤维素酶; B: 木聚糖酶; C: 漆酶。

Figure 1 Chromogenic assay for rapid plate screening of lignocellulolytic enzyme-producing fungal strains. A: Carboxymethyl cellulase (CMCase); B: Xylanase; C: Laccase.

糖酶和漆酶的活性(图 2)。筛选出产羧甲基纤维素酶活性、木聚糖酶活性和漆酶活性高且产酶情况稳定的菌株 11 株。这些菌株通过真菌条形码基因测序后被鉴定为 11 个物种(表 2)。通过维恩图(图 3)可以直观看出, ZRL20181126 是唯一位于羧甲基纤维素酶、木聚糖酶和漆酶 3 个圆交集区域的菌株, 表明其同时具有较高的 3 种酶活性。相比其他仅表现单一或双重酶活性的菌株, 菌株 ZRL20181126 具备广谱降解纤维素、半纤维素和木质素的能力, 展现出显著的多功能性和高效利用木质纤维素资源的潜力。因此, 该菌株在本研究中被选为重要的多功能候选菌株, 具有广泛的应用和研究价值。

2.4 玉米秸秆失重率测定

菌株对秸秆干重降解率的测定结果表明, 各菌株降解能力存在显著差异(图 4)。C. leave ZRL20211707 的秸秆干重降解率最高(26.14%), 显著优于其他菌株($P < 0.05$), 其次为 *N. fumosipora* GX20170468 和 *A. biennis* GX20172649, 其降解率分别为 25.26% 和 24.38%。*T. suaveolens* ZRL20181126 和 *S. hirsutum* ZRL20211291 表现为中等降解水平, 降解率分别为 20.74% 和 20.28%。*P. multicingulata* GX20170329 的降解率最低, 为 19.23%, 但仍显著高于对照组 CK (1.49%)。研究表明, 不同菌株在秸秆降解能力上存在较大差异, 这为后续优化和利用微生物资源提供了重要依据。

表1 各菌株的滤纸降解能力比较

Table 1 Comparison of filter paper degrading effect of strains

No.	Strain ID	Degree of filter paper degradation	No.	Strain ID	Degree of filter paper degradation
1	ZRL20170883	+++++	23	ZRL20181126	+++
2	ZRL20190819	+++	24	GX20172649	++++
3	ZRL20200578	+++	25	ZRL20152075	+++
4	QL20170055	+++	26	ZRL20211291	+++
5	GX20170702	+++	27	ZRL20221232	+++
6	ZRL20190771	+++	28	ZRL20210094	++++
7	GX20170368	+++	29	ZRL20201493	+++
8	ZRL20161117	++++	30	ZRL20211252	+++
9	ZRL20211559	+++	31	ZRL20210558	+++
10	ZRL20220275-1	+++	32	ZRL20210699	+++
11	ZRL20161815	+++	33	ZRL20200020	+++
12	ZRL20221433	+++	34	GX20170029	+++
13	GX20170579	+++	35	ZRL20201260	++++
14	ZRL20220770	+++	36	GX20170468	+++
15	ZRL20211707	+++	37	QL20170034	+++
16	ZRL20190663	+++	38	ZRL20221226	+++
17	ZRL20180729	+++	39	ZRL20180315-3	+++
18	ZRL20201647	+++	40	GX20172239	+++
19	ZRL20201817	+++	41	ZRL20221312	+++
20	ZRL20190854	+++	42	GX20170329	+++
21	ZRL20161052	+++	43	ZRL20162143	+++
22	ZRL20170506	+++	44	ZRL20201188	++++

+++：滤纸变为不定形状态；++++：滤纸成团糊状；+++++：液体呈半清状。

+++：Indicates the filter paper becoming deformed; ++++：Indicates the filter paper forming an aggregated, paste-like structure;

+++++：Indicates the liquid turning semi-clear.

3 讨论

本研究系统性探讨了 955 株大型真菌菌株在 15 °C 低温条件下的酶活性，这些菌株分别属于担子菌门中 137 个属的 245 个物种，包括漆酶、羧甲基纤维素酶和木聚糖酶的分泌水平，筛选出 11 株具有显著降解能力的菌株，分属于 11 个物种，从而揭示了不同菌株在低温环境中的适应性及其潜在应用价值。

本研究首次报告了 *C. leave*、*P. multicingulata* 和 *A. xanthodermus* 在木质纤维素降解方面的较高能力，且在 15 °C 低温条件下表现出显著的酶

活性(表 2)。*C. leave* 的羧甲基纤维素酶活性为 250.95 U/mL，木聚糖酶活性为 47.67 U/mL，漆酶活性为 25.72 U/mL；*P. multicingulata* 的羧甲基纤维素酶活性为 47.37 U/mL，木聚糖酶活性为 77.32 U/mL，漆酶活性为 3.08 U/mL；*A. xanthodermus* 的羧甲基纤维素酶活性为 70.32 U/mL，木聚糖酶活性为 43.40 U/mL，漆酶活性为 188.27 U/mL。在 15 °C 条件下，*A. xanthodermus* 的漆酶活性达到 188.27 U/mL，显著高于 Hildén 等^[28]研究中 25 °C 固态麦麸培养基培养 24 d 时的漆酶活性(5.1 U/mL)，也高于戴建

