

木霉菌降解果渣的研究进展

王恒震, 李化强*, 吴菲菲, 陈琼, 张早明, 刘庆

(邵阳学院食品与化学工程学院, 邵阳 422000)

摘 要: 木霉菌隶属丝孢科, 广泛存在于不同环境的土壤中, 具有抗性强、安全性高、酶系广等特点, 利用木霉菌降解果渣优势在于木霉菌产纤维素酶、半纤维素酶的同时还可以产漆酶、果胶酶等; 果渣的主要成分除纤维素外还有果胶等成分, 木霉菌作为果渣降解菌优势巨大; 由于我国是水果大国, 果渣成为污染环境的重要因素之一, 近年对于木霉菌降解果渣的研究逐渐深入, 引起广大学者的重视。本文主要综述了木霉菌降解果渣的应用现状, 论述了不同木霉菌利用果渣产酶、堆肥及其作用机理、不同木霉菌的酶学机理、产酶情况以及作用机制, 总结了降解果渣的木霉菌种类及其在产酶、做饲料、产膳食纤维等方面的应用, 以期今后木霉菌降解果渣的工业应用提供依据。

关键词: 木霉菌; 果渣; 降解; 发酵

Research progress on degradation of fruit residue by *Trichoderma*

WANG Heng-Zhen, LI Hua-Qiang*, WU Fei-Fei, CHEN Qiong, ZHANG Zao-Ming, LIU Qing

(Department of Food and Chemical Engineering, Shaoyang University, Shaoyang 422000, China)

ABSTRACT: *Trichoderma* belongs to the *Hyphomycete* family, and widely exists in the soil of different environments, and has the characteristics of strong resistance, high safety and wide enzyme system. The advantage of using *Trichoderma* to degrade fruit residue is that *Trichoderma* can produce cellulase, hemicellulase, laccase, pectinase and so on. The main components of fruit residue are cellulose and pectin, and *Trichoderma* has a huge advantage as a fruit residue degrading bacteria. As China is a big country of fruit, fruit residue has become one of the important factors of environmental pollution. In recent years, the researches on the degradation of fruit residue by *Trichoderma* have gradually deepened, which has attracted the attention of many scholars. This paper mainly reviewed research progress on degradation of fruit residue by *Trichoderma*, and discussed the enzyme production, composting and mechanism of different pectin utilization, the enzymatic mechanism of different enzyme production and mechanism of *Trichoderma* action, summarized the species of *Trichoderma* degrading pomace and its application in enzyme production, feed and dietary fiber production, in order to provide a basis for industrial application of wood mold degradation pomace in the future.

KEY WORDS: *Trichoderma*; fruit residue; degradation; fermentation

基金项目: 湖南省教育厅科学研究一般项目(17C1433)和优秀青年项目 (17B241), 湖南省自然科学基金青年项目(2017JJ3284), 湖南省科技厅“三区”科技人才项目(S2017NCTPSQ0044), 邵阳学院研究生科研创新项目(CX2018SY041, CX2019SY037)

Fund: Supported by General Project (17C1433) and Outstanding Youth Project (17B241) of Hunan Provincial Education Department, Natural Science Foundation of Hunan Provincial (2017JJ3284), “Three Districts” Science and Technology Talents Project of Hunan Science and Technology Department (S2017NCTPSQ0044), The Postgraduate Research and Innovation Project of Shaoyang University (CX2018SY041, CX2019SY037)

***通讯作者:** 李化强, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品科学技术与安全。E-mail: biohqff@163.com

***Corresponding author:** LI Hu-Qiang, Ph.D, Associate professor, Department of Food and Chemistry Engineering, Shaoyang University, Shaoyang 422000, China. E-mail: biohqff@163.com

1 引言

近年来我国水果总产量达 18000 万吨, 水果在鲜食及加工过程中皮渣占果实的 30%左右, 高达 5400 万吨^[1]。果渣中富含黄酮、矿物质、糖类、氨基酸、维生素等多种活性成分, 具有很高的经济价值。传统的果渣处理方式是作饲料^[2]、堆肥、填埋等, 存在利用率低, 污染环境, 成本高等问题, 不仅污染环境并且造成了严重的资源浪费。因此, 对果渣进行合理利用不仅能减少资源浪费, 提高利用率, 改善生态环境, 同时对提高经济价值具有重要意义。木霉属(*Trichoderma* Pers.)真菌在生物降解方面具有很大的应用潜力^[3], 这主要得益于木霉菌具有很强的产纤维素酶能力, 相对于放线菌、细菌和大多数真菌而言, 木霉菌具有产酶多、酶活高、纤维素酶系全、易分离纯化等优点; 其次木霉菌在产纤维素酶的同时还会产果胶酶、漆酶、淀粉酶等, 使其对果渣的降解能力以及对化学试剂的抗性都有所提高^[4]。而果渣中大部分是纤维素和半纤维素, 少部分为木质素和果胶; 木霉菌所产的酶正可以分解这些成分, 因此被广泛应用于发酵工程和生物降解等相关领域^[5,6], 也使得木霉菌的生物降解能力成为新的研究关注点。木霉菌可以提高果渣利用率, 改善环境状况, 减轻果渣堆积压力, 很多学者也印证了它的降解效果^[7]。本文介绍了不同木霉菌降解果渣的应用以及产酶降解机理, 以期为今后木霉菌应用到工业生产提供参考。

