

一株兼具产油和纤维素降解能力的印度血桐 种仁内生菌的筛选及发酵条件优化

李浩^{1,2}, 孟加梅³, 郭娟¹, 田波¹

(1. 中国科学院西双版纳热带植物园 热带植物资源可持续利用重点实验室, 昆明 650223;

2. 中国科学院大学, 北京 101408; 3. 滇西应用技术大学 普洱茶学院, 云南 普洱 671006)

摘要:旨在寻找兼具产油和纤维素降解能力的菌株以有效降低发酵成本,进而促进产油微生物的应用。通过苏丹黑B染色法筛选印度血桐种仁中具有产油能力的内生菌,并通过刚果红筛选法初筛、滤纸条崩解实验和产纤维素酶活力测定复筛纤维素降解能力较强的菌株,采用单因素试验对其发酵条件进行优化,并对其产油脂主要脂肪酸组成进行测定。结果表明,印度血桐种仁中共筛选出6株兼具产油能力和纤维素降解的菌株,其中Mi007号菌株的透明圈直径与菌落直径比值(3.16)较大,滤纸崩解情况最佳,产纤维素酶活力(12.33 U/mL)最高,其纤维素降解能力最强。优化的发酵条件为酵母粉用量1.0 g/L、pH 6、接种量5.0 mL(40 mL培养基),在此条件下Mi007号菌株有最佳产油量,为409.31 mg/L,所产油脂主要脂肪酸为棕榈酸(C16:0)、硬脂酸(C18:0)和油酸(C18:1)。经测序鉴定,Mi007号菌株为巨大普利斯特氏菌(*Priestia megaterium*),序列相似度为99.93%。综上,Mi007号菌株兼具产油和纤维素降解能力,且产油量较高,有望成为克服工业发酵成本问题的备选菌株。

关键词:植物内生菌;印度血桐种仁;纤维素降解;微生物油脂;发酵条件优化

中图分类号:TQ642;Q939.97 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2025)04-0088-06

Screening and fermentation conditions optimization of endophytes from *Macaranga indica* seed kernel with both oil production and cellulose degradation capabilities

LI Hao^{1,2}, MENG Jiamei³, GUO Juan¹, TIAN Bo¹

(1. Key Laboratory of Tropical Plant Resource and Sustainable Use, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408, China; 3. Pu'er Tea College, West Yunnan University of Applied Sciences, Pu'er 671006, Yunnan, China)

Abstract: In order to identify microorganisms that exhibit both oil production and cellulose degradation capabilities, thereby reducing fermentation costs and promoting the application of oil-producing microorganisms, endophytic microorganisms having oil-producing ability were screened from *Macaranga indica* seed kernel using Sudan Black-B staining. Subsequently, strains exhibiting strong cellulose degradation ability were initially screened by Congo Red screening method, and rescreened using the

filter paper disintegration experiments and cellulase activity measurements, followed by the optimization of fermentation conditions by single factor experiment. The fatty acid composition of the oil produced by the screened strain was determined. The results indicated that six strains capable of simultaneous cellulose degradation and

收稿日期:2024-01-30;修回日期:2024-12-06

基金项目:云南省基础研究专项重点项目(202101AS070011);云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目(202105AC160083)

作者简介:李浩(1999),男,硕士研究生,研究方向为功能性微生物及微生物组学(E-mail)1029805347@qq.com。

通信作者:田波,副研究员(E-mail)tianbo@xtbg.ac.cn。

oil production were identified from *Macaranga indica* seed kernel. Strain Mi007 exhibited the highest ratio of transparent circle diameter to colony diameter (3.16), demonstrated superior filter paper disintegration, and displayed the highest cellulase activity (12.33 U/mL), indicating its strongest cellulose degradation capability. Strain Mi007 achieved the optimal oil yield of 409.31 mg/L when the yeast dosage was 1.0 g/L, the pH was 6, and the inoculation amount was 5.0 mL (40.0 mL culture medium), C16:0, C18:0 and C18:1 were the main fatty acid of the strain oil. Sequence identification confirmed that strain Mi007 was *Priestia megaterium*, exhibiting a sequence similarity of 99.93%. In summary, Mi007 strain, with both oil production and cellulose degradation capabilities and high oil yield, is expected to be a candidate strain to overcome the cost problem of industrial fermentation.