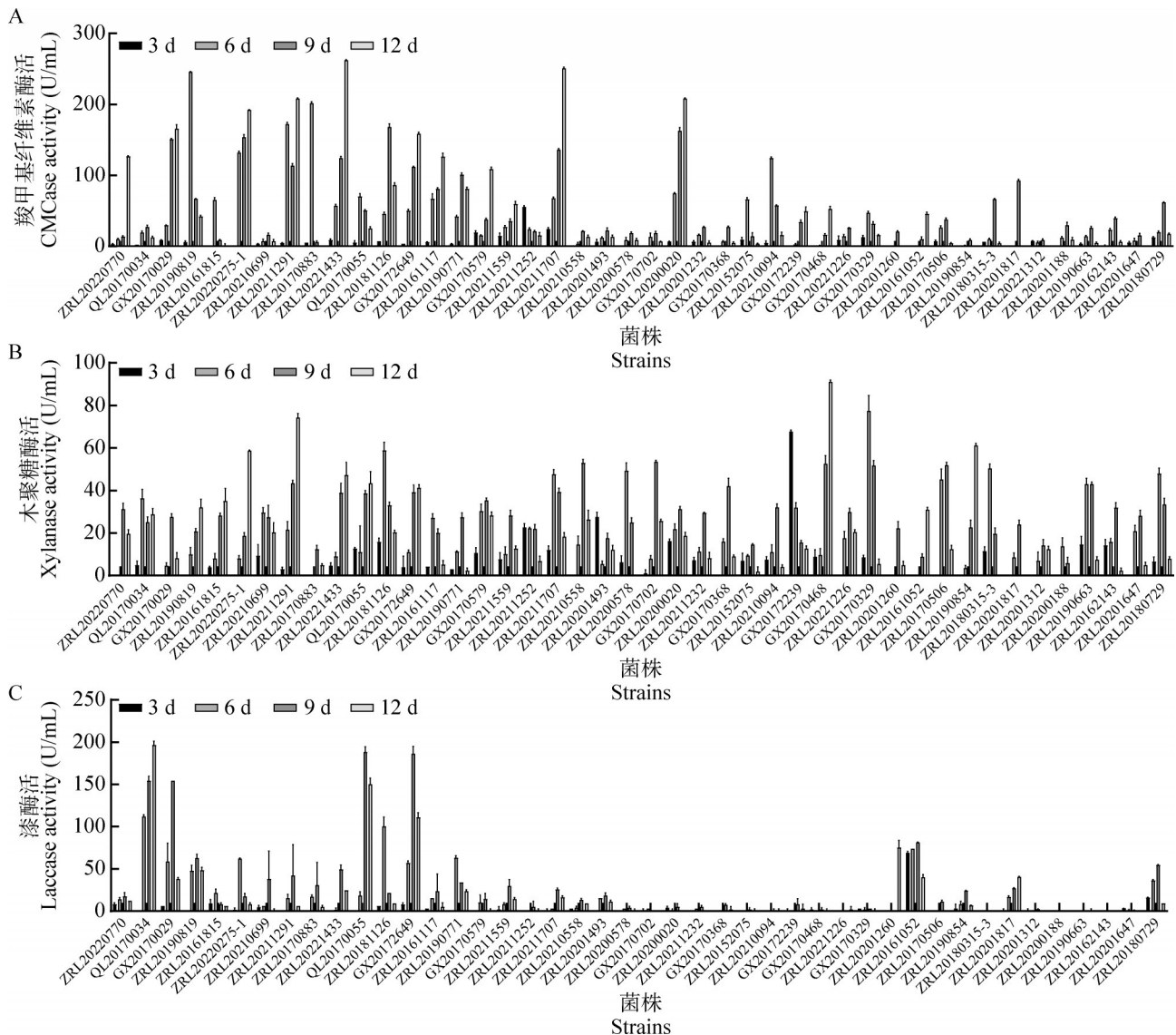


图2 不同菌株酶活力测定结果。A: 羧甲基纤维素酶; B: 木聚糖酶; C: 漆酶。

Figure 2 The measured enzyme activity results of different strains. A: Carboxymethyl cellulase (CMCase); B: Xylanase; C: Laccase.

清^[29]研究中 *A. bisporus* W192 在 24 °C、180 r/min 条件下培养 8 d 时的漆酶活性(15.02 U/mL)。与其他蘑菇属物种相比, *A. xanthodermus* 也表现出更高的漆酶活性。例如, Hildén 等^[28]在黑麦麸皮液体培养基(RL)培养体系中测得 *A. arvensis* 的最高漆酶活性仅为 3 U/mL, 而 *A. balchaschensis*、*A. bernardii* 和 *A. campestris* 的漆酶活性范围更低, 仅为 0.18–0.60 U/mL, 均显

著低于 *A. xanthodermus*。此外, *A. xanthodermus* 的羧甲基纤维素酶活性为 111.83 U/mL, 远高于戴建清^[29]研究中 W192 的羧甲基纤维素酶活性(0.69 U/mL), 进一步证明了黄斑蘑菇在木质素和纤维素降解方面具有较强的酶分泌优势。

在以往的研究中, *T. suaveolens*、*I. lacteus*、*S. hirsutum*、*P. ostreatus*、*P. acerina*、*N. fumosipora*、*A. biennis* 和 *A. cepistipes* 这 8 个物种在常温条件