2 木霉菌的分类及产酶特性

木霉菌属于半知菌亚门、丝孢纲、丝孢目, 粘孢菌类, 木霉菌属应用前景广泛, 已有 50 多种应用到商业化中, 其中绿色木霉和哈茨木霉应用广泛^[8], 此外木霉菌还包括桔绿木霉、康氏木霉、里氏木霉、长臂木霉等, 近年来, 对木霉菌降解果渣的研究越来越多, 主要原因在于其产酶特性, 通过表 1 可以看出木霉菌酶谱广泛, 主要有纤维素酶、葡聚糖酶、葡萄糖苷酶、木聚糖酶、漆酶、几丁质酶等, 在木霉的众多菌种中, 对哈茨木霉、绿色木霉、里氏木霉产酶的研究较多, 其中里氏木霉的酶谱最为广泛, 绿色木霉次之。纤维素酶作为木霉的主产酶, 与自身所产的其他酶相互协同可以很好的降解果渣中的果胶、木质素等难以降解的物质。从表 1 可以看出为了使木霉菌产酶高效, 近年来国内外学者开始从基因工程、筛选育种、开发新型发酵方式等方面入手, 来获得高产酶的木霉菌, 并且木霉菌具有产酶安全稳定、酶活高, 产酶广等特点, 成为近年来的研究热点。

3 木霉菌降解机制及基因工程育种

3.1 绿色木霉降解果渣作用机制

绿色木霉在生长过程中会分泌大量的胞外酶, 不仅含有

纤维素酶还会分泌果胶酶、几丁质酶、葡聚糖酶等可以起到降解果渣成分的酶, 目前纤维素酶最被认可的降解机制是协同作用理论, Giligan 等^[26]首次证明了在纤维素的水解过程中纤维素酶组分起到了协同作用; Bhat 等^[27]也提出协同作用理论, 目前主要有 4 种协同作用: (1) 相邻纤维素链间分子间氢键的松弛; (2) β -葡萄糖苷酶与内切或者外切葡聚糖纤维素酶的协同作用; (3) 底物与外切葡聚糖纤维素酶之间的协同作用; (4) 内切和外切葡聚糖纤维素酶之间的协同作用。

表 1 近几年国内外木霉菌产酶研究进展
Table 1 Advances in research on enzyme production of *Trichoderma* at home and abroad in recent years

菌种	酶	酶活	研究方向	文献
哈茨木霉	纤维素酶	107 U/g	新型发酵技术	[9]
里氏木霉	纤维素酶	1.5 U/mL	新型发酵技术	[10]
里氏木霉	纤维素酶	170 U/mL	联合发酵	[11]
里氏木霉	纤维素酶	0.42 g/L	新型生产工艺	[12]
绿色木霉	纤维素酶	2.91 U/mL	工艺优化	[13]
东方木霉	纤维素酶	20 U/mL	基因层面	[14]
长臂木霉	纤维素酶	808.95 U/mL	纯化	[15]
康宁木霉	木聚糖酶	95.7 U/mL	基因层面	[16]
里氏木霉	木聚糖酶	71.9 U/mL	基因层面	[17]
绿色木霉	木聚糖酶	325 U/mL	工艺优化	[18]
绿色木霉	果胶酶	1.1 U/mL	工艺优化	[19]
长臂木霉	果胶酶		基因层面	[20]
绿色木霉	β -葡聚糖酶	890 U/mL	工艺优化	[21]
哈茨木霉	漆酶		酶特性	[22]
里氏木霉	漆酶	1700 U/mL	基因层面	[23]
绿色木霉	漆酶	0.951 U/mL	筛选	[24]
哈茨木霉 H-13	几丁质酶	256 U/mL	工艺优化	[25]

Kono 等^[28]报道, 绿色木霉产的 β -葡萄糖苷酶在转糖基化过程中对糖的羟基具有区域选择性和立体选择性。因此, 该酶可用于区域和立体选择性合成低聚糖。Kwon 等^[29]也发现绿色木霉内切葡聚糖酶 I(endoglucanase, EGI)仅在催化残基周围的空间, 并不直接影响 EGI 的转糖基化反应, 但活性位点内的几个氨基酸残基参与 EGI 的转糖基化反应, 它不但具有水解酶活性, 还具有转糖苷作用。近年来有关绿色木霉降解功能的研究较多, 且多集中在残渣的降解和再利用, 如生产蛋白、膳食纤维、产酶等, 这为绿色木霉应用到实际工业生产提供理论基础。

