

研究报告

鸡腿菇对棉籽壳的降解与转化

倪新江¹ 冯志勇² 梁丽琨¹ 由翠荣¹ 潘迎捷²(山东省烟台大学生化系 烟台 264005)¹ (上海农业科学院食用菌研究所 上海 201106)²

摘要: 栽培在棉籽壳培养基中的鸡腿菇具有较强的木质纤维素降解能力和较高的绝对生物学效率; 木质纤维素是子实体生长阶段的主要碳源; CMC酶、FP酶和HC酶的活性变化与纤维素、半纤维素的降解速率正相关, 漆酶的活性变化与木质素的降解速率正相关, 而过氧化物酶的活性变化与木质素的降解速率没有相关性; 淀粉酶在菌丝生长阶段活性较高, 蛋白酶的活性高峰出现在子实体生长发育期。

关键词: 鸡腿菇, 木质纤维素降解, 绝对生物学效率, 胞外酶

中图分类号: Q939.96 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2002) 02-0001-04

DEGRADATION AND TRANSFORMATION OF COTTON SEED HULLS BY *COPRINUS COMATUS*

NI Xin-jiang¹ FENG Zhi-Yong² LIANG Li-Kun¹ YOU Cui-Rong¹ PAN Ying-Jie²(Department of Biochemistry, Yantai University, Yantai 264005)¹(Research Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106)²

Abstract: *Coprinus comatus* cultivated on cotton seed hull medium decomposed lignocellulose straggly and was high of absolute biological efficiency. Lignocellulose is the main carbon source for the fruiting stage of the fungus. There existed the positive correlation between the degradation rates of the cellulose and hemicellulose in the medium and the activities of extracellular CMCase (carboxymethylcellulase), FPase (filter paper cellulase) and HCCase (hemicellulase), there also existed the positive correlation between the degradation rate of the lignin in the medium and the activity of extracellular laccase, but no correlation between the degradation rate of the lignin in the medium and the activity of peroxidase. The activity of extracellular amylase was comparatively high at mycelial growth stage, and the protease activity peak was at the time when the fruitbody matured.

Key words: *coprinus comatus*, Absolute biological efficiency, Lignocellulose degradation, Extracellular enzyme.

鸡腿菇 (*Coprinus comatus*) 因味道鲜美且具有一定药用价值而深受人们欢迎。近年来, 国内外相继开发栽培鸡腿菇, 消费市场越来越大, 并已成为栽培食用菌中的一枝新秀。目前, 有关鸡腿菇的研究多集中在生物学特性及栽培技术方面, 有关其营养生理方面尚缺少研究。本文报告有关这方面的研究结果, 为进一步研究这种食用菌的营养生理、提高栽培技术, 并为遗传育种方面, 提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 菌种

鸡腿菇 (*Coprinus comatus*) 由华中农业大学菌种实验中心提供。

1.2 试剂

羧甲基纤维素钠和木聚糖为 Sigma 公司产品, 其它为国产分析纯。

1.3 栽培方法

每个罐头瓶装发酵棉籽壳(棉籽壳 99%, 复合肥 1%, 发酵后晒干) 84g, 麸皮 15g, 石膏 1g。用 150mL 自来水拌匀后装瓶(每瓶培养基烘干后重 89.88g), 料压平, 中央打孔, 用报纸和塑料薄膜封口, 1×10^5 Pa 灭菌 1.5h, 接麦粒种约 3g。菌丝生长阶段置 24℃ ~ 26℃ 下培养, 菌丝长至 2/3 瓶后覆土, 满瓶后置 20℃ ~ 22℃ 下培养, 出菇管理按常规方法。

1.4 组分分析和计算方法

纤维素、半纤维素和木质素的含量测定参照按文献 [1] 的方法略加改进; 培养基失重、纤维素、半纤维素和木质素的减少、呼吸消耗和绝对生物学效率按文献 [2] 的方法。

1.5 粗酶液的制备

在菌丝生长发育的不同阶段, 从 3 个瓶中取发菌培养基充分混匀, 然后取 10g 加蒸馏水 50mL, 20℃ 浸提 4h, 过滤后, 4000r/min 离心 5min, 上清液即为粗酶液。