表2 15 °C条件下具有良好木质纤维素降解能力的菌株及其酶活
Table 2 Lignocellulose-degrading strains and their enzyme activities at 15 °C

No.	Strain ID	Name	3 d			6 d			9 d			12 d		
			CMCase activity (U/mL)	Xylanase activity (U/mL)	Laccase activity (U/mL)	CMCase activity (U/mL)	Xylanase activity (U/mL)	Laccase activity (U/mL)	CMCase activity (U/mL)	Xylanase activity (U/mL)	Laccase activity (U/mL)	CMCase activity (U/mL)	Xylanase activity (U/mL)	Laccase activity (U/mL)
1	ZRL20181126	香菇孔菌 <i>Trametes suaveolens</i>	7.03±0.00	15.77±1.91	6.17±0.00	45.63±2.46	58.90±3.81	100.31±10.91	168.17±4.42	33.07±4.49	21.60±0.00	85.86±3.57	20.26±1.03	21.60±0.00
2	ZRL20200020	乳白耙齿菌 <i>Irpex lacteus</i>	6.79±0.40	16.22±1.03	4.12±0.59	74.73±0.80	21.84±2.43	1.03±1.78	162.84±4.34	31.27±0.39	5.14±3.56	208.06±1.20	18.69±1.70	5.14±3.56
3	ZRL20211707	乳白鸟巢菌 <i>Crucibulum laeve</i>	24.18±2.13	11.95±1.95	1.03±0.59	67.77±1.75	47.67±2.17	3.09±0.00	136.18±1.75	39.36±7.41	25.72±1.78	250.95±1.75	18.24±1.95	25.72±1.78
4	ZRL20211291	韧革菌 <i>Stereum hirsutum</i>	4.59±0.49	2.97±0.95	0.00±0.00	172.23±2.46	21.61±3.71	15.43±4.36	113.68±2.81	43.40±1.91	63.27±2.18	208.06±1.20	74.18±2.06	6.17±0.00
5	GX20170029	糙皮侧耳 <i>Pleurotus ostreatus</i>	8.76±0.49	0.00±0.00	6.17±0.00	29.63±0.49	4.65±1.43	58.64±21.82	150.78±1.45	27.68±5.35	154.32±0.00	165.86±5.40	8.13±2.72	154.32±0.00
6	ZRL20221433	枫生射脉草菌 <i>Phlebia acerina</i>	8.42±1.97	4.65±1.43	0.00±0.00	57.11±1.97	9.03±1.91	1.54±2.18	124.35±2.44	38.91±0.67	49.38±5.35	262.31±0.70	47.22±6.12	49.38±5.35
7	QL20170055	黄斑蘑菇 <i>Agaricus xanthodermus</i>	5.29±2.46	12.74±0.48	0.00±0.00	70.33±3.93	11.05±12.39	18.52±4.36	50.38±1.61	38.68±2.81	188.27±6.17	25.34±2.24	43.40±5.52	188.27±6.17
8	GX20170468	灰孔新小层孔菌 <i>Neofomitella fumosipora</i>	0.00±0.00	8.81±3.46	2.06±1.57	0.74±0.73	9.70±2.94	0.00±0.00	15.84±2.13	52.61±12.90	2.06±1.78	52.61±3.71	91.03±0.78	2.06±1.78
9	GX20170329	多瓣鳞伞 <i>Pholiotia multicingulata</i>	12.82±2.44	8.58±1.03	3.08±0.00	47.37±1.84	77.32±7.42	2.06±1.78	31.60±2.81	51.80±16.01	3.08±0.00	15.55±1.03	5.44±2.37	3.08±0.00
10	GX20172649	褐伞残孔菌 <i>Abortiporus biennis</i>	3.55±0.00	3.98±5.24	7.72±1.09	49.81±2.46	11.05±0.95	57.10±2.18	111.83±1.06	39.13±12.52	186.21±8.91	158.67±2.09	41.16±1.56	186.21±8.91
11	ZRL20190819	黄小蜜环菌 <i>Armillaria cepistipes</i>	5.98±1.48	0.00±0.00	0.00±0.00	245.97±0.49	10.04±3.34	47.84±6.55	66.85±0.70	20.71±4.10	62.76±4.71	41.81±1.84	32.17±3.71	62.76±4.71