3.2 里氏木霉降解果渣作用机制

里氏木霉分泌的纤维素酶是胞外酶, 其酶系完整、含

量高、稳定性强、安全无毒, 主要分为 3 大类: 内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶和 β -葡萄糖苷酶^[30]。里氏木霉降解纤维素机制普遍认为是“内切-外切”的协同机制, 内切葡聚糖酶主要水解非结晶区的 β -1,4-糖苷键, 将纤维素分子剪短; 随后由外切葡聚糖酶水解纤维素线状分子末端的 β -1,4-糖苷键, 生成纤维二糖分子; β -葡萄糖苷酶则将上两步的产物水解成葡萄糖分子。但 β -葡萄糖苷酶的活性相对较低, 导致纤维二糖无法水解而积累, 从而影响纤维素的降解效果^[31]。提高 β -葡萄糖苷酶活的方法主要包括育种、诱变、基因重组等。里氏木霉分泌的纤维素酶也是通过协同作用降解果渣。有研究表明, 里氏木霉产葡聚糖酶的基因是 *cbh1*、*cbh2*、*cg2* 和 *cg3*^[32-35]; 牛康乐^[36]通过对里氏木霉 β -葡萄糖苷酶 *Cellb* 蛋白进行理性改造, 使槐糖最大产量达到了 25 g/L; 王若文^[37]通过根癌农杆菌介导转化 (*agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation, ATMT) 技术表达内源性基因 *bgl* 和外源性漆酶 *lac* 基因提高了纤维素酶酶活, 汪伟等^[38]利用 PCR 技术克隆糖苷酶, 为以后调控纤维素酶酶活奠定了基础。

3.3 木霉菌基因工程育种现状

随着微生物技术的不断发展, 真菌的基因组测序工作逐渐开展, 目前主要依赖转录组测序技术(RNA-seq)完成木霉菌基因序列测定^[39], 基因序列的测定使得木霉菌在产酶及工业应用发挥越来越重要的作用, 也正是通过基因学使得可以通过基因工程调控基因序列来控制微生物生长、发育以及促进产物产出。Sun 等^[40]借助该技术对真菌进行测序, 确定了其中有关重寄生作用的基因组, 为今后真菌的寄生改造提供基础。白仁惠等^[41]将里氏木霉 *Cel5A* 基因与毕赤酵母重组得到高产纤维素酶且高效的重组菌株, 重组酶活高达 270.9 U/mL。Long 等^[42]通过敲除东方木霉产木聚糖酶基因以此获得高产低聚木聚糖的菌株, 通过改造得到的菌株再生产低聚木糖上提高了 83.27%。在基因育种的过程中目前主要是先利用 RNA-seq 分析基因序列, 而后通过基因重组或基因敲除来达到我们的目的。

目前, 木霉菌降解果渣的作用机理还不透彻, 果渣的成分比较复杂, 并非单一酶就可达到良好的降解效果, 因此我们不仅要深入探究其作用机理, 还要选育出更适合降解果渣的菌种, 进一步探究木霉菌属之间的协同效果。

4 木霉菌降解果渣的应用

4.1 绿色木霉降解果渣的应用

绿色木霉被认为是一种有效的纤维素分解剂, 是产纤维素降解酶(包括内切葡聚糖酶, 纤维二糖水解酶和 β -葡萄糖苷酶)最多的生产者, 已成功用于改善和加速生物质的分解^[43]。绿色木霉在生长过程中除分泌大量的纤维素酶外, 还会分泌几丁质酶、葡聚糖酶以及木聚糖酶等胞外降

解酶, 利用这些酶类作用于废弃果渣, 为自身提供营养物质, 以此来降解果渣, 受到科研工作者的广泛关注^[44]。目前的研究主要集中在利用绿色木霉降解果渣生产膳食纤维的应用上。

绿色木霉降解果渣的应用进展见表 2, 蒋丽等^[45]利用绿色木霉和乳酸菌对柠檬果渣进行处理, 以膳食纤维得率作为指标, 结果表明绿色木霉降解能力较乳酸菌的强; 孙艺^[46]研究表明经绿色木霉发酵苹果果渣后膳食纤维的得率达 58%, 使其果渣利用率提高; 张瑜等^[47]比较化学法、酶法和发酵法处理刺梨果渣生产膳食纤维, 其结果表明利用绿色木霉发酵效果最佳, 其膳食纤维得率达 12.75%。通过前人的研究可以发现利用绿色木霉发酵降解果渣, 其效果比其他微生物发酵法、化学法、酶法的效果要好, 并且膳食纤维的品质都有所提高, 这为绿色木霉在工业生产中的应用提供了理论基础。

绿色木霉也被广泛应用于其他领域, 闫晓哲等^[48]利用绿色木霉发酵苹果果渣生产生物菌肥, 制备的菌剂孢子数可达 7.08×10^9 个/g; Arun 等^[49]利用绿色木霉生产生物有机肥, 其结果表明堆肥和富集能大大提高蔬菜的长度和鲜干度。

表 2 绿色木霉降解果渣应用进展
Table 2 Application progress of degradation fruit residue by *Trichoderma viride*

膳食纤维得率 /%	膳食纤维品质		原料	文献
	溶胀率 /(mL/g)	持水力 /(g/g)		
88	13.21	9.15	柠檬果渣	[45]
58	13.93	9.92	苹果果渣	[46]
12	13.22	15.19	刺梨果渣	[47]

4.2 里氏木霉降解果渣的应用

里氏木霉(*Trichoderma reesei*)作为工业菌株, 广泛应用于食品、饲料和医药等领域^[48]。里氏木霉具有一套完整的降解纤维素的酶系, Reese 等^[50]发现里氏木霉分泌的纤维素酶为胞外酶且效果较好, 具有商业化应用价值, 得到了广泛学者的研究^[51]。目前里氏木霉对果渣的研究主要集中在生产饲料蛋白上。