Key words: plant endophytes; *Macaranga indica* seed kernel; cellulose degradation; microbial oil; fermentation condition optimization

产油微生物在特定条件下能够将碳水化合物、碳氢化合物或普通油脂转化为油脂并储存在体内,其油脂含量可超过其干质量的 20%^[1]。产油微生物主要有酵母、霉菌、细菌和藻类。相较于植物油料,产油微生物具有不受地域限制、生产周期短、所需人力低、可调控性高等优势,具备成为“油料工厂”的潜力。此外,产油微生物来源广泛,资源丰富,不仅可从土壤、河流、荒漠等自然环境中获取^[2-4],还可从生物体内获取^[5]。当微生物定殖于植物体内时,可与植物共生,从而发生基因的水平转移。基因的水平转移指不同物种个体间或任何跨越生殖隔离障碍的基因交流,其可在内生菌与植物宿主之间发生,由此可使内生菌具备某些宿主代谢产物的能力^[6],如王一凡^[7]在蒜头果种子中提取到具备产神经酸能力的菌株。由此可见,产油植物是产油微生物的天然种质库,从产油植物中提取产油微生物具备广阔的前景。

在产油微生物发酵过程中,碳源约占微生物发酵成本的 70%^[8],为降低成本,近年来越来越多的研究聚焦于如何利用工业废弃物进行微生物发酵。例如,研究人员探索了使用粗甘油、工业废水和木质纤维素等物质作为碳源进行工业发酵的方法^[9],其中工业废水和粗甘油可能不易收集,且其利用效率可能不高。我国蕴含丰富的纤维素资源,将纤维素作为微生物发酵的碳源有利于环境保护,同时可以降低工业发酵成本,实现工业原料的绿色化^[10]。但绝大多数微生物不能直接利用纤维素或半纤维素,对此往往采用 3 种方式进行改善:一是对纤维素进行预处理^[11]使其转化为微生物可以直接利用的碳源,但不同的处理过程都存在一定缺陷,如产生乙酸等抑制细胞生长的物质,或处理成本高以及操作复

杂等;二是采用混菌培养^[12],使纤维素分解为可利用的碳源,但需明确菌株之间是否会产生拮抗作用,以及混菌培养时各菌株的生长曲线等系列因素,存在菌群竞争调控复杂等技术挑战,而且混菌培养后可能也无法满足预期效果;三是对菌株进行基因编辑,导入纤维素降解基因,但并非所有产油菌都易进行外源基因的导入。因此,从产油植物中筛选兼具产油和纤维素降解能力的菌株可有效解决微生物工业化过程中的成本问题,从而实现微生物产油方法的推广。

印度血桐(*Macaranga indica*)为大戟科铁苋菜族血桐属植物,广泛分布于我国西南地区,为热带先锋树种,适应性强,生长速度快。印度血桐种仁含油量高达 60%,且富含具有特殊药用价值的脂肪酸——神经酸^[13]。因此,印度血桐具有作为筛选具有产油能力甚至神经酸生产能力的菌株的潜力。

本文以印度血桐种仁为研究对象,对其内生菌进行了双重筛选,以获得兼具产油和降解纤维素能力的内生菌,并对该菌株进行了鉴定和发酵条件优化,以期获取可高效转化廉价碳源纤维素为油脂的微生物。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验原料