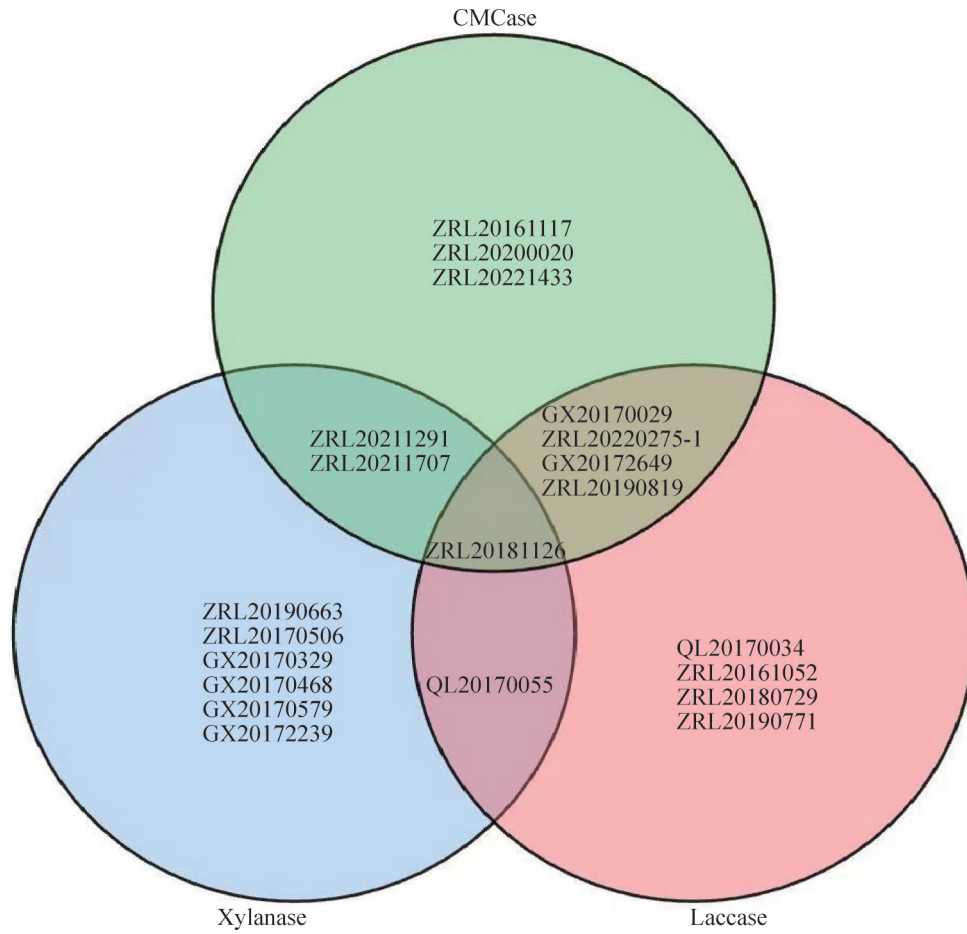


图3 筛选菌株在漆酶、纤维素酶和木聚糖酶活性中的韦恩图

Figure 3 Venn diagram showing the overlap of strains with laccase, CMCase, and xylanase activities.

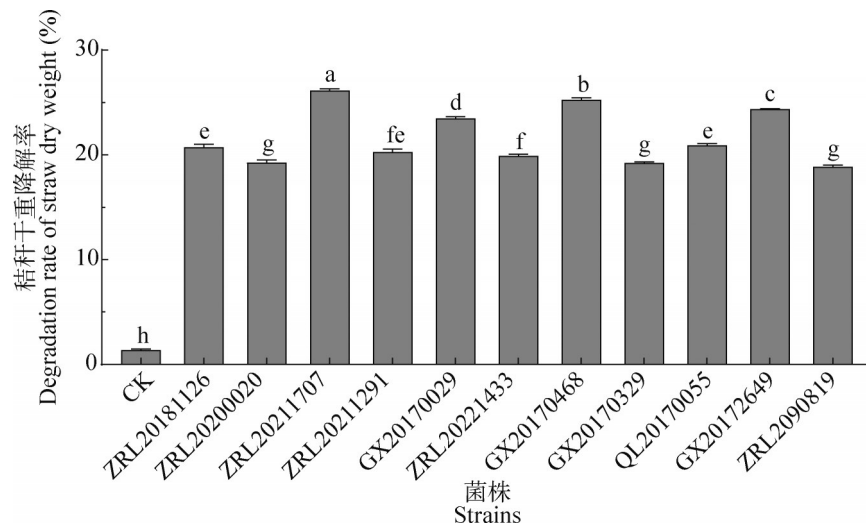


图4 10株真菌菌株降解玉米秸秆后的干重降解率

Figure 4 Dry weight degradation rate of corn straw by 10 fungal strains.

下都表现出较高的木质纤维素降解能力^[25-33], 在本研究中, 发现这些物种在低温条件下同样具有优良的木质纤维素降解能力, 并展现出各自的特性。例如, *P. ostreatus* 虽然漆酶活性在低温条件下为 154.32 U/mL, 仅为白长胜等^[30]研究中常温条件下酶活性的 63.3%, 但其羧甲基纤维素酶活性在低温条件下显著提升, 达到 150.78 U/mL, 远高于常温条件下的 36.03 U/mL, 表现出强大的低温适应能力。这一结果表明, 糙皮侧耳在寒冷地区的木质纤维素降解和低温工业应用中具有重要的开发潜力。*N. fumosipora* 在 15 °C 条件下的漆酶活性为 2.06 U/mL, 远高于 An 等^[31]研究中常温液体发酵条件下测得的 0.15 U/mL, 显示出低温对漆酶分泌的促进作用。*T. suaveolens* 的羧甲基纤维素酶活性在 15 °C 条件下显著提升, 达到 168.17 U/mL, 远高于柳卓含等^[32]研究中常温条件下的 67.88 U/mL, 表明其在低温环境中具有良好的适应性; 此外, 其木聚糖酶活性为 33.07 U/mL, 略高于常温条件下的 27.14 U/mL; 但漆酶活性(100.31 U/mL)高于常温条件下的 43.25 U/mL。这些结果表明 *T. suaveolens* 在低温环境中对纤维素和半纤维素降解具有明显优势, 为其在低温工业应用中提供了理论依据。*S. hirsutum* 在 15 °C 条件下的漆酶活性为 63.27 U/mL, 几乎是 Thakur 等^[33]研究中常温振荡培养条件下测得值 31.1 U/mL 的 2 倍, 表明该菌株在低温条件下依然能够保持较高的漆酶分泌能力, 具有很强的低温适应性。*A. cepistipes* 在 15 °C 低温条件下的漆酶活性(62.76 U/mL)显著高于 Sahu 等^[34]研究中 25 °C 条件下的漆酶活性(0.001 9 U/mL); 羧甲基纤维素酶活性(245.97 U/mL)也远高于 25 °C 条件下的纤维素酶活性(2.2 U/mL)。然而木聚糖酶活性(32.17 U/mL)略低于刘晓敏等^[35]研究中的 33.5 U/mL, 这些结果表明, 在低温条件下, 菌

