

一株蔗渣纤维素降解细菌的筛选与鉴定*

梁家灿¹, 聂强², 周晓昱³, 刘庆³, 张怡宁¹, 苏源^{1**}

(1. 昆明学院 农学与生命科学学院, 云南 昆明 650214; 2. 红河恒林化工有限公司, 云南 弥勒 652300;
3. 云南省农业科学院 生物技术与种质资源研究所 云南省农业生物技术重点实验室 云南 昆明 650223)

[摘要] 制糖业是云南的主要产业之一, 每年会产生大量的蔗渣. 为了能有效地处理云南制糖业产生的蔗渣, 并对其进行再次利用, 研究团队从云南省昆明市筇竹寺森林公园采集土壤样品, 分别用 CMC 刚果红培养基和以蔗渣作为唯一碳源的蔗渣培养基进行纤维素分解细菌的筛选, 通过测定其在 2 种培养基上形成的水解透明圈和菌落直径的比值进行分析, 再结合纤维素酶活力变化特征筛选获得一株能高效分解利用蔗渣纤维素的细菌 QZS-1. 该菌株整体为乳白色, 边缘呈不规则锯齿状, 上有花纹. 经过革兰氏染色和芽孢染色确定为革兰氏阳性的芽孢杆菌. 同源性比对显示, 其与短小芽孢杆菌同源性达 99.91%, 最终鉴定为短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*), 在 72 h 时产酶活力达到最高, 为 17.217 U/mL.

[关键词] 蔗渣; 纤维素酶; 短小芽孢杆菌; 鉴定

[中图分类号] TQ352.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5639(2023)03-0098-06

DOI: 10.14091/j.cnki.kmxyxb.2023.03.016

在制糖产业中, 由甘蔗作为主要原料而产生的蔗渣属于农业固体废弃物. 其主要成分为纤维素^[1], 因为其降解难度高, 难以得到有效的处理, 目前对于蔗渣的处理多为集中焚烧, 对环境污染严重^[2].

纤维素是地球上最丰富的可再生资源之一, 但由于其结构稳定难以降解, 绝大部分纤维素未能得到有效的利用^[3]. 而利用能够降解纤维素的微生物来处理纤维素是目前环保无害的手段之一. 有文献报道, 可以通过实验筛选出高酶活的纤维素分解菌, 利用其产生的酶来分解纤维素, 使得纤维素资源的利用率得以提高^[4]. 相比于真菌, 细菌更容易培养, 其繁殖快, 产酶周期短, 对纤维素具有高效的降解能力. 针对纤维素的分解机制, 通过国内外研究者的不断深入研究, 已经取得了一定的成果, 纤维素的分解是纤维素酶系统协同完成的^[5]. 纤维素酶 (cellulase) 是微生物分泌的能够降解纤维素的酶的总称, 能够将难以降解的纤维素分解为便于生物利用的单糖物质^[6]. 可以根据作用的位置和方式分为内切纤维素酶、外切纤维素酶和 β -葡萄糖苷酶 3 类. 只有三者的协同作用下纤维素才能被最终降解成容易利用的葡萄糖^[7,8].

刘东阳等^[9]筛选出 3 株来源于秸秆的纤维素分解菌, 这 3 株菌株都能对纤维素进行分解并加以利用. 李碧婵等^[10]从土壤中分离得到一株能够产生纤维素酶并且产酶活力比较高的菌株, 该菌株为一株能在高温环境中产生纤维素酶的蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*), 具有进一步开发利用的潜力. 江国忠等^[11]筛选得到一株在豆渣中有良好表现的高产纤维素酶的枯草芽孢杆菌. 胡爽等^[12]在青贮饲料中筛选得到一株细菌, 该细菌能够生产纤维素酶. 通过理化实验等微生物实验手段将该菌株鉴定为地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*) 并将该分离得到的菌株命名为 WS-6. 这株地衣芽孢杆菌 WS-6 的产纤维素酶能力较强. 其最适发酵条件为: 初始 pH 5.0~7.0, 温度 35℃, 测得其 CMC 酶活力达 2.55 U/mL. 曾青兰^[13]利用纤维素钠刚果红培养基平板筛选出 2 株能够高效产纤维素酶的细菌菌株, 通过分子生物学手段进行鉴定和测序分析, 将鉴定为枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 和蜡状芽孢杆菌.