印度血桐种子,采集于中国科学院西双版纳热带植物园。实验所用试剂均购于上海麦克林生化科技股份有限公司。

1.1.2 微生物培养基

沙氏改良液体培养基:葡萄糖 40.0 g,蛋白胨 10.0 g,去离子水 1 000.0 mL,调节 pH 至 7.0。

PDA 固体培养基:马铃薯 200.0 g,葡萄糖 20.0 g,琼脂 20.0 g,去离子水 1 000.0 mL,调节 pH 至 7.0。

LB 固体培养基:胰蛋白胨 10.0 g,酵母提取物 5.0 g,氯化钠 10.0 g,琼脂 20.0 g,去离子水 1 000.0 mL,调节 pH 至 7.4。

刚果红筛选培养基:羧甲基纤维素钠 2.0 g,硫酸铵 1.0 g,七水合硫酸镁 0.25 g,磷酸氢二钾 0.5 g,刚果红 0.1 g,琼脂 20.0 g,去离子水 1 000.0 mL。

滤纸条崩解培养基:硫酸铵 1.0 g,七水硫酸镁 0.5 g,磷酸氢二钾 1.0 g,酵母膏 0.1 g,去离子水 1 000.0 mL,0.05 g 滤纸条(新华 1 号)。

基础纤维素产脂培养基:滤纸条 0.1 g(新华 1 号),硫酸铵 1.0 g,磷酸二氢钾 1.0 g,七水合硫酸镁 1.0 g,一定量酵母粉,去离子水 1 000.0 mL。

1.1.3 仪器与设备

PE Clarus680 气相色谱仪,珀金埃尔默仪器(上海)有限公司;pH 计,梅特勒-托利多集团;超净工作台,上海沪净医疗器械有限公司;紫外分光光度计、电子天平,上海菁海仪器有限公司;恒温振荡培养箱,赛默飞世尔科技公司;高压灭菌锅,致微仪器有限公司;离心机,湖南赫西仪器装备有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 印度血桐种子内生菌的富集与纯化

将印度血桐种子剥除种皮,种仁用 0.007 6 mol/L 优氯净-水溶液浸泡 3 min 后,再用 75% 乙醇浸泡 30 s 灭菌,最后用无菌水清洗 3 次。取最后一次清洗液涂布于 PDA 或 LB 固体培养基中培养(培养温度 30℃),观察产菌情况,以检测种仁表面灭菌是否彻底。将清洗后的种仁于无菌研钵中研磨后加至沙氏改良液体培养基中,于 30℃、140 r/min 下振荡培养 2 d 进行产油菌的富集,将富集后的产油菌稀释至 1×10^{-6} 后涂布于对应的 PDA 或 LB 固体平板培养基上,于 30℃ 恒温培养箱中培养至菌落明显,随后采用平板划线法将菌株接种于对应培养基中培养(PDA 固体培养基培养温度 28℃、LB 固体培养基培养温度 30℃)至菌株生长明显。

1.2.2 产油菌的筛选

采用苏丹黑 B 染色法进行产油菌的筛选。称取 0.25 g 苏丹黑 B 溶于 50.0 mL 75% 乙醇制备苏丹黑 B 染色 A 液,将 5.0 mL 2.5 g/mL 番红酒精液溶于 50.0 mL 去离子水制备苏丹黑 B 染色 B 液。挑取 1.2.1 中生长明显的单菌落,固定于载玻片上,使用 A 液染色后自然风干,用二甲苯冲洗至冲洗液无色,再用 B 液复染,用蒸馏水冲洗至无色后于光学显微镜下观察,菌体细胞内出现蓝黑色区域,表明该菌株能够产生油脂^[14]。

1.2.3 具备纤维素降解能力产油菌的筛选

1.2.3.1 初筛

将 1.2.2 获得的产油菌株平板划线于刚果红筛选培养基上,分别于 28℃(PDA 固体培养基筛选所得菌株)和 30℃(LB 固体培养基筛选所得菌株)培养 5 d,每隔 1 d 进行观察,以培养基透明圈有无判断菌株是否具备纤维素降解能力,并通过培养基透明圈直径与菌落直径比值(Dc 值)大小对菌株纤维素降解能力进行初步判断。