里氏木霉降解果渣的应用进展见表 3, 王晓力等^[52]利用里氏木霉、黑曲霉、产朊假丝酵母混菌发酵苹果果渣, 得到伴有苹果香的蛋白含量达 37.49%, 并通过尼龙袋瘘管羊瘤胃消化实验得到饲料蛋白的消化率达 79.78%; 罗文等^[53]在王晓力的基础上加入豆渣, 发现蛋白含量仅提高了 24.95%, 说明豆渣的发酵效果不好; 赵蕾等^[54]利用 10 种酵母和霉菌对夏橙皮渣进行发酵, 以蛋白含量作为指标衡量对夏橙皮渣的降解的菌株, 结果表明里氏木霉蛋白产量达 9.77%, 增加了 46.40%, 相对于酵母以及其他霉菌产量

都高,说明里氏木霉降解夏橙皮渣的效果好;通过上述的研究可以看出里氏木霉作为降解果渣的菌种具有很大的潜力,并且对多种果渣适用。

里氏木霉在产酶方面也有应用。李煦媛等^[55]利用里氏木霉发酵甘蔗渣和麸皮,发酵后纤维素酶酶活提高了 3.76 倍;Wahid 等^[56]在产酶的基础上建立了产酶模型,内切葡聚糖酶酶活达 1.946 U/g(干重),这为工业应用提供了理论基础。从产酶到应用发酵,里氏木霉都体现出了它独有的价值,在工业应用中通常是通过里氏木霉与其他菌种的复配来降解果渣。

表 3 里氏木霉降解果渣应用进展
Table 3 Application progress of degradation fruit residue by *Trichoderma reesei*

蛋白得率	原料	文献
蛋白质含量达 37.49, 提高了 34.52%	苹果果渣	[52]
蛋白质含量达 19.83%, 提高了 24.95	苹果果渣	[53]
蛋白质含量达 9.77%, 提高了 46.40%	夏橙皮渣	[54]
纤维素酶的酶活达 76.39 IU/g	甘蔗废渣	[55]
所产内切葡聚糖酶活性 提高了 2.6 倍	油棕果渣	[56]

4.3 康宁木霉降解果渣的应用

康宁木霉属于丝状真菌木霉属,康宁木霉产纤维素酶的报道也很多,并研究到分子层面,得到较好结果^[57]。

康宁木霉降解果渣的应用进展见表 4。康宁木霉降解果渣主要集中在饲料蛋白的应用上,并且康宁木霉多与白地霉、假丝酵母混菌发酵,张瑜等^[58]利用白地霉、康宁木霉、酵母发酵刺梨果渣生产饲料蛋白,得出饲料蛋白质含量达 19.06%;周炼等^[59]对甜橙皮渣发酵,通过单菌发酵发现康宁木霉降解果渣效果好,进而以康宁木霉为出发菌种进行混菌优化,得到饲料蛋白得率提高 80%左右;张海涛等^[60]也发现康宁木霉产饲料蛋白高于假丝酵母和酵母菌,通过混菌优化实验得到饲料蛋白质含量达 8.06 g,约 19%。康宁木霉混菌发酵饲料蛋白研究多,说明混菌发酵是一种趋势,这为绿色木霉、里氏木霉等其他木霉的研究提供思路。

4.4 其他木霉降解果渣的应用

木霉属种类繁多,其中康氏木霉、桔绿木霉、短密木霉等也可以应用于果渣的降解。叶锦等^[61]对康氏木霉发酵液经分离纯化获得了一种新的内切酶组分——内切 β -葡聚糖苷酶,测得比酶活、米氏常数(K_m)分别为 19.65 U/mg、7.22 mg/mL,而内切 β -葡聚糖苷酶正是可以将可溶性纤维

素水解成还原性的寡糖,因此在降解纤维的过程中起重要作用;Chandra 等^[62,63]对桔绿木霉进行分子层面研究,通过突变以及优化得到纤维素酶、内切葡聚糖酶和 β -葡萄糖苷酶酶活较高可用于纤维素糖化,糖化率达 46%。

表 4 康宁木霉降解果渣应用进展
Table 4 Application progress of degradation fruit residue by *Trichoderma koningii*

蛋白得率	原料	文献
饲料蛋白含量达 19.06%, 提高了 175.8%	刺梨果渣	[58]
饲料蛋白提高 80%	甜橙皮渣	[59]
蛋白含量达 19%左右	柚子皮渣	[60]

我国环境问题已到了刻不容缓的地步,果渣、果皮等废渣已成为严重的污染源^[64],因此探求果渣的合理高效利用十分必要。里氏木霉、绿色木霉、康宁木霉和里氏木霉等菌种对果渣的降解作用较为明显;而利用木霉菌降解果渣所产生的酶、蛋白质、膳食纤维等产物具有较高的经济价值,酶在食品生产过程中十分重要,起作用不仅是高效专一、改善产品的品质,而且对环境友好易于处理;对于大多数的蛋白质可以用于饲料的生产,提高饲料蛋白的含量,并且易于消化吸收;对于一些果渣可降解产生膳食纤维,在当今追求健康的生活下,生产膳食纤维食品可以改善饮食结构,降低高血糖、肥胖等疾病。通过上面的综述发现木霉降解果渣在生产饲料蛋白、产糖、产酶和制备膳食纤维等领域都有广泛的应用;并且有研究表明混菌发酵降解果渣的效果良好,为今后混菌发酵的工业应用奠定了基础。

