

金针菇白色菌株对不同纤维 废弃物的降解作用

潘贞德

(北京市环境卫生科学研究所)

王玉万

(北京农业大学)

徐文玉

(华侨大学)

摘要 本文分析了金针菇白色菌株在不同纤维废弃物上生长时, 基质转化效率和主要成分的降解规律。结果表明: (1) 废棉是栽培金针菇白色菌株的优良基质, 木屑较差, 因废棉中纤维素易降解, 这与金针菇白色菌株的木腐特点及两种纤维废弃物中木素含量及存在方式有关。 (2) 在纤维废弃物中适当增加麦麸可促进纤维素、半纤维素的降解, 从而可提高子实体产量。因纤维素是子实体阶段的主要碳源。 (3) 白色菌株生长期间可向培养基释放 CMC 酶、FP 酶、 β -葡萄糖苷酶、木聚糖酶和淀粉酶, 并且纤维分解酶活性高峰出现在子实体阶段, 这是保证子实体良好发育的重要生理基础。

关键词 金针菇白色菌株, 木质纤维素降解, 纤维素酶

0 前言

金针菇(*Flammulina Velutipes* (Curt. ex Fx.) Sing) 白色菌株是人工栽培金针菇中商品价值较高的菌株, 在日本普遍栽培, 在我国栽培量也逐年增加。其栽培基质主要是木屑、废棉、棉籽壳、玉米芯等纤维废物。但金针菇白色菌株分解利用木质纤维素的生理生化规律尚不了解。本文着重研究金针菇白色菌株在几种不同培养基上生长过程中, 基质中木质纤维素的降解规律及其有关的酶学基础。

1 材料与方法

1.1 菌种

金针菇白色菌株引自深圳威可公司(日本菌株)。

1.2 培养基和培养方法

(1) 废棉培养基: 废棉 80.00g, 麦麸 20.00g, 水 150ml。 (2) 木屑-20% 麦麸培养基: 木屑 80.00g, 麦麸 20.00g, 水 150ml。 (3) 木屑-30% 麦麸培养基: 木屑 70.00g, 麦麸 30.00g, 水

• 本文1992-03-05收到。

150ml. 拌匀装入罐头瓶中, $1.08 \times 10^5 Pa$ 灭菌2h, 接种后置24℃培养, 菌丝长满培养基后于10—15℃培养.

1.3 分析

培养过程中定期取样测定培养基中干物质减少量和纤维素、半纤维素、木素含量. 测定方法依照文献[1].

1.4 酶活性测定

酶液制备、羧甲基纤维素酶(CMC 酶)、滤纸纤维素酶(FP 酶)活性参考 Mandes 方法测定⁽²⁾; 木聚糖酶活性参考 Shamala 方法测定⁽³⁾, 以落叶松木聚糖为底物(Sigma 公司产品); β -葡萄糖苷酶活性参照 Sasuwat 等人方法测定⁽⁴⁾, 以水杨素为底物; 淀粉酶参照王玉万等人的方法进行测定⁽⁵⁾. CMC 酶、 β -葡萄糖苷酶和淀粉酶活力单位定义为: $1u = 1mg$ 葡萄糖/30min·g 干培养物. FP 酶活力单位为: $1u = 1mg$ 葡萄糖/60min·g 干培养物. 木聚糖酶活力单位为: $1u = 1mg$ 木糖/30min·g 干培养物.

2 结果与讨论

2.1 生物学效率和产量系数

从表1可见, 金针菇白色菌株在不同栽培基质上生长时, 子实体相对生物学效率、绝对

表1 金针菇白色菌株在不同培养基上生长时生物学效率和产量系数

培养基	头潮菇			二潮菇			头、二潮菇		
	相对生物学效率%	绝对生物学效率%	产量系数%	相对生物学效率%	绝对生物学效率%	产量系数%	相对生物学效率%	绝对生物学效率%	产量系数%
废棉	180.0	20.30	48.33	36.32	3.67	55.12	216.4	23.97	49.25
木屑-30% 麦麸	125.5	10.04	35.12	20.34	1.62	60.67	145.8	11.66	37.30
木屑-20% 麦麸	87.8	6.83	32.84	10.76	0.89	78.43	98.6	7.75	35.18

注: 相对生物学效率% = $C/A \times 100$; 绝对生物学效率% = $D/A \times 100$; 产量系数% = $D/B \times 100$.

A: 培养0天培养基干重; B: 培养基失重; C: 子实体鲜重; D: 子实体干重.

生物学效率和产量系数有显著差异. 以废棉为佳, 木屑较差, 并且培养基中麦麸加入量对子实体产量和生物学效率有显著影响. 由此可见, 栽培金针菇时栽培基质的选择至关重要.