株可能通过调控代谢途径, 提高漆酶和纤维素酶的分泌以适应环境胁迫, 同时可能优先分解木质素和纤维素。*P. acerina* 在 15 °C 条件下的漆酶活性为 49.38 U/mL, 显著高于张富美等^[36] 25 °C 条件下, 第 10 天测得的最大值 18.52 U/mL。*I. lacteus* 在 15 °C 条件下表现出较高的羧甲基纤维素酶(208.06 U/mL)和木聚糖酶活性(31.27 U/mL), 与肖瑶等^[37]在 28 °C 条件下测得酶活值相近, 展现出较好的温度适应性; 此外, 其漆酶活性(5.14 U/mL)显著高于 28 °C 条件下的酶活(3.079 U/mL), 这些结果表明, 低温可能促进 *I. lacteus* 漆酶的分泌或活性增强, 从而提升其在低温环境下降解木质素的潜力。综合来看, 该菌株在低温下展现出优越的木质纤维素降解能力, 可能适用于寒冷地区或低温工业应用场景。据孙悦等^[38]报道, *A. biennis* 在 28 °C 条件下, PD 培养基加 0.25 mmol/L Cu²⁺ 诱导培养后漆酶活性为 1.82×10⁵ U/mL, 本研究中 *A. biennis* 在 15 °C 条件下可以产出的漆酶酶活为 186.21 U/mL。

尽管本研究筛选出了一些具有较强降解木质纤维素能力的低温适应性大型真菌, 但这些菌株在低温下表现出优异降解性能的具体机制仍需进一步探讨。木质纤维素的降解主要依赖于纤维素降解酶、半纤维素降解酶以及木质素降解酶(如漆酶)的协同作用。尤其是 *T. suaveolens* 在 15 °C 条件下表现出较高的羧甲基纤维素酶活性(168.17 U/mL), 相较于柳卓含等^[32]研究中常温下的 67.88 U/mL, 酶活提高了 147.7%, 表明该菌株可能具有某些特有机制来维持酶的活性和稳定性。这些机制可能涉及冷适应性同种酶的表达, 这类酶具有更强的低温稳定性^[39]。此外, 低温条件下的真菌可能通过调节细胞膜流动性、膜蛋白稳定性以及优化代谢途径来提高能量利用效率, 从而增强酶的合

成与活性。研究表明, 寒冷适应性真菌通常通过基因表达调控、膜脂成分的变化及特定代谢途径的激活来适应低温环境^[40]。因此, *P. ostreatus* 可能通过调节细胞膜流动性和优化代谢速率来增强低温适应性, 从而维持较高的酶活性。然而, 这些低温适应机制的具体分子调控方式仍不清楚, 未来的基因组学和蛋白质组学研究将有助于进一步揭示这些菌株如何在低温条件下保持较强的木质纤维素降解能力。

一般来说, 低温通常对酶活性具有抑制作用。本研究通过对大量大型真菌菌株在低温环境中的酶活性进行系统性筛选和检测, 发现了一批对低温环境具有极强适应性且表现出高效漆酶活性的物种和菌株。这些工作填补了相关研究空白, 为大型真菌木质纤维素降解特性在低温环境中的应用提供了重要的数据支持, 也为寒冷地区秸秆等农业废弃物的降解及低温工业应用提供了重要的理论支持。

4 结论

本研究对来自 245 个大型真菌物种的 955 个菌株进行了木质纤维素降解酶活性筛选, 获得了 11 株在低温(15 °C)条件下表现出优异木质纤维素降解能力的菌株, 分别为 *T. suaveolens*、*I. lacteus*、*C. leave*、*S. hirsutum*、*P. ostreatus*、*P. acerina*、*A. xanthodermus*、*N. fumosipora*、*P. multicingulata*、*A. biennis* 和 *A. cepistipes* 等 11 个物种。其中, *C. leave*、*A. xanthodermus* 和 *P. multicingulata* 是首次被报道具有较高的木质纤维素降解能力; 进一步分析发现, *T. suaveolens* 在低温条件下同时具备较高的纤维素、半纤维素和木质素降解能力。*P. ostreatus* 和 *S. hirsutum* 在低温条件下分别表现出较高的羧甲基纤维素酶、木聚糖酶和漆酶活性, 这些结果进一步说明大型真菌在低温环境中仍能保持较