5 展 望

近年来,人们越来越重视果渣的二次利用,如何提高微生物产酶率及其发酵产物利用率已成为工业生产的重要目标。木霉菌是一种安全性高、抗逆性强、产酶广的菌属,其应用范围广泛,主要应用于生物防治,其中以以色列 Makhteshim Agan 公司生产的菌剂所占份额较大,而对于它的降解效果虽有研究,但不够深入,只是进行了实验室的初探,还未应用于工业生产,还需进一步探究。综上,还需做以下方面的深入研究:①加强理论研究;深入研究木霉菌降解果渣的作用机制及产酶机制;②筛选出高效降解果渣的木霉菌,最大限度的提高降解功能;③利用基因工程等生物技术,改造出高产酶且降解效果好的木霉菌;④进行菌种复配组合研究,加强木霉菌的生物降解作用;⑤模拟工业化条件,与实际应用相匹配,使实验结果适应工业化,逐步实现商品化。

参考文献

[1] 张强强, 闫贝贝, 施凡基, 等. 1978~2016 年中国水果增产格局及贡献因素研究[J]. 干旱区资源与环境, 2019, 33(10): 65-71.

- Zhang QQ, Yan BB, Shi FJ, *et al.* Spatiotemporal pattern of fruit output increase in China from 1978 to 2016 and the contribution factors [J]. *Resour Environ Arid Area*, 2019, 33(10): 65–71.
- [2] 高玉云, 黄迎春, 袁智勇, 等. 果渣类饲料的开发与利用[J]. *广东饲料*, 2008, (10): 35–37.
- Gao YY, Huang YC, Yuan ZY, *et al.* Development and utilization of fruit residue feed [J]. *Guangdong Feed*, 2008, (10): 35–37.
- [3] Tripathi P, Singh PC, Mishra A, *et al.* *Trichoderma*: a potential bioremediator for environmental clean up [J]. *Clean Technol Environ Polic*, 2013, 15(4): 541–550.
- [4] 林金秀. 纤维素降解菌的筛选及其发酵条件研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2010.
- Lin JX. Study on the screening of cellulose degrading bacteria and their fermentation conditions [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forest University, 2010.
- [5] Mutschlechner M, Illmer P, Wag AO. Biological pre-treatment: Enhancing biogas production using the highly cellulolytic fungus *Trichoderma viride* [J]. *Wast Manag*, 2015, (43): 98–107.
- [6] Wang F, Wu J, Chen S. Preparation of gentiooligosaccharides using *Trichoderma viride* β -glucosidase [J]. *Food Chem*, 2018, (248): 340–345.
- [7] 闫峰, 徐凤花, 顾金刚, 等. 木霉属真菌的生物降解及生物转化作用研究进展[J]. *微生物学杂志*, 2009, 29(3): 77–80.
- Yan F, Xu FH, Gu JG, *et al.* Research progress of biodegradation and biotransformation with *Trichoderma* [J]. *J Microbiol*, 2009, 29 (3): 77–80.
- [8] 朱兆香, 庄文颖. 木霉属研究概况[J]. *菌物学报*, 2014, 33(6): 1136–1153.
- Zhu ZX, Zhuang WY. Current understanding of the genus *Trichoderma* (*Hypocreales*, *Ascomycota*) [J]. *Mycosystema*, 2014, 33(6): 1136–1153.
- [9] Lopez-Ramirez N, Volke-Sepulveda T, Gaime-Perraud I, *et al.* Effect of stirring on growth and cellulolytic enzymes production by *Trichoderma harzianum*, in a novel bench-scale solid-state fermentation bioreactor [J]. *Bioresour Technol*, 2018, (265): 291–298.
- [10] Maibam PD, Maiti SK. A strategy for simultaneous xylose utilization and enhancement of cellulase enzyme production by *trichoderma reesei* cultivated on liquid hydrolysate followed by induction with feeding of solid sugarcane bagasse [J]. *Wast Biomass Valor*, 2019, (10): 1–10.
- [11] Casa-Villegas M, Marín-Navarro C, Julia A, *et al.* Synergies in coupled hydrolysis and fermentation of cellulose using a *Trichoderma reesei* enzyme preparation and a recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strain [J]. *World J Microb Biotechnol*, 2017, 33(7): 140.
- [12] Ellilä S, Fonseca L, Uchima C, *et al.* Development of a low-cost cellulase production process using *Trichoderma reesei* for Brazilian biorefineries [J]. *Biotechnol Biofuels*, 2017, 10(1): 30.
- [13] Baz AFE, Shetaia YMH, Eldin HAS, *et al.* Optimization of cellulase production by *trichoderma viride* using response surface methodology [J]. *Curr Biotechnol*, 2018, 7(1): 19–25.
- [14] Long C, Cheng Y, Cui J, *et al.* Enhancing cellulase and hemicellulase production in *trichoderma orientalis* EU7-22 via knockout of the creA [J]. *Mol Biotechnol*, 2017, 60(269): 1–7.
- [15] Pachauri P, Aranganathan V, More S, *et al.* Purification and characterization of cellulase from a novel isolate of *Trichoderma longibrachiatum* [J]. *Biofuels*, 2017, (2): 1–7.