2.2 栽培过程中培养基成分变化

(1) 菌丝体阶段呼吸消耗基质量 测定菌丝体阶段呼吸消耗有机质量可估测出菌丝体呼吸强度, 而菌丝体呼吸强度可反映出菌丝体的生物量及代谢活力. 由表2可见, 金针菇白色菌

表2 菌丝体阶段培养基中有机质减少量

培养基	废棉	木屑-30%麦麸	木屑-20%麦麸
菌丝体阶段(天)	48	51	48
有机质减少(%)	23.22	18.77	14.30
有机质减少(%/天)	0.484	0.368	0.298

株在不同培养基上生长时,由呼吸作用消耗掉的基质量分别为:废棉培养基>木屑-30%麦麸培养基>木屑-20%麦麸培养基.与表1比较可见,其菌丝体阶段呼吸消耗的有机质量与子实体产量呈正相关.这提示我们:(1)不同培养基对菌丝体生长阶段的呼吸强度有较大的影响;(2)金针菇白色菌株在废棉上生长时,菌丝体阶段有机质减少量较多,这表明,该菌株在废棉上生长时菌丝体阶段呼吸强度大,也暗示出该培养物中的菌丝生物量可能积累得较多或可能是菌丝体的代谢活力较强,这对于后期子实体生长发育无疑是有利的,从表1中子实体转化效率可以明显地证实.因此认为有必要探讨利用菌丝体阶段基质呼吸消耗的有机质量来作为选择优良培养基的“生理指标”的可能性.

(2)木质纤维素降解

(i)金针菇白色菌株的木腐类型:从表3可见,金针菇白色菌株分解纤维素和半纤维素的能力较强,分解木素的能力很弱.因此,金针菇白色菌株为木材腐生菌中的褐腐菌.

表3 金针菇白色菌株在几种栽培基质上生长过程中主要成分含量及变化*

培养基	培养天数	LR(g)	HCR(g)	CR(g)	LCR(g)	RS(g)	LR/RS	HCR/RS	CR/RS	LCR/RS
							×100	×100	×100	×100
废棉	0-48*	0.15	0.98	8.34	9.47	17.90	0.84	5.47	46.59	52.91
	48-66**	1.59	4.31	11.69	17.59	14.50	10.97	29.72	80.62	121.31
木屑-30% 麦 麸	0-51*	0.78	2.43	7.12	10.33	16.80	4.64	14.46	42.38	61.49
	51-66**	1.90	1.52	4.23	7.65	8.80	21.59	17.27	48.07	86.93
木屑-20% 麦 麸	0-48*	0	2.01	2.49	4.50	11.30	0	17.79	22.04	39.82
	48-66**	0.44	0.37	2.53	3.34	5.20	8.46	7.12	48.65	64.23

米菌丝体生长阶段; **一潮子实体生长阶段.

LR:木素减少; HCR:半纤维素减少; CR:纤维素减少; SR:培养基失重.

(ii)金针菇白色菌株子实体阶段的营养来源:从表3可见,该菌在几种不同培养基上生长时,其子实体阶段主要依赖于纤维素的降解来提供营养.因此,子实体阶段纤维素降解量将对子实体生长发育有重要影响.说明子实体阶段纤维素降解量可能是金针菇白色菌株子实体发育的重要营养限制因子.因此,探讨影响金针菇降解纤维素的限制因素对于充分地发挥出优良菌株的遗传潜力是至关重要的.

(iii)纤维废弃物中木素含量及木质纤维素复合体的物理结构对纤维素降解量的影响:由表3可见,废棉培养基中纤维素降解量远大于木屑培养基中纤维素降解量.这是因为废棉培养基中纤维素含量丰富(达45%左右),且以裸露状态存在(不被木素包围),而木屑中纤维素被木素包围.由于金针菇白色菌株分解木素能力弱,为此木屑中木素的存在就阻碍了纤维素酶水解纤维素.正如上述,金针菇白色菌株子实体阶段主要以纤维素为碳源,因此认为,利用废棉栽培金针菇产量高,而用木屑栽培金针菇产量低,很可能与两种纤维废弃物中木素的分布状态及含量有关.

(iv)麦麸加入量对纤维素和半纤维素降解量的影响:表3展示出,木屑-30%麦麸培养基中纤维素和半纤维素降解量远大于木屑-20%麦麸培养基中纤维素和半纤维素降解量.因此,适当增加培养基中麦麸含量可以促进基质中纤维素和半纤维素的降解量,尤其是促进子实体

阶段纤维素和半纤维素的降解量,这对于子实体生长发育很重要.但是关于麦麸促进纤维素和半纤维素的降解的生化基础尚不清楚,值得深入研究.

2.3 培养基中的胞外多糖分解酶活性

(1) 酶系组成 金针菇白色菌株在几种不同培养基上生长期间可向培养基中释放 CMC 酶、FP 酶、 β -葡萄糖苷酶、木聚糖酶和淀粉酶(表4、5、6).

(2)培养过程酶的动态变化 由表4、5、6可见,CMC 酶、FP 酶、 β -葡萄糖苷酶和木聚糖酶活性在菌丝体阶段较低,子实体阶段酶活性较高,这与光帽鳞伞、榆耳、猴头菌、玉蕈、香菇、贝叶多孔菌和侧耳等食用菌的胞外纤维分解酶活性在栽培过程中的动态变化规律相似,这进一步反映出,金针菇等木腐类高等担子菌子实体发育期主要以纤维素和半纤维素为碳源,并且子实体发育和菌丝体产生胞外纤维分解酶的生理生化调控程序可能存在着一一定的内在联系^(6,7),值得深入研究.

