

糙皮侧耳(*pleurotus ostreatus*)对蔗渣 木质纤维素的降解作用

徐文玉 王玉万

(华侨大学) (本溪师专)

摘 要

糙皮侧耳(*P. ostreatus* (Jacq. Ex Fr) Kummer) AS5.42在蔗渣上生长期间, 主要利用蔗渣木质纤维素复合体中的木素和半纤维素, 而很少分解纤维素。在0—30天的生长期间, 木素、半纤维素、纤维素依次减少44%、46%、3.2%; 在0—60天的生长期间, 木素、半纤维素、纤维素分别减少56.9%、67.1%、22.9%。

引 言

糙皮侧耳(*P. ostreatus*)是高等担子菌中的白腐菌, 它能有效地分解木质纤维素^[1], 尤其是它对于木素有较强的分解能力^[1, 2, 4, 5]。关于糙皮侧耳(*P. ostreatus*)降解木屑、麦秆、棉秆中木质纤维素的研究已有报导^[2-5], 但以蔗渣为基质的研究则缺乏。白腐菌类分解木质纤维素的能力直接受到基质中的化学成分和木质纤维素复合体的物理结构以及其它一些因素的影响, 同一菌种在利用不同的植物纤维废弃物为基质时, 其降解木素、半纤维素、纤维素的能力及其发酵产物的消化率是不同的^[2, 6, 7]。因此, 探讨糙皮侧耳(*P. ostreatus*)对于蔗渣中木质纤维素的降解及其动态变化规律是有意义的, 一方面在理论上可以进一步了解糙皮侧耳(*P. ostreatus*)对于木质纤维素的代谢规律, 另一方面也为蔗渣的生物利用(发酵饲料、栽培食用菌等)提供科学依据。因此, 本文初步探讨了糙皮侧耳(*P. ostreatus*)对于蔗渣木质纤维素的降解问题。

材料与方法

(一) 材料

糙皮侧耳[*P. ostreatus* (Jacq. EX Fr) Kummer] AS 5.42由中国科学院北京微生物研究所菌种室提供。蔗渣由福建仙游糖厂提供, 风干, 粉碎, 过40目筛。

本文1986年4月29日收到。

(二) 培养

1. 斜面培养

菌种接种在 PDA 斜面培养基上, 25℃ 培养至菌丝刚布满斜面时, 即放冰箱保存, 做为原种。

2. 蔗渣固体发酵

在200ml三角烧瓶中装入10.00g蔗渣, 加入80mg CaCO_3 和35ml矿质培养液^[6, 9](以 KNO_3 为补加氮源), 拌匀, 表面轻轻压平, 中心打孔, 于121℃灭菌30分钟, 冷却后保留三瓶不接菌, 做为对照, 其余每瓶接种PDA培养物两小块, 置25℃下培养0—60天。当菌丝穿满基质时将PDA培养物挑出, 弃去, 并将蔗渣培养物切成8cm³左右的小块, 使块间留有一定空隙, 继续培养。

(三) 组分分析

在不同培养时间取出培养物, 于105℃烘干, 打碎菌块, 混匀, 备用。有机物质含量测定接Zadrazil法进行^[6], 菌丝蛋白的抽提参考Mandels法^[12], 用1N NaOH于100℃重复抽提培养物三次(每次7—10分钟), 合并抽提液, 然后用微量双缩脲法测定抽提液中菌丝蛋白含量^[10], 以大牛血清蛋白作标准曲线; 水溶性物质、水溶性碳水化合物以及木素、半纤维素、纤维素含量的测定用系统的定量分析程序, 操作过程示于图1。