1.2.3.2 复筛

将初筛所获有透明圈的菌株在 30℃ 下于沙氏改良液体培养基培养 2 d 后,取 5 mL 培养液接种于 40 mL 滤纸条崩解培养基中,于 30℃、150 r/min 下振荡培养 7 d,期间不断摇匀以保证液体培养基瓶壁无附着物,培养结束时记录滤纸条崩解程度以获得降解纤维素能力强的菌株,实验设置 3 个重复。

1.2.3.3 产纤维素酶活力的测定

参照 NY/T 1847—2010《微生物肥料生产菌株质量评价通用技术要求》附录 B 对菌株产纤维素酶活力进行测定。实验所用葡萄糖标准曲线回归方程为 $y = 0.3173x - 0.0104$ ($R^2 = 0.9986$),式中: x 为葡萄糖质量浓度; y 为吸光度。

1.2.4 纤维素降解菌发酵产油

选取 1.2.3 筛选的优势菌株添加于沙氏改良液体培养基中,于 30℃、150 r/min 下培养 2 d(经检测,微生物量约为 2.75 g/L)后于 4℃ 储存备用。按一定接种量接种菌液于 40.0 mL 基础纤维素产脂培养基中,控制培养基中酵母粉含量,调节 pH,在发酵温度 30℃ 下发酵 5 d,于 4 000 r/min 下离心 30 min,弃上清液,并将沉淀的菌体与滤纸冷冻干燥至恒重,得干菌体。

1.2.5 脂肪酸含量测定

取 1.2.4 中的干菌体,加入 100.0 μL 200 μg/mL 十一烷酸(内标)和 10.0 mL 2% 的硫酸-甲醇溶液以确保将冻干后的沉淀物完全浸润,然后于 85℃ 下水浴 2.0 h,再加入 1.0 mL 0.9% NaCl 和 4.0 mL 正己烷,振荡混匀,离心,取上清液,向下层中加入 4.0 mL 正己烷,振荡混匀,离心,取上清液,合并 2 次上清液,于 37℃、-0.08 MPa 真空干燥箱中挥发正己烷,随后加入 100.0 μL 正己烷复溶,待气相色谱(GC)检测。

GC 条件:Elite-225 色谱柱(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm);载气为高纯氮气,流速 1.5 mL/min;进样口温度 250℃;进样量 1.0 μL;分流比 30:1;氢火焰离子化检测器(FID),温度 250℃;空气流速

450.0 mL/min; 氢气流速 45.0 mL/min; 柱温箱升温程序为 100 °C 保持 3 min, 随后以 10 °C/min 升到 180 °C, 保持 9 min, 最后以 5 °C/min 升到 220 °C, 保持 8 min。

通过脂肪酸标准品出峰时间进行定性, 以峰面积归一化法进行单一脂肪酸定量。按式(1)计算总油脂质量(m), 按式(2)计算产油量(X)。

$$m = F \times A \times m_i / A_i \quad (1)$$

$$X = m / V \quad (2)$$

式中: F 为响应因子; A 为除内标外脂肪酸峰面积之和; m_i 为内标质量, mg; A_i 为内标峰面积; V 为发酵液体积, L。

1.2.6 菌株鉴定

使用通用引物 16S - 27F 和 16S - 1492R 对菌株进行序列扩增。菌株基因序列的提取、扩增、质控和测序由上海派诺森生物公司完成。将测序结果在 NCBI 中比对, 作为菌株鉴定的依据。

1.2.7 数据分析

以 SAS9.2 进行数据差异分析, 采用 Duncan 法进行显著性分析。使用 Origin2024 绘图。

2 结果与讨论

2.1 印度血桐种仁内生油菌的筛选

按 1.2.1 方法分别采用 PDA 和 LB 固体培养基对印度血桐种仁内生菌进行筛选, 从 PDA 和 LB 固体培养基上共筛选出 1 000 株单菌株, 其中 PDA 固体培养基上选取 653 株, LB 固体培养基上选取 347 株。按 1.2.2 方法筛选其中的产油菌, 得到具备产油能力的单菌株共计 162 株, 对应编号 Mi001 ~ Mi162。