制糖业属于云南省的主要产业之一, 甘蔗作为主要原料每年的使用量不断增加, 而蔗渣作为甘蔗制

* [收稿日期] 2022-10-28

[作者简介] 梁家灿, 男, 广西横州人, 昆明学院在读硕士研究生, 研究方向为农业资源利用.

** [通信作者] 苏源, 男, 云南昆明人, 昆明学院讲师, 博士, 研究方向为分子生物学, E-mail: suyuankm@163.com.

[基金项目] 云南省自然科学基金重点项目 (2016FA016).

糖后主要的副产物, 其产生量也在逐年增加^[14]. 从云南本地生境中筛选适合云南本地的蔗渣纤维降解菌株并利用其进行蔗渣堆捂发酵生产有机肥, 对解决云南蔗渣焚烧带来的环境污染问题以及实现蔗渣的资源化利用具有重要意义.

1 材料与方法

1.1 样品与试剂

1.1.1 初筛样品

参考梁倩的方案^[15], 从云南省昆明市筇竹寺附近森林 (海拔: 2 137.94 m, 东经: 102°62'41", 北纬: 25°06'15"), 在落叶丰富的地方, 按照五点取样法挖取落叶层下 5 cm 处的腐殖土装在做好标记的灭菌密封袋中 4 °C 保存.

1.1.2 主要试剂

研究所需试剂如表 1 所示.

表 1 实验所需试剂

试剂	生产厂商
纤维素酶试剂盒	苏州格锐思生物科技有限公司
PCR 试剂盒	北京全式金生物技术有限公司
HBI 芽孢杆菌生化鉴定条	青岛高科技工业园海博生物技术有限公司
细菌基因组 DNA 纯化试剂盒	北京全式金生物技术有限公司

1.1.3 主要培养基

参考马占松^[16]的方案稍做修改, 配方如表 2 所示.

表 2 常用培养基配方

培养基	配方
牛肉膏蛋白胨培养基	牛肉膏 5.0 g, 蛋白胨 10 g, NaCl 5.0 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.2 ~ 7.4
发酵产酶培养基	羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 10 g, (NH ₄) ₂ SO ₄ 4 g, KH ₂ PO ₄ 2 g, MgSO ₄ · 7H ₂ O 0.5 g, 蛋白胨 10 g, 牛肉膏 5 g, pH 7.0
刚果红纤维素培养基	K ₂ HPO ₄ 0.5 g, MgSO ₄ · 7H ₂ O 0.25 g, CMC-Na 1.88 g, 刚果红 0.2 g, 琼脂 14.0 g, 明胶 2.0 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0
蔗渣纤维素培养基	K ₂ HPO ₄ 0.5 g, MgSO ₄ · 7H ₂ O 0.25 g, 蔗渣粉末 1.88 g, 刚果红 0.2 g, 琼脂 14.0 g, 明胶 2.0 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0

1.2 实验方法

1.2.1 高效产纤维素酶菌株的初筛

参考薛藩和崔秀秀的方案^[17,18]稍做修改, 即称取 5 g 土壤样品于 50 mL 无菌水中震荡混匀, 进行梯度为 10⁴、10⁵、10⁶ 的稀释并涂布于刚果红纤维素培养基中, 37 °C 培养 3 d, 挑取所有产生透明圈的菌株进行编号并进行纯化培养.

以实验室筛选完成的枯草芽孢杆菌 (TSAK) 作为对照菌株, 与土壤样品中纯培养得到的菌株一起接种于蔗渣纤维素培养基和刚果红纤维素培养基中, 37 °C 环境下培养 3 d, 分别测量其在 2 种培养基上的水解透明圈 (D) 和菌落直径 (d) 的比值 (D/d). 挑选 D/d 值大于总体平均值的菌株进行下一步筛选^[19].