- [16] Hirasawa H, Shioya K, Furukawa T, *et al.* Engineering of the *Trichoderma reesei* xylanase3 promoter for efficient enzyme expression [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2018, (102): 2737–2752.
- [17] Anderson JD. Ethylene biosynthesis-inducing Xylanase: II. purification and physical characterization of the enzyme produced by *trichoderma viride* [J]. *Plant Physiol*, 1991, 95(1): 316–323.
- [18] Irshad M, Anwar Z, Mahmood Z, *et al.* Bio-processing of agro-industrial waste orange peel for induced production of pectinase by *Trichoderma viridi*; its purification and characterization [J]. *Turk J Biochem*, 2014, 39(1): 9–18.
- [19] Sandhu DK, Kalra MK. Production of cellulase, xylanase and pectinase by *Trichoderma longibrachiatum* on different substrates [J]. *Trans British Mycol Soc*, 1982, 79(3): 409–413.
- [20] Saloheimo M, Lehtovaara P, Penttilä M, *et al.* EGIII, a new endoglucanase from *Trichoderma reesei*: The characterization of both gene and enzyme [J]. *Gene*, 1988, 63(1): 11–21.
- [21] 黄发, 吴志娜. 绿色木霉生产 β -葡聚糖酶的产酶条件的优化[J]. *中国实用医药*, 2014, 9(34): 248–249.
- Huang F, Wu ZN. Optimization of enzyme production conditions for the production of β -glucanase by *Trichoderma viride* [J]. *Chin J Pract Med*, 2014, 9(34): 248–249.
- [22] 卢庆华, 江梦宇, 寇冠, 等. Ce^{3+} 对哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)^{pc}漆酶影响的机制研究[J]. *中国稀土学报*, 2018, 36(4): 498–503.
- Lu QH, Jiang MY, Kou G, *et al.* Mechanism of effect of Ce^{3+} on laccase produced from *Trichoderma harzianum* [J]. *Chin J Rare Earth Elem*, 2018, 36(4): 498–503.
- [23] Kiiskinen LL, Kruus K, Bailey M, *et al.* Expression of *Melanocarpus albomyces* laccase in *Trichoderma reesei* and characterization of the purified enzyme [J]. *Microbiology*, 2004, 150(9): 3065.
- [24] 巫小丹, 徐尔尼, 刘玉环, 等. 产漆酶绿色木霉的筛选、鉴定和产酶条件优化[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(7): 165–169.
- Wu XD, Xu EN, Liu YH, *et al.* Screening, identification and fermentation conditions optimization of *Trichoderma viride* in producing laccase [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, 33(7): 165–169.
- [25] 魏练平, 李明江, 王耸, 等. 哈茨木霉 H-13 产几丁质酶与纤维素酶液体发酵工艺的研究[J]. *江苏农业科学*, 2011, 39(4): 132–135.
- Wei LP, Li MJ, Wang S, *et al.* Study on the liquid fermentation technology of chitinase and cellulase produced by *Trichoderma harzianum* H-13 [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2011, 39(4): 132–135.
- [26] Gilligan W, Reese ET. Evidence for multiple components in microbial cellulases [J]. *Can J Microbiol*, 1954, 1(2): 90–107.
- [27] Bhat MK, Bhat S. Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications [J]. *Biotechnol Adv*, 1997, 15(3–4): 583–620.
- [28] Kono H, Waelchli MR, Fujiwara M, *et al.* Regioselective syntheses of new tri- and tetrasaccharides from β -glucobioses by *Trichoderma viride* β -glucosidase and their structural analyses by NMR spectroscopy [J]. *Carbohydr Res*, 2010, 31(12): 67–74.
- [29] Kwon I, Ekino K, Oka T, *et al.* Effects of amino acid alterations on the transglycosylation reaction of endoglucanase I from *Trichoderma viride* HK-75 [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2002, 66(1): 110–116.
- [30] 张家松, 董宏标, 段亚飞, 等. 里氏木霉产纤维素酶的研究及其应用进展[J]. *南方水产科学*, 2014, 10(5): 99–104.
- Zhang JS, Dong HB, Duan YF, *et al.* Research and application progress of cellulase in *Trichoderma reesei* [J]. *Southern Aquat Sci*, 2014, 10(5): 99–104.
- [31] Dai Z, Aryal UK, Shukla A, *et al.* Impact of alg3 gene deletion on growth,