2.2 纤维素降解菌的筛选

2.2.1 初筛

从 162 株产油菌中筛选出 6 株具有透明圈的菌株, 计算透明圈 Dc 值, 结果见表 1。

表 1 6 株纤维素降解菌的透明圈 Dc 值

Table 1 Dc value of the transparent circle of 6 cellulose - degrading strains

菌株编号	透明圈直径/cm	菌落直径/cm	Dc 值
Mi007	3.0 ± 1.0	1.0 ± 0.1	3.16
Mi055	3.2 ± 2.0	1.2 ± 0.1	2.74
Mi064	4.0 ± 0.1	0.8 ± 0.1	4.70
Mi098	2.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	3.00
Mi127	3.0 ± 0.1	1.0 ± 0.1	3.08
Mi143	2.2 ± 0.2	1.0 ± 0.1	2.30

由表 1 可知, 6 株菌株中 Mi064 号菌株的 Dc 值最大, 其次是 Mi007、Mi127、Mi098 号菌株, 且三者的 Dc 值差异不大。

2.2.2 纤维素降解菌的复筛

6 株纤维素降解菌的滤纸崩解程度和产纤维素酶活力如表 2 所示。

表 2 6 株纤维素降解菌的滤纸崩解程度和产纤维素酶活力

Table 2 Filter paper disintegration and produced cellulase activity of 6 cellulose - degrading strains

菌株编号	滤纸崩解程度	产纤维素酶活力/(U/mL)
Mi007	+++++	12.33
Mi055	++++	10.95
Mi064	-	6.26
Mi098	+++	5.34
Mi127	+++	4.04
Mi143	++	2.17

注: - 表示未崩解; + 表示崩解至大片段; ++ 表示崩解至小片段; +++ 表示崩解至圆形片段; ++++ 表示崩解至糊状与圆形段并存; +++++ 表示崩解至糊状

Note: - indicates no disintegration; + indicates disintegration to large fragments; ++ indicates disintegration to small fragments; +++ indicates disintegration to circular fragments; ++++ indicates disintegration to paste and circular fragments; +++++ indicates disintegration to paste

由表 2 可知, Mi007 号菌株的滤纸崩解程度最大, 在 7 d 内可将滤纸崩解为糊状, 而 Mi064 号菌株的滤纸崩解程度最小, 在 7 d 内几乎不能崩解滤纸条。这可能是菌株分泌的纤维素酶种类(如酸性纤维素酶、中性纤维素酶、碱性纤维素酶)不同导致的。由表 2 还可知, Mi007 号菌株的产纤维素酶活力为 12.33 U/mL, 高于其余 5 株纤维素降解菌, 这与透明圈实验结果基本一致, 进一步表明 Mi007 号菌株具有较强的纤维素降解能力。Mi064 号菌株的产纤维素酶活力较高, 但其几乎不能崩解滤纸, 程鹏等^[15]在筛选高产纤维素酶菌株的研究中也发现类似结果, 这可能与菌株产纤维素酶环境有关。因此, 选择 Mi007 号菌株作为进一步研究的对象。