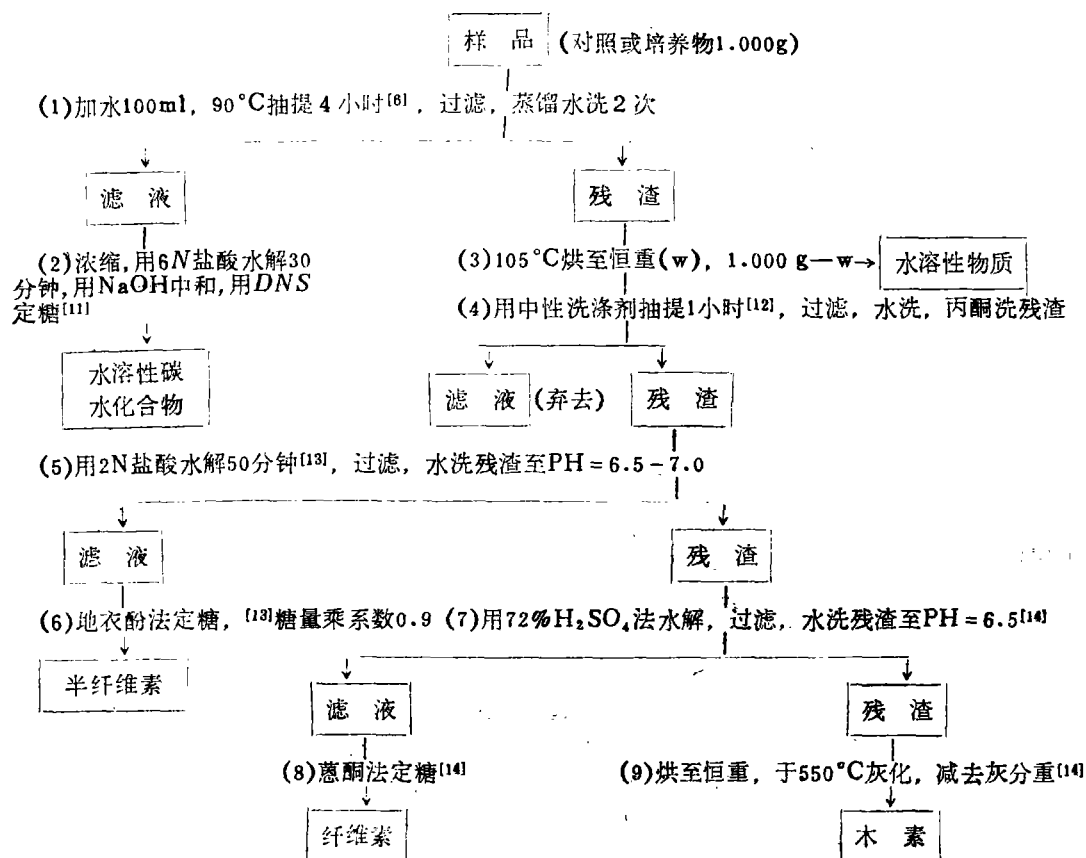


图1 水溶性物质、水溶性碳水化合物、木素、半纤维素、纤维素的系统定量分析程序

(四) 计算

有机物减少(%)按 Zadrazil 方法计算^[6], 木素、半纤维素、纤维素减少(%)按下式计算, [培养前每瓶基质中木素(或半纤维素或纤维素)量-培养后每瓶基质中木素(或半纤维素或纤维素)量]×100/培养前每瓶基质中木素(或半纤维素或纤维素)量。

蛋白质含量增加(g)=百克蔗渣粉培养后蛋白质含量(g)-100g蔗渣粉蛋白质含量(g)。

结 果 与 讨 论

实验使用的蔗渣固体培养基除了补加少量矿质成分及无机氮源(KNO₃)外^[8, 9], 没有额外补加其它有机氮、碳源。基质中主要组分的含量见表1。在实验过程中, 观察到糙皮侧耳(*P. ostreatus*)能在蔗渣基质上良好的生长。在 PDA 培养物接入后第7天菌丝即长满基质。培养后基质的化学成分变化如表2所示。在菌体生长到第8天时, 培养物中纤维素的含量几乎没有变化, 木素和半纤维素也很少降解, 而水溶性物质却显著减少。这说明0—8天期间菌体生长所需的营养物是由蔗渣中的水溶性组分提供的。

表1 蔗渣主要组分的含量

组 分	含 量 (%)*	组 分	含 量 (%)*
木 质 素	14.0(15.1)	还 原 糖	1.40—1.54
半 纤 维 素	22.5(23.8)	水 溶 物	14.0
纤 维 素	36.1(37.0)	氮 素	1.02(0.63)
蛋 白 质	2.77—2.81	灰 分	5.60

• 括号外数值为加入矿质培养液并灭菌后的测定值, 括号内数值为没有加矿质培养液前各组分占原料(蔗渣)的测定值。

为了便于观察木质纤维素降解的动态变化规律, 将表2数据绘制成图2表示。从图2

表2 *P.ostreatus* AS5.42在蔗渣上长期间基质主要组分的含量和变化

培养 时间 (d)	木 素		半纤维素		纤 维 素		蛋 白 质		有 机 物 减少(%)	水 溶 物 含量(%)
	含量 (%)	减少 (%)	含量 (%)	减少 (%)	含量 (%)	减少 (%)	含量 (%)	增加 (g)		
8	13.0	2.7	20.8	3.5	36.2	0.3	4.2	1.18	2.8	9.0
13	11.0	15.6	18.0	25.0	36.1	0.9	5.4	2.05	6.6	17.1
20	9.8	31.6	16.6	27.3	39.8	1.7	5.6	2.13	9.3	21.4
25	9.7	33.4	16.0	37.0	41.4	2.8	5.4	1.90	11.8	18.9
30	8.5	43.6	14.3	45.1	42.4	3.2	5.6	1.96	14.5	19.5
45	8.0	54.2	12.2	56.5	40.5	13.4	6.2	1.93	22.4	20.0
60	7.6	56.9	9.8	67.1	37.6	22.9	—	—	27.6	23.1