1.2.2 菌株的复筛

1) 纤维素酶活力测定

将实验菌株和对照菌株分别接种于发酵培养基中, 于 37 °C 环境下, 120 r/min 震荡培养 3 d, 按照纤维素酶试剂盒 (试剂盒购于苏州格锐思生物科技有限公司, 货号: G0533F) 说明书所记录的方法进行纤维素酶活力测定, 选出酶活力较高的菌株进行后续的实验.

2) 纤维素酶活力随时间变化规律

将 D/d 值大于总体平均值的菌株以及对照菌株于发酵产酶培养基中, 在 37 °C 环境下, 120 r/min 震荡

培养,每24 h测定菌株纤维素酶活力并制作纤维素酶活力曲线,共持续9 d,选取产酶效率高且稳定的菌株作为目标菌株。

1.3 高效产纤维素酶菌株的鉴定

1.3.1 形态学鉴定

将筛选出的菌株进行革兰氏染色和芽孢染色,于显微镜下观察。以《常见细菌系统鉴定手册》作为参照,进行菌株形态学的鉴定。

1.3.2 生理生化鉴定

根据海博生物技术有限公司生产的HBI微生物生化鉴定条说明书所记载的鉴定方法对目标菌株进行硝酸盐还原、7%氯化钠生长、pH 5.7生长等生理生化鉴定。

1.3.3 分子生物学鉴定

按细菌基因组DNA纯化试剂盒描述的方法提取基因组DNA,送往生工生物工程(上海)股份有限公司测序。测序结果通过NCBI网站进行DNA的Blast比对,构建系统发育树。

2 结果与分析

2.1 高效产纤维素酶菌株的初筛

将初筛培养基中全部有透明圈的菌株根据菌落形态分类出5株细菌,分别编号为QZS-1、QZS-2、QZS-3、QZS-4、QZS-5,进行分离纯化并保存。将上述5株点种于纤维素刚果红培养基中,37℃环境下培养3 d,测量水解透明圈(D)与菌落直径(d)的比值D/d,结果见表3。其中命名为QZS-1与QZS-2的菌株的D/d值分别达到了10.59和9.33,大于总体平均值8.35且显著大于对照菌株,其余菌株相对于对照菌株也有显著效果。

同时将上述菌株以同样方法接种于蔗渣纤维素培养基中培养,测定水解透明圈和菌落直径的比值D/d,结果见表4。各菌株的总体平均值为6.46。相比在刚果红纤维素培养基中的透明圈,上述菌株在蔗渣培养基中的效果有所降低,其中,命名为QZS-1的菌株在蔗渣培养基中的D/d值最高,达到了8.55,在蔗渣纤维素的利用上相比其他4株有较好的效果,与对照菌株TSAK相比高出3.14%。通过菌株在2种培养基上的D/d值对比,可以说明菌株QZS-1能够降解利用蔗渣纤维素且相对于筛选出的另外4株菌株和对照菌株有较好的效果。

2.2 菌株的复筛

2.2.1 纤维素酶活力测定

将5株细菌接种于发酵产酶培养基中,37℃环境下,180 r/min摇床振荡3 d制备粗酶液并进行酶活力测定。由图1可知,QZS-1的内切纤维素酶活力达到14.10 U/mL,仅次于QZS-2。在蔗渣纤维素培养基中,虽然QZS-2的D/d值仅为6.00,但其内切纤维素酶活力达到15.09 U/mL,比QZS-1高出9.91%,故将QZS-2与QZS-1作为备选菌株进行下一步的实验。

2.2.2 纤维素酶活力随时间变化规律

将上述2株备选细菌与TSAK在37℃环境下,120 r/min摇床中振荡培养制备粗酶液,每隔24 h测定其酶活力,最终绘制得到的纤维素酶活力随时间变化的曲线如图2所示。

通过纤维素酶活力曲线可见,QZS-1相较于QZS-2和TSAK产酶效率更高,QZS-1菌株的纤维素酶活力在72 h时就开始大幅度上升达到了14.843 U/mL,并在168 h时达到了峰值17.217 U/mL,且一直稳定保持在一个较高的水准,从192 h开始缓慢下降。而QZS-2和对照菌株TSAK则分别在168 h和120 h时开