2.3 纤维素降解菌产油发酵工艺条件优化

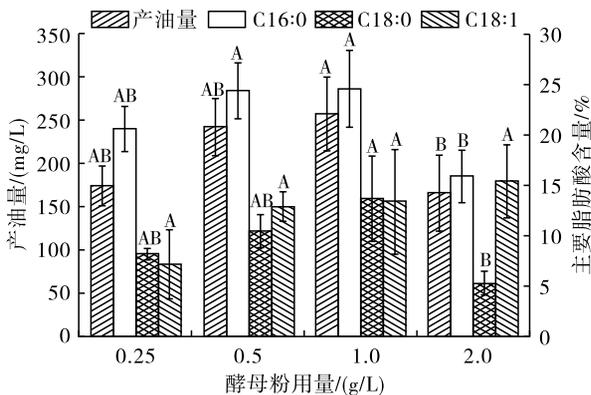
2.3.1 酵母粉用量

在接种量为 5.0 mL, pH 为 7 的条件下, 考察酵母粉用量对菌株的产油量和主要脂肪酸含量的影响, 结果如图 1 所示。

由图 1 可知, 不同酵母粉用量下菌株的产油量存在差异。随着酵母粉用量的增加, 菌株的产油量增加, 在酵母粉用量为 1.0 g/L 时菌株的产油量达到最高(257.27 mg/L), 继续增加酵母粉用量, 产油量下降, 当酵母粉用量为 2.0 g/L 时, 产油量最低(165.35 mg/L)。在一定范围内, 当氮源充足时, 微生物更倾向于进行繁殖, 即低碳氮比有助于微生物的繁殖; 当碳源充足时, 微生物更倾向于生成代谢产

物,即高碳氮比有助于微生物进行次级代谢^[16]。当酵母粉用量为从0.25 g/L增加到1.0 g/L时,碳氮比降低,菌株倾向于繁殖,造成含油量降低,但微生物繁殖增加程度更大,最终导致产油量增加;而当酵母粉用量大于1.0 g/L时碳氮比进一步降低,菌株更倾向于繁殖而非代谢,导致产油量降低。

由图1还可知,随着酵母粉用量的增加,棕榈酸(C16:0)和硬脂酸(C18:0)的含量呈先增加后减少的趋势,二者均在酵母粉用量为2.0 g/L时达到最低,在酵母粉用量为1.0 g/L时最高。随着酵母粉用量的增加,油酸(C18:1)含量增加,但差异不显著。



注:同一指标不同字母表示具有显著差异($p < 0.05$)。下同

Note: Different letters for the same indicator indicate significant differences ($p < 0.05$). The same below

图1 酵母粉用量对菌株的产油量和主要脂肪酸含量的影响

Fig.1 Effects of yeast powder dosage on oil yield and main fatty acid content of strains

2.3.2 pH

在酵母粉用量为1.0 g/L,接种量为5.0 mL的条件下,考察pH对菌株的产油量和主要脂肪酸含量的影响,结果如图2所示。

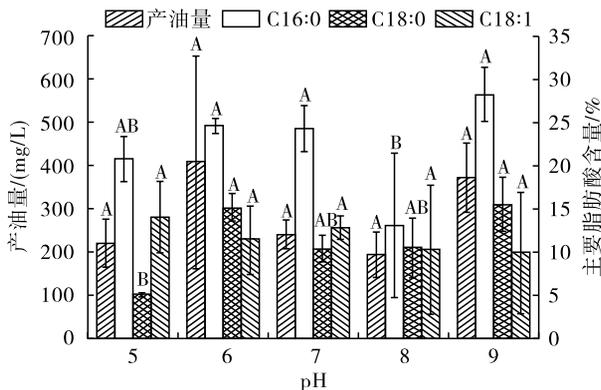


图2 pH对菌株的产油量和主要脂肪酸含量的影响

Fig.2 Effects of pH on oil yield and main fatty acid content of strains

pH影响着酶的活性和微生物的形态等,从而影

响微生物发酵。由图2可知,不同pH下菌株的产油量从大到小依次为pH 6(409.31 mg/L) > pH 9(373.73 mg/L) > pH 7(242.12 mg/L) > pH 5(221.72 mg/L) > pH 8(195.65 mg/L),且各处理组间无显著差异($p > 0.05$)。通常,在菌株适宜的生存条件下,较高的pH有助于菌株进行代谢,而较低的pH则不利于菌株生成次级代谢产物^[17]。而本研究中pH 6时的产油量大于pH 7~9时的,这或许是因为pH 6时更适合该菌株的生长代谢。