高的木质纤维素降解能力。本研究为寒冷地区玉米秸秆的生物降解提供了重要的微生物资源, 拓展了低温木质纤维素降解菌的种类, 为秸秆资源化利用提供了科学依据和理论支持, 具有实际应用潜力。

作者贡献声明

刘明月: 实验设计、实验操作、数据处理、文章撰写及修改; 王爱萍: 监督指导, 修改论文; 赵瑞琳: 提供材料、实验指导、论文修改润色。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] 《全国农作物秸秆综合利用情况报告》发布[J]. 中国农技推广, 2022, 38(10): 85.
- [2] WANG S, HUANG XL, ZHANG Y, YIN CB, RICHEL A. The effect of corn straw return on corn production in Northeast China: an integrated regional evaluation with meta-analysis and system dynamics[J]. Resources, Conservation and Recycling, 2021, 167: 105402.
- [3] 江晓东, 迟淑筠, 王芸, 宁堂原, 李增嘉. 少免耕对小麦/玉米农田玉米还田秸秆腐解的影响[J]. 农业工程学报, 2009, 25(10): 247-251.
JIANG XD, CHI SJ, WANG Y, NING TY, LI ZJ. Effect of less tillage and no-tillage patterns on decomposition of returned maize straw in wheat/maize system[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2009, 25(10): 247-251 (in Chinese).
- [4] 钟方潜, 苏琪骅, 周任君, 易明建, 吴其重, 颜妍. 秸秆焚烧对区域城市空气质量影响的模拟分析[J]. 气候与环境研究, 2017, 22(2): 149-161.
ZHONG FQ, SU QH, ZHOU RJ, YI MJ, WU QZ, YAN Y. Impact of crop straw burning on urban air quality based on WRF-chem simulations[J]. Climatic and Environmental Research, 2017, 22(2): 149-161 (in Chinese).
- [5] 张根, 陈宝锐, 陈涛, 谢怡茵, 薛颖昊, 魏政. 农作物秸秆木质纤维素生物降解酶及降解菌的研究进展[J]. 农学报, 2023, 13(2): 24-32.
ZHANG G, CHEN BR, CHEN T, XIE YY, XUE YH, WEI Z. Research progress on enzymes and microorganisms for biodegradation of lignocelluloses from crop straw[J]. Journal of Agriculture, 2023, 13(2): 24-32 (in Chinese).
- [6] 孙竹文. 芦苇木质纤维素高效降解工艺探索及优化[D].