表4 金针菇在废棉培养基生长期间五种胞外多糖分解酶活性

培养天数	17	23	28	36	42	48	54	66	75	82	87
CMCase	2.42	10.75	17.67	32.88	39.87	51.56	40.66	17.68	17.02	20.82	83.28
FPase	5.13	3.19	2.92	5.34	0	6.55	3.55	5.89	1.24	1.92	9.36
β -Gase	1.29	1.94	1.87	7.89	3.62	7.86	7.10	0	9.69	3.19	16.60
Xyase	0	10.94	16.61	5.44	23.05	51.90	31.26	17.89	40.16	63.75	68.04
Amase	23.54	29.89	17.67	13.40	21.37	21.85	17.29	11.26	27.50	33.51	128.51

注: β -Gase: β -葡萄糖苷酶; Xyase:木聚糖酶; Amase:淀粉酶.

表5 金针菇在木屑-20%麦麸培养基生长期间五种胞外多糖分解酶活性

培养天数	17	23	28	36	42	48	54	66	75	82	87
CMCase	0	3.49	4.73	21.70	27.22	34.48	19.54	21.42	10.61	20.35	48.26
FPase	1.70	1.74	0	3.59	0	0	0	0	1.01	1.23	0
β -Gase	0.63	0	0	3.63	1.18	1.18	1.49	1.61	3.90	0.82	0
Xyase	0.85	1.42	1.25	5.56	19.74	9.26	6.52	17.48	3.14	12.02	23.44
Amase	9.90	5.55	6.31	7.81	10.26	5.65	5.86	33.24	8.60	11.92	23.36

表6 金针菇在木屑-30%麦麸培养基生长期间五种胞外多糖分解酶活性

培养天数	17	23	28	36	42	51	57	66	75	82	87
CMCase	0	0.87	6.64	21.15	33.33	46.84	37.13	26.22	21.67	27.62	57.18
FPase	0	0	0	3.04	0	3.61	0	0	2.21	3.40	1.70
β -Gase	1.82	0	0	2.11	0.94	1.65	4.45	3.60	2.54	2.32	8.04
Xyase	5.57	2.24	3.37	18.67	26.94	22.84	35.09	24.22	29.56	32.34	41.56
Amase	12.14	9.80	6.87	5.85	8.98	9.14	5.71	10.93	14.64	14.22	27.38

参 考 文 献

[1] 王玉万、徐文玉,木质纤维素固体基质发酵物中半纤维素、纤维素和木素的定量分析程序,微生物学通

- 报,14,2(1987), 81—84.
- [2] Mandels, M. et al., Biotechnol. Bioeng., 15(1974), 1471—1493.
- [3] Shamala TR et al., Enzyme Microb. Technol., 8,3(1986), 178—182.
- [4] Sengupta, S. et al., Enzyme Microb. Technol., 12,4(1990), 309—314.
- [5] D. T. 普卢默(吴翠等译), 实用生物化学导论, 科学出版社, (1985), 276.
- [6] 王玉万、王 云, 培养温度和侧耳子实体形成对胞外纤维素分解酶活性的影响, 微生物学通报, 18,1 (1991), 9-11.
- [7] 王玉万、王 云, 滑菇子实体阶段胞外 CMC 酶和 HC 酶活性增加与培养温度和子实体形成的关系, 微生物学通报, 19, (1992), 7—9.

Effect of *Flammulina Velutipes* (Curt. ex Fr.) Sing. White Strain on the Degradation of Lignocellulosic Wastes

Pan Zhende
(Peijing Institute of
Environment Protection)

Wang Yuwan
(Beijing Agricultural
University)

Xu Wenyu
(Huaqiao University)

Abstract During the growth of *Flammulina Velutipes* (Curt. ex Fr.) Sing. White Strain on different lignocellulosic wastes, the authors analyzed the conversion efficiency of substrate and the degradation of main constituents. The results are presented and discussed as follows: 1) Waste cotton is an excellent substrate in which the lignocellulose is apt to degrade, while sawdust is not quite up to the mark. This may be related to the wood-rotting characteristic of the White Strain and to the lignin content of these two lignocellulosic wastes and the forms in which they are existed. 2) Properly adding wheat bran to lignocellulosic wastes may promote the degradation of cellulose and hemicellulose and thus may increase the yield of fruiting body. This may be due to the fact that cellulose is the carbon source in the phase of fruitification. 3) The White Strain may release CMC-ase, β -glucosidase, xylanase and amylase to the culture medium during its growth. And the cellulose enzyme enters its peak period of activity during the phase of fruitification. This may serve as a physiological basis for the development of fruitification.

Key words *Flammulina Velutipes* (Curt. ex Fr.) Sing. White Strain, ligno-cellulosic wastes, cellulase complex