表3 刚果红纤维素培养基透明圈与菌落直径比值

菌株编号	D/mm	d/mm	D/d
QZS-1	7.40	0.70	10.59 ± 0.80 ^a
QZS-2	14.00	1.50	9.33 ± 1.36 ^b
QZS-3	13.00	1.50	8.69 ± 0.42 ^{a,b}
QZS-4	14.50	1.80	7.97 ± 0.59 ^a
QZS-5	1.40	2.00	7.00 ± 0.92 ^b
TSAK	1.57	0.24	6.54 ± 0.69 ^c

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著(P < 0.05),下表同。

表4 蔗渣纤维素培养基透明圈与菌落直径比值

菌株编号	D/mm	d/mm	D/d
QZS-1	9.40	1.10	8.55 ± 0.56 ^a
QZS-2	9.00	1.50	6.00 ± 0.15 ^b
QZS-3	10.10	1.70	5.94 ± 0.14 ^b
QZS-4	9.40	1.60	5.88 ± 0.35 ^b
QZS-5	8.70	2.10	4.14 ± 0.38 ^c
TSAK	17.40	2.10	8.29 ± 0.47 ^a

始出现大幅度的上升. QZS-2 菌株最大纤维素酶活与 QZS-1 菌株的最大纤维素酶活相比仅相差 4.89%, 但 QZS-2 菌株酶活上升慢且下降幅度较大, 综合菌株 QZS-1 在蔗渣纤维素培养基上酶活变化特征将其确定为本次筛选的目标菌株并进行鉴定.

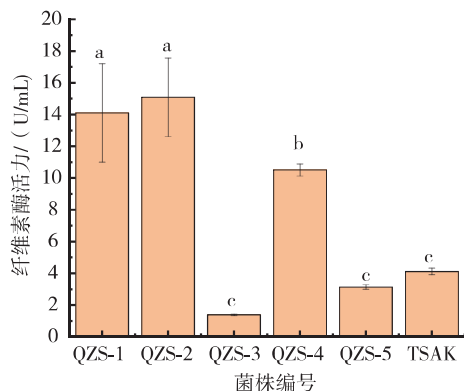


图1 纤维素酶活力对比

注: 图中同坐标轴不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$).

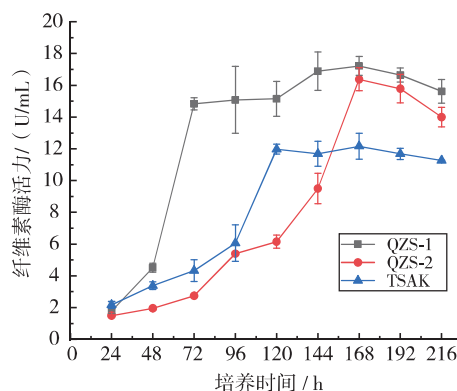


图2 纤维素酶活力随时间变化曲线

2.3 高效产纤维素酶菌株的鉴定

2.3.1 形态学鉴定

将 QZS-1 纯化出单菌落, 观察其菌落形态 (图 3). 该菌株整体为乳白色, 边缘呈不规则锯齿状, 上有花纹. 经过革兰氏染色和芽孢染色 (图 4、图 5) 确定为革兰氏阳性的芽孢杆菌.



图3 QZS-1 菌落形态

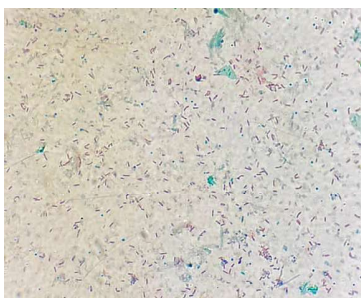


图4 QZS-1 革兰氏染色结果



图5 QZS-1 芽孢染色结果

2.3.2 生理生化鉴定

将菌株 QZS-1 进行生理生化实验, 其实验结果如表 5 所示, 该菌株具有淀粉水解能力, 在 pH 5.7 的环境下能够生长. 对该菌株进行 V-P 实验呈阴性, D-木糖、L-阿拉伯糖、D-甘露醇测试呈阴性, 明胶液化实验呈阴性, 硝酸盐还原实验呈阴性、柠檬酸盐实验呈阴性、丙酸盐实验呈阴性、7% 氯化钠生长实验呈阴性. 结合菌株 QZS-1 培养的形态结果及其特征的观察, 初步判断菌株 QZS-1 为芽孢杆菌属的菌株.