可以看出, 糙皮侧耳(*p. ostreatus*)开始动用蔗渣木质纤维素为主要能源是在 菌 体生长一周

之后,这和弗罗里达侧耳(*P. sp. florida*)对于棉杆木质纤维素的降解行为相近似^[16]。从图2还可看出,在菌体生长前期(20天期间),木素降解速度最快,其次为半纤维素,纤维素降解十分缓慢。在这一阶段菌体蛋白含量迅速增加,于第20天达最高值;水液性物质也明显增加,但是水液性糖类并没有明显增加。因此,推测增加的水溶性物质主要是被菌体降解、转化的木素和半纤维素而产生的非糖类物质。当测定去除水溶性蛋白质后的水溶性物质的光谱吸收特征时,发现于210—320nm范围内有强吸收值,这就说明水溶性组分中有一定量的木素降解所释放出的中间产物即低分子量的多酚类化合物的存在^[16-17]。

当糙皮侧耳(*P. ostreatus*)培养到30天时,蔗渣中的木素减少44%,半纤维素减少45%,而总有机物质和纤维素却减少不多,这就意味着,此菌对于蔗渣木素、半纤维素的生物转化效率是较高的,即它能有效而经济的利用蔗渣非纤维素成分为碳源,这对于利用蔗渣生产反刍动物的发酵饲料是有利的^[2, 7, 16, 18]。

当糙皮侧耳(*P. ostreatus*)培养到60天时,木素减少56.9%,半纤维素减少67.1%,纤维素减少22.9%。本实验菌种在培养前期对木素、半纤维素降解较快,而在培养后期则对纤维素降解较快,这种降解状态同国外报导的同种菌种对于麦杆的木素、半纤维素、纤维素的降解情况相类似^[5]。这种木素、半纤维素、纤维素降解速度的更替性变化,也存在于其它白腐菌中^[19-21]。但是对于这种规律性变化的原因则缺乏解释。据报导,某些酚类化合物对纤维素酶的生成有一定的抑制作用^[22, 23]。进一步探讨在菌体生长发育过程中,木素分解酶系^[16, 21]和基质中木素降解的中间产物——多酚类化合物的种类、含量的动态变化以及其与纤维素酶系、纤维素降解率的关系是必要的。这是弄清木素-纤维素降解速率更替性变化原因不可缺少的实验环节。不过就目前研究结果表明,可以肯定的一点是,对于优先分解木素、半纤维素的菌株,由于在生长前期,木素、半纤维素被部分去除,从而解除了或部分解除了木素-纤维素对纤维素酶接近纤维素的物理性障碍作用^[5, 19]。因此,这就表现出了在生长后期纤维素降解速率加快的现象。

从图2还可以看出,在木素降解的同时伴随着半纤维素的大量降解。这反映出在生长前期(8-30天)菌体迅速生长和木素降解所需的能源主要是由蔗渣半纤维素提供的。因为木素降解的初始步骤是消耗能量的过程^[24, 25],并且以木素为唯一碳源,菌体很难维持生活^[24, 26]。所以作为菌体较易利用的碳源——多糖类的分解是必需的。化学分析表明,蔗渣半纤维素主要由木聚糖组成,尚含少量阿拉伯聚糖。这就是说在生长前期阶段木素降解与菌体生长所需的能源实际上是由木聚糖的降解产物——木糖直接提供的。人们研究了其它一些侧耳,发现都能有效地降解和利用蔗渣中的半纤维素。Detroy指出^[5],糙皮侧耳在以麦杆为基质生长时,在0—70天生长期间,可降解麦杆半纤维素(主要由木聚糖组成)达95%。但是A. V.

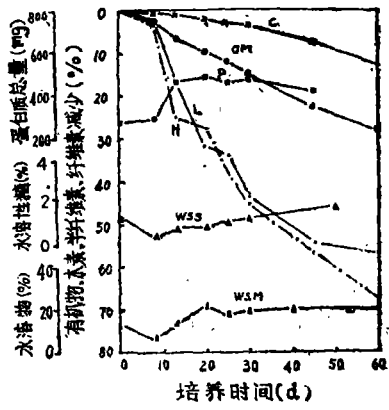


图2 *P. ostreatus* AS5.42培养期间培养物组分含量的变化
C—纤维素; H—半纤维素;
L—木质素; OM—总有机物质;
P—蛋白质; WSS—水溶性糖;
WSM—水溶性物质