1.6 酶活性的测定方法

羧甲基纤维素酶(CMC 酶)、滤纸纤维酶(FP 酶)和淀粉酶活性分别参照文献 [3, 4] 的方法, FP 酶活力单位定义: $1u = 1mg$ 葡萄糖/60min·g 干培养物; 其它两种酶活力单位定义: $1u = 1mg$ 葡萄糖/30min·g 干培养物。半纤维素酶(HC 酶)活性参照文献 [5] 的方法, 酶活力单位定义: $1u = 1mg$ 木糖/30min·g 干培养物。漆酶活性参照文献 [6] 的方法, 酶活力单位定义: 1g 干培养物中的酶量分钟使 OD_{600} 值改变 0.01 为一个活力单位。过氧化物酶活性参照文献 [7] 的方法, 酶活力单位定义: 1g 干培养物中的酶量每分钟使 OD_{470} 值改变 0.01 为一个活力单位。蛋白酶活性参照文献 [8] 的方法, 在 pH 7.2 条件下测定, 酶活力单位定义: 1g 干培养物中的酶量每分钟作用于底物释放出的三氯乙酸可溶物, 其 Folin 试剂呈色度与 $1\mu g$ 酪氨酸相当时为 1 个活力单位。

2 结果与讨论

2.1 鸡腿菇的不同生长发育阶段

0~25d 为菌丝生长阶段; 25~36d 为菌丝生理成熟阶段; 36~44d 为头潮菇子实体生长阶段; 44~70d 为二潮菇阶段。

2.2 培养基组分含量变化

2.2.1 绝对生物学效率和呼吸消耗: 表 1 显示, 鸡腿菇在棉籽壳培养基上生长期间, 培养基失重 56.30%, 其中 38.15% 被菌体呼吸过程消耗掉, 18.15% 转化为子实体的生物量; 头潮菇子实体生长发育阶段每天呼吸消耗最高, 二潮菇阶段次之, 菌丝生理成熟阶段最低。这些结果表明: (1) 鸡腿菇具有较高的绝对生物学效率, 产量系数(子实体干重/培养基失重 $\times 100\%$) 为 32.24% 也比较高; (2) 在子实体生长发育阶段保证菇房的良好通风对菇体的正常发育意义重大; (3) 尽管菌丝生理成熟阶段是菌丝细胞内生物量的积累过程, 但在这一阶段菌丝体总体代谢水平最低。

表1 鸡腿菇在棉籽壳培养基中生长期间主要组分变化、呼吸消耗和绝对生物学效率

培养时间 (d)	培养基 干重(g)	培养基 失重(%)	呼吸 消耗(%)	绝对生物学 效率(%)	不同阶段每天 呼吸消耗(%)	纤维素		半纤维素		木质素	
						含量(%)	减少(%)	含量(%)	减少(%)	含量(%)	减少(%)
0	89.88					30.16		20.65		19.76	
25	81.05	9.82	9.82		0.39	31.92	4.56	21.78	4.89	19.45	11.24
36	78.86	12.26	12.26		0.27	32.26	6.15	22.18	5.76	18.94	15.90
44	56.54	37.09	24.75	12.34	1.56	27.03	43.62	19.55	40.44	17.31	44.89
70	39.28	56.30	38.15	18.15	0.52	21.54	68.79	15.96	66.22	13.53	70.08

2.2.2 纤维素、半纤维素和木质素的降解: 表1显示, (1) 鸡腿菇具有较强的木质纤维素降解能力且优先利用木质素, 这不同于金针菇、玉蕈和四孢蘑菇等^[9-11]。木质素的优先利用, 有利于纤维素、半纤维素的降解。(2) 纤维素和半纤维素的降解速率在头潮菇原基形成后加快且这种较高的降解速率一直保持到栽培结束。这可能与纤维分解酶活性高峰出现在子实体生长发育期(表3)、栽培基质中淀粉等非木质纤维素组分的减少(由表2推测得出)以及木质素的优先利用(表1、表2)有关。

表2 鸡腿菇不同生长阶段培养基中木质纤维素的降解量与培养基失重的比值

阶段(d)	CR(g)	HCR(g)	LR(g)	LCR(g)	SR(g)	CR/SR×100	HCR/SR×100	LR/SR×100	LCR/SR×100
0~25	1.24	0.91	2.00	4.15	8.83	14.04	10.31	22.65	47.00
25~36	0.43	0.16	0.83	1.42	2.19	19.63	7.31	37.90	64.84
36~44	10.16	6.44	5.15	21.75	22.32	45.52	28.85	23.07	97.45
44~70	6.82	4.78	4.47	16.07	17.26	39.51	27.69	25.90	93.11

CR 纤维素减少, HCR 半纤维素减少, LR 木质素减少, LCR 木质纤维素减少 = CR + HCR + LR, SR 培养基失重

2.2.3 木质纤维素的降解量与培养基失重的比值: 表2显示, 在菌丝生长阶段, 培养基失重的47.00%是由木质纤维素提供的, 则另53.00%是由非木质纤维素提供的; 在菌丝生理成熟阶段, 培养基失重最小; 在原基形成后, 培养基失重较大且其93.11%~97.45%是由木质纤维素提供的。这表明: 淀粉等非木质纤维素组分主要在菌丝生长阶段被利用, 而木质纤维素是子实体生长阶段的主要碳源。