由图2还可知,当pH为9时,C16:0和C18:0含量均达到最大,分别为28.26%和15.53%,优于酸性环境。C18:1含量在pH 5~9范围内变化相对较小。

2.3.3 接种量

在酵母粉用量为1.0 g/L,pH为7的条件下,考察接种量对菌株的产油量和主要脂肪酸含量的影响,结果如图3所示。

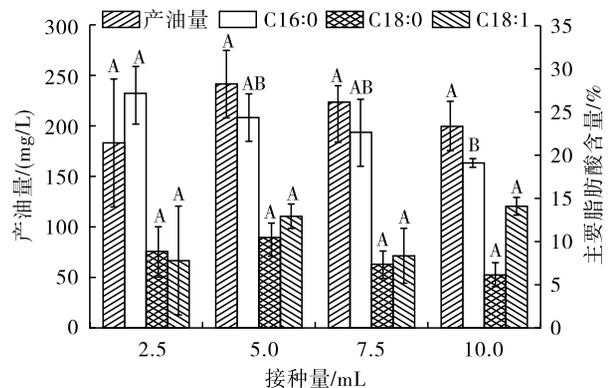


图3 接种量对菌株的产油量和主要脂肪酸含量的影响

Fig.3 Effects of inoculation amount on oil yield and main fatty acid content of strains

由图3可知,不同接种量下菌株的产油量从大到小依次为接种量5.0 mL(242.12 mg/L) > 接种量7.5 mL(223.57 mg/L) > 接种量10.0 mL(199.97 mg/L) > 接种量2.5 mL(183.14 mg/L),各处理组间无显著差异($p > 0.05$)。一般情况下,较高的接种量可以帮助微生物更快地渡过迟缓期,使其高速增长,这也使微生物生长更快进入衰亡期,促使更多的代谢产物随着细胞破裂进入发酵液中,产油量增大,但过高的接种量可能造成营养物质的过度消耗、溶氧不足、底物抑制和pH降低等,从而导致产油量降低。从实验结果来看,5.0 mL是最佳的接种量。

由图3还可知,随接种量增加,C16:0含量降低,C18:0含量先升高后降低,C18:1含量呈波动上升趋势。相较于pH和酵母粉用量,接种量对3种脂肪酸含量的影响更小。

综合来看,在酵母粉用量为 1.0 g/L、pH 为 6、接种量为 5.0 mL 条件下,Mi007 号菌株有最大产油量,为 409.31 mg/L,相较于目前应用于工业化生产的菌株其产油量较低。油脂作为一种代谢产物,其大量累积的条件之一是有充足的碳源被转化为乙酰辅酶 A,从而进入脂质循环,纤维素其本身作为一种高分子多糖,不易被进一步分解,因而限制了乙酰辅酶 A 的生成,进而导致了 Mi007 号菌株直接利用纤维素产油量不高^[18]。另外,本文从筛选的印度血桐种仁内生菌发酵产油脂中未检出神经酸,可能是由于技术等因素限制,所筛选菌株不能直接利用葡萄糖发酵产生神经酸。

2.4 菌种鉴定

经测序和比对,鉴定 Mi007 号菌株为巨大普利斯特氏菌(*Priestia megaterium*),序列相似度为 99.93%。

3 结 论

从印度血桐种仁中分离出 6 株具有纤维素降解能力的产油菌,其中 Mi007 号菌株的纤维素降解能力最强。酵母粉用量、pH 以及接种量均对 Mi007 号菌株的产油量和主要脂肪酸含量具有一定影响,在酵母粉用量为 1.0 g/L、pH 为 6、接种量为 5.0 mL (40.0 mL 培养基)条件下,Mi007 号菌株产油量最大,为 409.31 mg/L。经测序鉴定,Mi007 号菌株为巨大普利斯特氏菌(*Priestia megaterium*),序列相似度为 99.93%。昂贵的碳源成本是限制微生物发酵大规模应用的主要因素,本实验筛选出的菌株 Mi007 号有望克服碳源成本的问题,作为构建微生物工厂的备选菌株,亦可作为工业发酵的待选菌株以进行下一步优化。