2.3.3 分子生物学鉴定

将 QZS-1 送测后的结果在 NCBI 进行同源性比对, 将结果输入 MEGA11 绘制成系统发育树 (图 6). 进行比对分析后可知, QZS-1 菌株与芽孢杆菌属中短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*) 同源性达到 99.91%, 故鉴定为短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*).

表5 QZS-1 生理生化鉴定结果

实验名称	结果判断	培养时间
厌氧生长	阳性 +	18 ~ 24 h
V-P	阴性 -	2 ~ 4 d
柠檬酸盐	阴性 -	48 h
丙酸盐	阴性 -	48 h
D-木糖	阴性 -	2 ~ 5 d
L-阿拉伯糖	阴性 -	2 ~ 5 d
D-甘露醇	阴性 -	2 ~ 5 d
明胶液化	阴性 -	48 ~ 96 h
7% 氯化钠生长	阴性 -	2 ~ 7 d
pH 5.7 生长	阴性 -	24 ~ 48 h
硝酸盐还原	阴性 -	2 ~ 4 d
淀粉水解	阳性 +	48 ~ 96 h

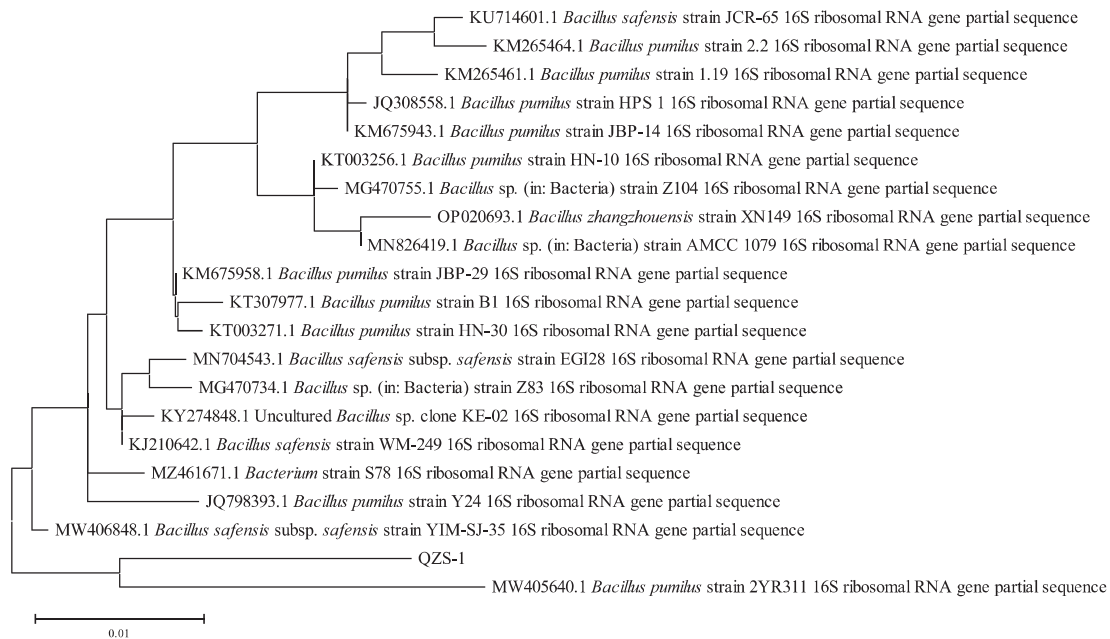


图6 QZS-1系统发育树

3 讨论与结论

近年来,利用微生物生产的纤维素酶降解纤维素作为一种经济有效的方法已成为研究热点.国内外对利用细菌降解纤维素的研究目前尚处于起步阶段.现在一些细菌可以有效降解纤维素的推测已经得到证实,相应的降解机制也得到了一定程度的研究.例如潘知乐等^[20]回顾了当前秸秆焚烧引起的环境问题和纤维素降解菌的筛选之间的存在的联系和问题,分析了纤维素酶降解机制的4种协同作用,并对它们在基因水平上存在的可能性和机理进行了分析.