表3 鸡腿菇在棉籽壳培养基上生长期间几种胞外酶活性变化

培养时间(d)	5	10	15	20	25	30	36	40	44	50	55	63	67	70
CMC酶	5.94	3.54	3.48	2.71	2.95	1.12	1.10	8.64	14.78	6.74	4.64	3.78	2.33	7.85
FP酶	2.02	3.45	2.84	3.36	3.51	2.62	3.30	7.23	5.47	4.22	3.77	2.81	2.30	3.35
HC酶	7.14	12.18	9.36	12.75	13.21	4.44	10.95	21.22	35.73	25.31	15.74	7.00	5.61	28.34
漆酶	9.72	13.25	10.79	14.81	15.28	18.01	38.13	31.29	13.07	12.36	19.38	31.07	26.33	9.65
过氧化物酶	1.61	5.57	5.81	2.13	4.35	5.13	4.51	0	0	2.57	2.86	0	0	0
淀粉酶	5.90	9.71	7.97	8.57	4.28	3.19	2.77	3.68	2.89	3.02	2.05	1.22	2.17	2.21
蛋白酶	151	340	210	423	358	521	205	1080	1320	710	530	390	1021	920

2.3 鸡腿菇的几种胞外酶活性变化

2.3.1 纤维分解酶活性变化: 表3显示, 在菌丝生长阶段和菇潮间期 CMC 酶、FP 酶和 HC 酶活性均较低, 在子实体生长发育阶段这3种酶均有活性高峰出现, 这与许多研究相似^[10-13]。这一结果结合表1、表2可以看出, (1) CMC 酶、FP 酶和 HC 酶的活性变化与纤维素、半纤维素的降解速率正相关; (2) 纤维分解酶活性高峰出现在子实体生长发育阶段, 这有利于培养基中纤维素、半纤维素的降解, 满足子实体生长发育迅速

增长的碳源需求。

2.3.2 木质素分解酶活性变化:表3显示,漆酶在两潮菇的原基至幼菇期(36~40d和63~67d)活性均较高,而过氧化物酶在子实体生长发育阶段活性消失。当我们用稻草栽培鸡腿菇时,过氧化物酶活性比本研究用棉籽壳栽培鸡腿菇要高出十几倍,但在子实体生长发育阶段活性也消失。这种现象结合表1、表2可以看出:漆酶的活性变化与木质素的降解速率正相关而过氧化物酶的活性变化与木质素的降解速率没有相关性。在过氧化物酶活性消失时其它木质素分解酶是否在起作用,值得深入研究。

2.3.3 淀粉酶和蛋白酶活性变化:表3显示,(1)淀粉酶在菌丝生长阶段活性较高,25d后总体上呈下降趋势,这与淀粉等非木质纤维素组分主要在菌丝生长阶段被利用的结果基本一致。(2)蛋白酶的活性高峰出现在子实体生长发育期,这一结果与玉蕈和香菇相似^[10,13]。这种现象有利于培养基中蛋白质的降解,满足子实体生长发育迅速增长的氮源需求。

参 考 文 献

- [1] 王玉万,徐文玉.微生物学通报,1987,14(2):81~84.
- [2] 潘迎捷,倪新江,李人圭.食用菌学报,1995,2(2):18~22.
- [3] Mandels M, Hontz L, Nystrom J, et al. Biotechnol Bioeng, 1974, 16: 1471~1493.
- [4] 王玉万,王云.微生物学通报,1989,16(3):137~189.
- [5] Shamala T R, Screebantian K R. Enzyme Microb. Technol, 1986, 8(3):178~182.
- [6] 潘迎捷,陈明杰,郑海歌,等.上海农业学报,1991,7(2):21~26.
- [7] 张志良主编.植物生理学实验指导(第二版).北京:高等教育出版社,1990,154~155.
- [8] 张树政主编.酶制剂工业(下册).北京:科学出版社,1984,446~447.
- [9] 傅国平,袁生,虞光华.微生物学通报,1999,26(4):237~241.
- [10] 王玉万,潘贞德,李秀玉,等.真菌学报,1993,12(3):219~225.
- [11] 郭倩,何庆邦.食用菌学报,1998,5(2):13~17.
- [12] 李田春,王玉万,王云.中国食用菌,1992,11(2):8~10.
- [13] 倪新江,潘迎捷,冯志勇,等.食用菌学报,1995,2(4):22~27.