- 咸阳: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2023.
SUN ZW. Research and optimization of efficient degradation technology of reed lignocellulose[D]. Xianyang: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2023 (in Chinese).
- [7] YU Q, LIU RH, LI K, MA RJ. A review of crop straw pretreatment methods for biogas production by anaerobic digestion in China[J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2019, 107: 51-58.
- [8] SÁNCHEZ C. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi[J]. Biotechnology Advances, 2009, 27(2): 185-194.
- [9] CHEN LZ, TANG T, WANG Z, ZHAO N, WU S, LIU YS. A novel fungal and bacterial consortium promotes the degradation of rice straw: conditions optimization and degradation properties[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2024, 194: 105875.
- [10] MARTINEZ D, LARRONDO LF, PUTNAM N, GELPKE MDS, HUANG K, CHAPMAN J, HELFENBEIN KG, RAMAIIYA P, DETTER JC, LARIMER F, COUTINHO PM, HENRISSAT B, BERKA R, CULLEN D, ROKHSAR D. Genome sequence of the lignocellulose degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium* strain RP78[J]. Nature Biotechnology, 2004, 22(6): 695-700.
- [11] 张漾泓, 张少冰, 张家顺, 马江山, 刘高强. 一株新分离的灵芝栓孔菌 Z-1 应用于木质素降解及染料脱色[J]. 菌物学报, 2021, 40(7): 1854-1868.
ZHANG YH, ZHANG SB, ZHANG JS, MA JS, LIU GQ. A newly isolated *Trametes versicolor* Z-1 and its application to lignin degradation and dye decolorization[J]. Mycosystema, 2021, 40(7): 1854-1868 (in Chinese).
- [12] JIANG GF, CHEN PJ, BAO YZ, WANG XF, YANG TJ, MEI XL, BANERJEE S, WEI Z, XU YC, SHEN QR. Isolation of a novel psychrotrophic fungus for efficient low-temperature composting[J]. Bioresource Technology, 2021, 331: 125049.
- [13] 李娜, 王迪, 任翠梅, 芮海英, 于吉东, 杨柳. 1 株耐低温玉米秸秆纤维素降解真菌的分离与鉴定[J]. 玉米科学, 2024, 32(8): 114-119.
LI N, WANG D, REN CM, RUI HY, YU DJ, YANG L. Isolation and identification of a low temperature-tolerant maize stalk cellulose-degrading fungus[J]. Journal of Maize Sciences, 2024, 32(8): 114-119 (in Chinese).
- [14] 穆春雷, 武晓森, 李术娜, 马鸣超, 李俊, 沈德龙, 朱宝成. 低温产纤维素酶菌株的筛选、鉴定及纤维素酶学性质[J]. 微生物学通报, 2013, 40(7): 1193-1201.
MU CL, WU XL, LI SN, MA MC, LI J, SHEN DL, ZHU BC. Screening and identification of a cold-adapted cellulase-producing strain and characterization of cellulase[J]. Microbiology China, 2013, 40(7): 1193-1201 (in Chinese).
- [15] 杨会敏, 李伟, 汪世华, 尹文兵. 耐低温玉米秸秆高效降解真菌菌株的筛选及评价[J/OL]. 菌物研究, [2025-03-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1352.S.20230421.1331.002.html>.
YANG HM, LI W, WANG SH, YI WB. Screening and evaluation of fungal strains for efficient decomposition of corn straw at low temperature[J/OL]. Journal of Fungal Research, [2025-03-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1352.S.20230421.1331.002.html> (in Chinese).
- [16] 王宜磊, 朱陶, 邓振旭. 愈创木酚法快速筛选漆酶产生菌[J]. 生物技术, 2007, 17(2): 40-42.
WANG YL, ZHU T, DENG ZX. Using O-methoxyphenol to fast screen laccase produced fungus[J]. Biotechnology, 2007, 17(2): 40-42 (in Chinese).
- [17] FLORENCIO C, COURI S, FARINAS CS. Correlation between agar plate screening and solid-state fermentation for the prediction of cellulase production by *Trichoderma* strains[J]. Enzyme Research, 2012, 2012: 793708.
- [18] 李建树, 孙丽坤, 韩向敏, 张明璠. 高温纤维素降解微生物的筛选、鉴定及其酶活力测定[J]. 甘肃农业大学学报, 2020, 55(3): 29-37.
LI JS, SUN LK, HAN XM, ZHANG MC. Screening, identification and enzyme activity determination of high temperature cellulose degrading microorganism[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2020, 55(3): 29-37 (in Chinese).
- [19] 李子婧, 刘帆, 汤胜, 马庆旭, 韩科峰, 吴良欢. 纤维素降解菌长枝木霉菌(*Trichoderma longibrachiatum*) ZJ-10 的筛选及产酶条件优化[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2022, 48(5): 614-624.
LI ZJ, LIU F, TANG S, MA QX, HAN KF, WU LH. Screening of cellulose-degrading fungus *Trichoderma longibrachiatum* ZJ-10 and optimization of enzyme production conditions[J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences), 2022, 48(5): 614-624 (in Chinese).
- [20] 王炳坤. 玉米秸秆低温降解菌复合菌剂制备及应用效果研究[D]. 长春: 吉林农业大学硕士学位论文, 2022.
WANG BK. Study on preparation and application effect of corn stalk low temperature degrading bacteria compound microbial inoculum[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin Agricultural University, 2022 (in Chinese).
- [21] 刘霄. 高效降解玉米秸秆复合菌群的构建及其降解效果研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2019.
LIU X. Construction and effectiveness of a high-efficient microbial consortium for corn straw degradation[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [22] 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: 沈阳农业大学硕士学位论文, 2019.
YU SS. Screening of low-temperature corn straw degradation strains and optimization of enzyme production conditions of complex strain[D]. Shenyang: Master's Thesis of Shenyang Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [23] 杨艳铭. 秸秆降解多功能复合菌剂筛选、降解效果研究及 *Catellatospora tritici* 多相分类鉴定[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2022.
YANG YM. Screening and degradation effect of multifunctional compound bacteria for straw degradation and identifying *Catellatospora tritici* sp. nov. by polyphasictaxonomy[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Agricultural University, 2022 (in Chinese).
- [24] 安琪, 员媛, 戴玉成, 韩美玲. 木质纤维素降解真菌菌株筛选及对玉米秸秆的生物降解研究[J]. 菌物学报, 2020, 39(1): 1-10.