蔗渣作为制糖业的副产物,产量大但结构稳定,难以降解,无法得到有效的利用^[21].通过以蔗渣为唯一碳源的培养基的筛选和内切纤维素酶活力的测定,从昆明筇竹寺周边筛选出一株能降解利用蔗渣纤维素的适应本地环境的细菌QZS-1,经过分子鉴定确定其为短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*).该菌株产酶效率高,在培养72 h后开始大幅度上升并在168 h后达到最大值12.217 U/mL,且下降幅度小,能维持在比较高的水平.相比之下,孙思琦等^[22]筛选出了能够有效地降解落叶中木质素的菌株,其结果表明,混合菌液对木质素的降解效果要优于单一的菌液.江高飞等^[23]筛选出能在高温(55~75℃)堆肥环境中高效降解纤维素的短小芽孢杆菌和嗜热脂肪芽孢杆菌.宋丽丽等^[24]从酒糟中筛选出能够产纤维素酶的巨大芽孢杆菌,测定得到其酶活力36.73 U/mL.

此筛选方案在初筛过程中补充了以蔗渣作为唯一碳源的筛选过程,使得菌株的筛选目标更加明确,也为后续的进一步筛选和应用提供了一定的数据支撑,但如何优化其培养条件和发酵条件使其能更好地在蔗渣的降解和利用还有待后续的研究.

[参考文献]

- [1] 邓强,张焜,蔡燕飞,等.甘蔗渣纤维素的微生物和酶降解研究进展[J].化学工程与装备,2008(5):79-83.
- [2] 陈淋转.降解甘蔗渣纤维素的木霉菌株的筛选及其诱变育种[D].南宁:广西大学硕士学位论文,2020.
- [3] SHAIKH H M, PANDARE K V, NAIR G, et al. Utilization of sugarcane bagasse cellulose for producing cellulose acetates: Novel use of residual hemicellulose as plasticizer [J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 76 (1): 23-29.
- [4] 张胜男,张浩洋,张跃华,等.北方高寒地带生物堆肥中高温纤维素分解菌的筛选及分离纯化研究[J].农业与技术,2017,37(5):1-3.
- [5] BAYER E A, LAMED R, HIMMEL M E. The potential of cellulases and cellulosomes for cellulosic waste management [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2007, 18 (3): 237-245.