针对 Mi007 号菌株产油量不高的问题,未来可以采用分子生物学手段提升纤维素降解基因的表达或者对发酵后的菌株进行二次接种以增强其纤维素降解能力,从而在短期内实现对纤维素的大量利用,进而提高产油量。

参考文献:

- [1] THORPER F, RATLEDGE C. Fatty acid distribution in triglycerides of yeasts grown on glucose or *n*-alkanes[J]. J Gen Microbiol, 1972, 72(1): 151-163.
- [2] 王洁, 江黎明, 崔丽娇, 等. 我国南海涠洲岛潮间带产油真菌的脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂, 2018, 43(8): 115-118, 126.
- [3] 戴文娜, 童旭, 张琴, 等. 一株荒漠产油微藻的筛选及其生长和产油的 pH 响应[J]. 中国油脂, 2020, 45(5): 82-87.
- [4] BAN J J, FEN J, XIE S L. Isolation and screening of microalgae with high lipid contents in Shanxi province[J]. Plant Sci, 2020, 31(4): 415-421.
- [5] 杨郁. 产功能性油脂香榧内生真菌的筛选及其脂肪酸合成关键酶的克隆表达研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2015.
- [6] BOCK R. The give-and-take of DNA: Horizontal gene transfer in plants[J]. Trends Plant Sci, 2009, 15(1): 11-22.
- [7] 王一凡. 蒜头果内生真菌发酵产神经酸油脂的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2019.
- [8] RATLEDGE C, WYNN J P. The biochemistry and molecular biology of lipid accumulation in oleaginous microorganisms[J]. Adv Appl Microbiol, 2002, 51: 1-51.
- [9] 包文君, 李子富, 王雪梅, 等. 产油酵母利用廉价原料合成油脂的研究进展[J]. 化工进展, 2021, 40(5): 2484-2495.
- [10] SHIELDS-MENARD S A, AMIRSADEGHI M, FRENCH W T, et al. A review on microbial lipids as a potential biofuel[J]. Bioresour Technol, 2018, 259: 451-460.
- [11] JÖNSSON L J, MARTÍN C. Pretreatment of lignocellulose: Formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects[J]. Bioresour Technol, 2016, 199: 103-112.
- [12] 冯妍, 裴宇航, 周晓飞, 等. 纤维素降解菌的筛选与高效混合菌群的构建[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2012, 40(4): 155-160.
- [13] 李江莹, 陆添权, 杨俊波, 等. 印度血桐与中平树基因组调查及 SSR 分子标记分析[J]. 广西植物, 2021, 41(11): 1897-1904.
- [14] SPIEKERMANN P, REHM B H A, KALSCHEUER R, et al. A sensitive, viable-colony staining method using Nile red for direct screening of bacteria that accumulate polyhydroxyalkanoic acids and other lipid storage compounds[J]. Arch Microbiol, 1999, 171(2): 73-80.
- [15] 程鹏, 刘姗姗, 王玉, 等. 1 株高产纤维素酶菌株的筛选鉴定及对稻秆降解的研究[J]. 华南农业大学学报, 2019, 40(1): 84-91.
- [16] CHO H U, PARK J M. Biodiesel production by various oleaginous microorganisms from organic wastes[J]. Bioresour Technol, 2018, 256: 502-508.
- [17] 王金玲, 刘晓平, 赵凤艳, 等. 解磷巨大芽孢杆菌液体发酵培养条件的优化[J]. 中国农学通报, 2013(15): 68-72.
- [18] HUANGY J, WANG L, ZHENG M G, et al. Overexpression of *NgAUREO1*, the gene coding for aureochrome 1 from *Nannochloropsis gaditana*, into *Saccharomyces cerevisiae* leads to a 1.6-fold increase in lipid accumulation[J]. Biotechnol Lett, 2014, 36(3): 575-579.