- 2023, 42(3): 782-792.
- AN Q, YUN Y, DAI YC, HAN ML. Screening of lignocellulose degrading fungal strains and their biodegradation of corn straw[J]. *Mycosystema*, 2023, 42(3): 782-792 (in Chinese).
- [25] 杨梦雅, 闫非凡, 闫美超, 王贺, 朴仁哲, 崔宗均, 赵洪颜. 低温木质纤维素分解复合菌系 PLC-8 对玉米秸秆的分解特性[J]. 中国农业科技导报, 2021, 23(1): 73-81.
- YANG MY, YAN FF, YAN MC, WANG H, PIAO RZ, CUI ZJ, ZHAO HY. Decomposition characteristics of corn stover by microbial consortium PLC-8 with lignocellulose-degradation at low temperature[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2021, 23(1): 73-81 (in Chinese).
- [26] 赵龙妹, 张兰, 曹慧, 董惠心, 杜东晓, 李旺, 李元晓, 曹平华, 何万领. 土壤中产木聚糖酶菌株的筛选及发酵条件优化[J]. 微生物学通报, 2021, 48(10): 3506-3519.
- ZHAO LM, ZHANG L, CAO H, DONG HX, DU DX, LI W, LI YX, CAO PH, HE WL. Screening and fermentation conditions optimization of xylanase-producing strain from soil[J]. *Microbiology China*, 2021, 48(10): 3506-3519 (in Chinese).
- [27] 宋自力, 张伟, 廖头根, 汪世华, 李伟, 尹文兵. 血红密孔菌高产漆酶菌株的筛选及其对烟梗的生物降解[J]. 菌物学报, 2019, 38(3): 381-392.
- SONG ZL, ZHANG W, LIAO TG, WANG SH, LI W, YIN WB. Highly laccase-yielding strains of *Pycnoporus sanguineus* and their activities on tobacco stem biodegradation[J]. *Mycosystema*, 2019, 38(3): 381-392 (in Chinese).
- [28] HILDÉN K, MÄKELÄ MR, LANKINEN P, LUNDELL T. *Agaricus bisporus* and related *Agaricus* species on lignocellulose: production of manganese peroxidase and multicopper oxidases[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2013, 55: 32-41.
- [29] 戴建清. 双孢蘑菇 W192 液体菌种摇瓶培养过程中的生理生化分析[J]. 福建农业学报, 2021, 36(2): 182-187.
- DAI JQ. Physiological and biochemical properties of *Agaricus bisporus* in shaking flask culture[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 36(2): 182-187 (in Chinese).
- [30] 白长胜, 刘秋瑾, 尹琚伊, 王欢, 田秋丰, 邱景会, 汤继龙, 史同瑞. 产木质纤维素降解酶真菌的筛选及产酶特性[J]. 微生物学通报, 2023, 50(3): 1098-1110.
- BAI CS, LIU QJ, YIN JY, WANG H, TIAN QF, QIU JH, TANG JL, SHI TR. Screening and enzymatic characterization of the fungal strains producing lignocellulose-degrading enzymes[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(3): 1098-1110 (in Chinese).
- [31] AN Q, SHI WY, HE YX, HAO WY, MA KY, CHEN X, YAN XY, BIAN LS, LI CS, HAN ML. Evaluation of the capacity of laccase secretion of four novel isolated white-rot fungal strains in submerged fermentation with lignocellulosic biomass[J]. *BioResources*, 2021, 16(4): 6706.
- [32] 柳卓含, 律凤霞. 野生大型真菌鉴定及其木质纤维素酶对玉米秸秆降解效果的影响[J]. 中国食用菌, 2024, 43(5): 80-85.
- LIU ZH, LV FX. Identification of wild macrofungi and the effect of lignocellulase on the degradation of corn stover[J]. *Edible Fungi of China*, 2024, 43(5): 80-85 (in Chinese).
- [33] THAKUR N, TRIPATHI A. Comparative analysis of extracellular ligninolytic enzymes in wild white-rot fungi *Stereum hirsutum* and brown-rot fungi *Postia placenta* collected from Shilly forest of Himachal Pradesh[J]. *Asia Life Sciences*, 2020, 12: 16-27.
- [34] SAHU N, MERÉNYI Z, BÁLINT B, KISS B, SIPOS G, OWENS RA, NAGY LG. Hallmarks of *Basidiomycete* soft- and white-rot in wood-decay-omics data of two *Armillaria* species[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(1): 149.
- [35] 刘晓敏, 陈向东, 张薇薇, 王忠巧, 宋明海, 兰进, 马琳. 不同蜜环菌菌株的鉴定及胞外酶活性研究[J]. 中国农学通报, 2020, 36(24): 99-106.
- LIU XM, CHEN XD, ZHANG WW, WANG ZQ, SONG MH, LAN J, MA L. Identification of different *Armillaria* spp. strains and extracellular enzyme activity[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, 36(24): 99-106 (in Chinese).
- [36] 张富美, 侯瑞. 一株槭射脉革菌 MY51 的分离鉴定及对染料的脱色能力[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(2): 332-338.
- ZHANG FM, HOU R. Isolation and identification of strain *Phlebia acerina* MY51 and its decolorization to dyes[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2020, 26(2): 332-338 (in Chinese).
- [37] 肖瑶, 杨建远, 张炳火, 王萍兰, 杨云仙, 查代明. 白耙齿菌 F036 液态发酵产纤维素酶条件优化及纤维素酶酶学性质初步研究[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(6): 70-76.
- XIAO Y, YANG JY, ZHANG BH, WANG PL, YANG YX, ZHA DM. Fermentation conditions for cellulase production by *Irpex lacteus* F036 and its enzymatic properties[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2019, 45(6): 70-76 (in Chinese).
- [38] 孙悦, 胡渤洋, 徐鑫, 刘子璐, 李小凤, 张国庆. 二年残孔菌的培养条件优化及其液体发酵产物的抗氧化及漆酶活性[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(2): 306-311.
- SUN Y, HU BY, XU X, LIU ZL, LI XF, ZHANG GQ. Culture condition optimization, antioxidant capacity, and laccase production of *Abortiporus biennis*[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2020, 26(2): 306-311 (in Chinese).
- [39] LIU Y, JIA KZ, CHEN HY, WANG ZL, ZHAO W, ZHU LW. Cold-adapted enzymes: mechanisms, engineering and biotechnological application[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2023, 46(10): 1399-1410.
- [40] MAGGI O, TOSI S, ANGELOVA M, LAGOSTINA E, FABBRI AA, PECORARO L, ALTOBELLI E, PICCO AM, SAVINO E, BRANDA E, TURCHETTI B, ZOTTI M, VIZZINI A, BUZZINI P. Adaptation of fungi, including yeasts, to cold environments[J]. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 2013, 147(1): 247-258.