- development, pigment production, protein secretion, and functions of recombinant *Trichoderma reesei* cellobiohydrolases in *Aspergillus niger* [J]. Fungal Genet Biol, 2013, 61(12): 120–132.
- [32] Saloheimo M, Lehtovaara P, Penttilä M, *et al.* EGII, a new endoglucanase from *Trichoderma reesei*: the characterization of both gene and enzyme [J]. Gene, 1988, 63(1): 11–21.
- [33] Ward M, Wu S, Dauberman JM. *et al.* Cloning sequence and preliminary structural analysis of a small, high pI endoglu-canase (EG III) from *Trichoderma reesei* [J]. Found Biotechnol, 1993, (8): 153–168.
- [34] Teeri T, Lehtovaara P, Kauppinen S, *et al.* Homologous domains in *Trichoderma reesei* cellulolytic enzymes: gene sequence and expression of cellobiohydrolase II [J]. Gene, 1987, 51(1): 43–52.
- [35] Shoemaker S, Schweickart V, Ladner M, *et al.* Molecular cloning of exocellobiohydrolase I derived from *Trichoderma reesei* strain L27 [J]. Nat Biotechnol, 1983, 1(8): 691–696.
- [36] 牛康乐. 里氏木霉中糖苷酶的理性改造对于二糖合成/降解活性的影响 [D]. 济南: 山东大学, 2016.
- Niu KL. Effects of a rational evolution on of glucosidase from *Trichoderma reesei* on disaccharide synthetic/hydrolytic activity [D]. Jinan: Shandong University, 2016.
- [37] 王若文. 共表达 β -葡萄糖苷酶和漆酶的里氏木霉构建及黄曲霉素降解酶的重组里氏木霉和黑曲霉的构建 [D]. 上海: 华东理工大学, 2017.
- Wang RW. Construction of *Trichoderma reesei* co expressing β -glucosidase and laccase and construction of recombinant *Trichoderma reesei* and *Aspergillus niger* co expressing aflatoxin degrading enzyme [D]. Shanghai: East China University Science Technology, 2017.
- [38] 汪伟, 孙春娃, 杨爱文, 等. 利用重叠 PCR 法克隆里氏木霉 β -葡萄糖苷酶基因 cel1a [J]. 江苏农业科学, 2018, 46(21): 42–45.
- Jiang W, Sun CW, Yang AW, *et al.* Cloning of β -glucosidase gene cel1a from *Trichoderma reesei* by overlapping PCR [J]. Jiangsu Agric Sci, 2018, 46(21): 42–45.
- [39] 刘青. 哈茨木霉菌拮抗辣椒疫霉的转录组学研究 [D]. 贵州: 贵州大学, 2019.
- Liu Q. Transcriptome research of *Trichoderma harzianum* antagonized *Phytophthora capsica* [D]. Guizhou: Guizhou University, 2019.
- [40] Sun ZB, Sun MH, Li SD. Identification of mycoparasitism-related genes in *Clonostachys rosea* 67-1 active against *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Sci Rep, 2015, (5): 18169.
- [41] 白仁惠, 张云博, 王春迪, 等. 里氏木霉 Cel5A 基因优化及其在毕赤酵母中的高效表达 [J]. 生物工程学报, 2016, 32(10): 1381–1394.
- Bai RH, Zhang YB, Wang CD, *et al.* Gene optimization and efficient expression of *Trichoderma reesei* Cel5A in *Pichia pastoris*. [J]. J Biol, 2016, 32(10): 1381–1394.
- [42] Long C, Cui J, Li H, *et al.* Improvement in xylooligosaccharides production by knockout of the β -xyII gene in *Trichoderma orientalis* EU7-22 [J]. J Biotech, 2018, 8(1): 26.
- [43] Mutschlechner M, Illmer P, Wagner AO. Biological pre-treatment: Enhancing biogas production using the highly cellulolytic fungus *Trichoderma viride* [J]. Waste Manag, 2015, (43): S0956053X15003621.
- [44] Wagner AO, Schwarzenauer T, Illmer P. Improvement of methane generation capacity by aerobic pre-treatment of organic waste with a cellulolytic *Trichoderma viride* culture [J]. J Environ Manag, 2013, (129): 357–360.
- [45] 蒋丽, 雷激. 发酵法从柠檬果渣中制备膳食纤维的研究 [J]. 中国酿造, 2016, 35(3): 133–136.
- Jiang L, Lei J. Dietary fiber preparation from lemon fruit residue by fermentation [J]. Chin Brew, 2016, 35(3): 133–136.
- [46] 孙艺. 绿色木霉发酵法制备苹果渣膳食纤维的工艺及其理化特性的研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2017.
- Sun Y. Study on the technology and physicochemical properties of apple pomace dietary fiber by fermentation of *Trichoderma viride* [D]. Shenyang: Shenyang Agriculture University, 2017.
- [47] 张瑜, 李小鑫, 刘芳舒, 等. 不同工艺制备刺梨果渣膳食纤维及品质分析 [J]. 中国酿造, 2015, 34(2): 82–86.
- Zhang Y, Li XX, Liu FS, *et al.* Dietary fiber of roxburgh rose pomace prepared by different processes and quality indexes analysis [J]. Chin Brew, 2015, 34(2): 82–86.
- [48] 闫晓哲. 苹果渣乳酸发酵综合利用及其发酵动力学研究 [D]. 西安: 陕西科技大学, 2018.
- Yan XZ. Comprehensive utilization of apple pomace through lactic acid fermentation and studies on the fermentation kinetics [D]. Xi'an: Shaanxi Univ Sci Technol, 2018.
- [49] Arun N, Mehalai V, Edwin E, *et al.* Effect of cassava tuber waste treated with *Trichoderma viride* on the yield of abelmoschus esculents [J]. Biofuels, 2016, 8(2): 207–213.
- [50] Reese ET, Mandels M. Rolling with the time: production and applications of *Trichoderma reesei* cellulose [J]. Biotechnol Bioeng Symp, 1976, (6): 9–20.
- [51] Gritzali M, Brown JRD. The cellulase system of *Trichoderma*: Relationship between purified extracellular enzymes from induced or cellulose grown cells [J]. Adv Chem Ser, 1979, (181): 237–260.
- [52] 王晓力, 王帆, 孙尚琛, 等. 多菌种协同发酵啤酒糟渣和苹果渣生产蛋白饲料的研究 [J]. 饲料工业, 2016, 37(3): 32–38.
- Wang XL, Wang F, Sun SC, *et al.* Study on production of protein feedstuff from apple pomace and brewer's grains by cooperation of different microbial strains [J]. Feed Ind, 2016, 37(3): 32–38.
- [53] 罗文, 王晓力, 朱新强, 等. 固态发酵豆渣和苹果渣复合蛋白饲料的研究 [J]. 粮食与饲料工业, 2017, 12(2): 44–48.
- Luo W, Wang XL, Zhu XQ, *et al.* Production of compound protein feedstuff from bean dregs and apple pomace by solid-state fermentation [J]. Food Feed Ind, 2017, 12(2): 44–48.
- [54] 赵蕾, 张克英, 丁雪梅, 等. 夏橙皮渣产单细胞蛋白菌种筛选和发酵条件的优化 [J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(10): 101–105.
- Zhao L, Zhang KY, Ding XM, *et al.* Study of strains screening and fermentation conditions for SCP produce using citrus byproducts [J]. Food Ferment Ind, 2008, 34(10): 101–105.
- [55] 李煦媛, 宋向阳, 李鑫, 等. 甘蔗渣固态发酵产纤维素酶 [J]. 生物加工过程, 2016, 14(5): 29–32.
- Li XY, Song XY, Li X, *et al.* Cellulase production by solid-state fermentation of bagasse [J]. Chin J Biol Proc, 2016, 14(5): 29–32.
- [56] Abdul WMZ, Salleh M, Yusof F, *et al.* Factors affecting endoglucanase production by *Trichoderma reesei* RUT C-30 from solid state fermentation of oil palm empty fruit bunches using Plackett-Burman design [J]. Africa J Biotechnol, 2011, 10(46): 9402–9409.
- [57] Wang S, Liu G, Yu J, *et al.* RNA interference with carbon catabolite repression in *Trichoderma koningii* for enhancing cellulase production [J]. Enzyme Microb Technol, 2013, 53(2): 104–109.
- [58] 张瑜, 李小鑫, 罗昱, 等. 刺梨果渣发酵饲料蛋白的工艺研究 [J]. 中国