- [6] 马振刚, 熊亮, 张真, 等. 高产碱性纤维素酶细菌的筛选鉴定及其酶学特性与发酵条件研究 [J]. 南方农业学报, 2021, 52 (3): 722-731.
- [7] REZANIA S, ORYANI B, CHO J, et al. Different pretreatment technologies of lignocellulosic biomass for bioethanol production: An overview [EB/OL]. (2020-04-03)[2022-10-05]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360544220305648?via%3Dihub>.
- [8] OLADELE I O, IBRAHIM I O, AKINWEKOMI A D, et al. Effect of mercerization on the mechanical and thermal response of hybrid bagasse fiber/CaCO₃ reinforced polypropylene composites [J]. Polymer Testing, 2019, 76: 192-198.
- [9] 刘东阳, 王蒙蒙, 马磊, 等. 高效纤维素分解菌的分离筛选及其分解纤维素研究 [J]. 南京农业大学学报, 2014, 37 (6): 49-58.
- [10] 李碧婵, 陈金燕, 苏雅娜, 等. 纤维素酶高产细菌的筛选、鉴定及酶学特性分析 [J]. 湖北农业科学, 2016, 55 (17): 4572-4576.
- [11] 江国忠. 高产纤维素酶枯草芽孢杆菌的筛选、应用及其产酶条件研究 [D]. 南昌: 南昌大学硕士学位论文, 2010.
- [12] 胡爽, 王伟, 詹发强, 等. 一株产纤维素酶细菌的筛选鉴定 [J]. 生物技术, 2008 (5): 36-38.
- [13] 曾青兰. 纤维素降解细菌的分离鉴定和筛选方法的研究 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36 (24): 10309-10310.
- [14] 王梦梦, 李祖仲, 庞萧萧, 等. 蔗渣纤维应用研究进展 [J]. 应用化工, 2020, 49 (12): 3132-3136.
- [15] 梁倩, 李荷, 王卓娅. 产纤维素酶细菌的分离、鉴定与酶学性质研究 [J]. 广东药科大学学报, 2019, 35 (1): 120-125.
- [16] 马占松. 利用杨木木屑作为碳源制备细菌纤维素的研究 [D]. 济南: 齐鲁工业大学硕士学位论文, 2015.
- [17] 薛藩. 纤维素降解微生物的筛选及高效纤维素酶活条件研究 [D]. 扬州: 扬州大学硕士学位论文, 2019.
- [18] 崔秀秀. 一株耐冷细菌产低温纤维素酶发酵条件优化及其活性酶谱分析 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学硕士学位论文, 2016.
- [19] 宋朝霞, 范玲, 李鹏, 等. 一株纤维素酶高产细菌的筛选及鉴定 [J]. 河南工程学院学报 (自然科学版), 2018, 30 (4): 76-81.
- [20] 潘知乐, 杨鸿, 时佳旭, 等. 纤维素降解菌的筛选鉴定及其特性研究概况 [J]. 环境科学与管理, 2019, 44 (4): 102-105.
- [21] 刘洋, 姚艳丽, 胡小文. 甘蔗渣纤维素降解菌株的筛选与鉴定 [J]. 微生物学杂志, 2020, 40 (4): 66-72.
- [22] 孙思琦, 樊晓亮, 宁吉彬, 等. 纤维素高效降解菌对森林地表可燃物的野外降解 [J]. 东北林业大学学报, 2020, 48 (8): 61-65.
- [23] 江高飞, 杨天杰, 郑海平, 等. 降解玉米秸秆真菌复合菌系的构建及其降解效果评价 [J]. 植物营养与肥料学报, 2021, 27 (2): 284-292.
- [24] 宋丽丽, 闻格, 霍姗浩, 等. 白酒酒糟中产纤维素酶细菌的分离筛选和酶学性质研究 [J]. 食品与发酵工业, 2020, 46 (7): 43-49.

Screening and Identification of a Cellulose Bacteria from Bagasse

LIANG Jiacan¹, NIE Qiang², ZHOU Xiaogang³, LIU Qing³, ZHANG Yining¹, SU Yuan¹

(1. Institute of Agriculture and Life Sciences, Kunming University, Kunming, Yunnan, China 650214;

2. Honghe Henglin Chemical Industry Co., Ltd, Mile, Yunnan, China 652300;

3. The Key Laboratory of Biotechnology Research of Yunnan Province, Institute of Biotechnology and Genetic Resources, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan, China 650223)

Abstract: Yunnan Province, as a major province having sugar industries, produces a large amount of bagasse and hence it is urgent to address the issues related to bagasse accumulation. The cellulose-decomposing strains were isolated from the soil obtained from Qiongzhusi Forest Park in Kunming of Yunnan Province, and were screened using carboxymethyl cellulose Congo red and bagasse mediums as the only carbon sources. The ratio of transparent circle and colony diameter formed on the two mediums was determined. *Bacillus pumilus* was identified as the high-efficiency cellulase-producing strains QZS-1. This strain was milky white overall, with irregular serrated edges and patterns. The Bacillus was identified as Gram-positive by Gram staining and spore staining. After homology comparison, it shared 99.91% homology with *Bacillus pumilus*, and was finally identified as *Bacillus pumilus*. It reached the highest enzyme production activity after 72 hours (17.217 U/mL).

Key words: bagasse; cellulase; *Bacillus pumilus*; identification

(责任编辑: 陈伟超)