Paul 等人用各种单糖为碳源培养糙皮侧耳时却发现^[27], 菌丝以甘露糖、山梨糖、鼠李糖为碳源时生长最好, 其次是葡萄糖, 而木糖和阿拉伯糖利用较差。因此对于糙皮侧耳利用木质纤维中半纤维素放出的木糖、阿拉伯糖和加入培养基中的木糖、阿拉伯糖的能力问题, 有必要开展进一步的精细研究。糙皮侧耳(*p. ostreatus* AS5.42)在蔗渣上生长期间能显著的降解半纤维素和木素, 而很少分解纤维素; 代谢能减少(以有机物减少百分数来衡量)也并不显著; 蛋白质含量在培养前期增加较多。因此我们认为, 用糙皮侧耳(*p. ostreatus*)在蔗渣上生长期间, 不但可以提供子实体为人类直接食用, 而且还可以提高基质的消化率与酶解糖生化率^[2, 5-7, 16, 18]。这将为蔗渣的综合利用开辟一条新路。有待于弄清的主要问题是, 糙皮侧耳(*p. ostreatus*)等白腐菌对于木素、纤维素降解速率的更替性变化及木素的选择性降解机制等, 这些问题的揭示, 将能为选择性的从木质纤维素中去除木素, 以提高纤维素生物转化效率方面提供重要资料。

参 考 文 献

- [1] J.G.Zeikus, Advance in Microbiol.Ecology, 5(1981), 211—237.
- [2] T.Kaneshiro, Developments in Industrial Microbiol., 18(1976), 591—597.
- [3] F.Zadrazil et al., Eur.J.Appl.Microbiol.Biotechnol., 11(1981), 181—188.
- [4] 邓文轩, 应用微生物, 2(1983), 36.
- [5] R.W.Detroy et al., Biotechnol.Bioeng.Symp., 10(1980), 135—148.
- [6] F.Zadrazil, Eur.J.Appl.Microbiol.Biotechnol., 9(1980), 243—248.
- [7] F.Zadrazil, Production and Feeding of Single Cell Protein, 1983, 76—79.
- [8] F.Zadrazil et al., Eur.J.Appl.Microbiol.Biotechnol., 9(1980), 37—44.
- [9] P.Khanna et al., Mushroom Newsletter for the Tropics, 5(1983), 16—19.
- [10] R.F.Itzhaki et al., Anal.Biochem., 9(1964), 401—410.
- [11] G.L.Miller, Anal.Chem., 31(1959), 426.
- [12] P.J.Van Soest et al., J.A.O.A.C., 50(1967), 50—55.
- [13] X.H.波钦诺克著, 植物生物化学分析方法, 科学出版社, 1981, 173—177.
- [14] S.L.Rosenberg, Developments in Industrial Microbiol., 20(1979), 133.
- [15] M.Mandels, Process Biochemistry, 5(1978), 6—13.
- [16] M.W.Platt et al., Eur.J.Appl.Microbiol.Biotechnol., 13(1981), 194—195.
- [17] M.Glanser et al., Process Biochemistry, 19(1984), 105—110.
- [18] Z.-H.Kornelia, Biotechnol.Bioeng., 26(1984), 384.
- [19] S.Rajaratnam et al., Eur.J.Appl.Microbiol.Biotechnol., 8(1979), 125—134.
- [20] D.A.Wood et al., The Mushroom Journal, 114(1982), 194—197.
- [21] 黄克服等, 厦门大学学报(自然科学版), 3(1985), 379—386.
- [22] P.Ander et al., Lignin Biodegradation (Microbiol.Chem.and Potential Applications), 2(1980), 1—15.
- [23] R.M.Vohra et al., Biotechnol.Bioeng., 22(1980), 1497.
- [24] 福住俊郎, 应用微生物, 4(1983), 6—11.
- [25] D.L.Crawford et al., Enzyme Microbiol.Technol., 2(1980), 11—22.

[26] A.J.Dauglis et al., Eur.J.Appl.Microbiol., 4(1977), 159.

[27] 陈士瑜, 食用菌, 2(1982), 31—32.

Degradation of Lignocellulose in Sugarcane Bagasse by *Pleurotus ostreatus*

Xu Wenyu Wang Yuwan

Abstract

When *Pleurotus ostreatus* AS 5.42 grows on sugarcane bagasse, it metabolizes mainly lignin and hemicellulose of lignocellulose complex in bagasse, but it degrades cellulose just a little. In an incubation time of 0-30 days, the reduction of lignin, hemicellulose and cellulose was 44%, 46% and 3.2%, respectively; in an incubation time of 0-60 days, their reduction was 56.9%, 67.1% and 22.9%, respectively.