- 酿造, 2014, 33(11): 75–80.
- Zhang Y, Li XX, Luo Y, *et al.* Fermentation technology of feed protein with *Roxburgh* rose pomace [J]. *Chin Brew*, 2014, 33(11): 75–80.
- [59] 周炼, 王日葵, 郭莉, 等. 甜橙皮渣发酵蛋白饲料的研制[J]. *食品与发酵工业*, 2005, 31(5): 51–54.
- Zhou L, Wang RK, Guo L, *et al.* Protein feed made from orange pulp [J]. *Food Ferment Ind*, 2005, 31(5): 51–54.
- [60] 张海涛, 杨海君, 刘文斌, 等. 柚子皮渣生产单细胞蛋白饲料工艺研究[J]. *安徽农学通报*, 2015, 21(19): 105–108.
- Zhang HT, Yang HJ, Liu WB, *et al.* Study on the process of producing single cell protein feed by the skin of grapefruit [J]. *Anhui Agric Sci Circular*, 2015, 21(19): 105–108.
- [61] 叶锦, 张静茹, 覃益民, 等. 一种康氏木霉内切 β -葡聚糖苷酶的分离纯化及酶学性质[J]. *江苏农业学报*, 2015, 31(5): 995–1000.
- Ye J, Zhang JR, Qin YM, *et al.* Purification of a new endo- β -glucanase from *Trichoderma koningii* and its characterization [J]. *Jiangsu J Agric*, 2015, 31(5): 995–1000.
- [62] Chandra M, Kalra A, Sangwan NS, *et al.* Development of a mutant of *Trichoderma citrinoviride* for enhanced production of cellulases [J]. *Bioresour Technol*, 2009, 100(4): 1659–1662.
- [63] Chandra M, Kalra A, Sharma PK, *et al.* Optimization of cellulases production by *Trichoderma citrinoviride* on marc of *Artemisia annua* and its application for bioconversion process [J]. *Biomass Bioener*, 2010, 34(5): 805–811.
- [64] 胡聪, 李仲玄, 斯大勇, 等. 果渣的利用现状及开发动向[J]. *饲料工业*, 2017, 38(13): 44–46.
- Hu C, Li ZX, Si DY, *et al.* The utilization and development of fruit pomace [J]. *Feed Ind*, 2017, 38(13): 44–46.

(责任编辑: 陈雨薇)

作者简介



王恒震, 硕士研究生, 主要研究方向为食品科学技术与安全。
E-mail: 740847255@qq.com



李化强, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品科学技术与安全。
E-mail: biohqff@163.com