

滑菇营养生理研究

王玉万

王云

(辽宁本溪师范专科学校生物系)

(中国科学院沈阳应用生态研究所)

摘要 本文研究了滑菇在木屑-麦麸基质上生长期间,菌体对基质的转化效率和基质中主要组分的降解规律。实验结果表明:子实体绝对生物学效率为 12.43%,产量系数为 16.94%。子实体阶段的木素、半纤维素和纤维素的降解量以及非木质纤维素组分的减少量占子实体阶段基质中干物质减少量的百分比值分别为:5.85、17.54、49.13 和 27.48%。由此可见,纤维素是子实体生长阶段的主要碳源。滑菇在菌丝生长和子实体生长阶段分别有纤维素酶和半纤维素酶的活性高峰出现。进一步证明了:子实体阶段这两种酶的活性增加与子实体形成有密切关系。

关键词 滑菇;木质纤维素;降解;纤维素酶;半纤维素酶;子实体阶段碳素来源

滑菇 (*Pholiota nameko*) 是一种鲜嫩味美、营养丰富的食用菌,在日本已有 70 年左右的栽培历史,近 10 多年在我国东北三省栽培也很普遍。人工栽培滑菇主要以木屑为基质。但是对于该菌分解利用木屑的生理生化规律缺乏较为系统的研究。本文重点研究了滑菇在木屑-麦麸基质上生长过程中,基质中的木素、半纤维素和纤维素的降解规律及有关酶学分析,以便为深入研究滑菇的营养生理奠定基础。

材料与方法

(一) 菌种和培养

1. 供试菌株:日本滑菇 (*Pholiota nameko*)“奥羽 2 号”。

2. 培养:在 500 ml 广口瓶中加入阔叶树木屑 70 g,麦麸 17 g, CaCO_3 1 g,培养液(含 KH_2PO_4 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g,葡萄糖 0.5 g) 160 ml,拌匀, $1 \text{ kg}/\text{cm}^2$ 灭菌 1.5 小时,接种,0—20 天的培养温度为 23—25℃,20—72、72—150、150—175、175—190 和 190—230 天的培养温度分别为 16—20、20—28、14—20、14—17 和 11—14℃。

(二) 组分分析

培养基中干物质减少(下称“培养基失重”)

和木素、半纤维素、纤维素的含量均按文献[1]中的方法测定。

(三) 酶活性测定

酶液制备和羧甲基纤维素酶(CMC 酶)、滤纸纤维素酶(FP 酶)及半纤维素酶的活性测定均按文献[2]中的方法进行。CMC 酶活力单位为: $1 \text{ u} = 1 \text{ mg}$ 葡萄糖/30 min·g 干培养物。FP 酶活力单位为: $1 \text{ u} = 1 \text{ mg}$ 葡萄糖/60 min·g 干培养物。半纤维素酶活力单位为: $1 \text{ u} = 1 \text{ mg}$ 木糖/30 min·g 干培养物。

结果与讨论

(一) 基质组分含量变化

1. 培养基失重量与呼吸消耗量(表 1):滑菇在培养 230 天后,培养基中的干物质减少了 73.36%,其中 60.93% 是被菌体呼吸过程消耗掉了,另外 12.43% 转化为子实体生物量(即绝对生物学效率),由此可计算出基质中由呼吸作用消耗掉的有机质量与子实体干物质质量的比值为 4.902,产量系数(子实体干重/培养基失重 $\times 100$)为 16.94%。可见,滑菇对基质的有效利用率很低。这是因为滑菇营养生长期太长,从而使培养基中大部分有机质被菌体呼吸作用

消耗掉了。

2. 木质纤维素降解 (表 2): 在栽培结束时,培养基中的纤维素、半纤维素和木素分别减少了 86.01%、92.98% 和 86.88%,由此可见滑菇是一种分解木屑能力很强的木腐菌。

表 1 滑菇生长过程中基质中几种主要组分含量及减少量

培养时间 (d)*	基质中干物质减少量 (%)**	呼吸消耗量 (%)***	纤维素		半纤维素		木素	
			含量 (%)	减少 (%)	含量 (%)	减少 (%)	含量 (%)	减少 (%)
0			32.26		25.62		20.09	
18	8.41	8.41	33.00	6.32	22.18	18.46	15.69	28.49
125	42.46	42.46	37.77	32.64	10.81	75.72	8.82	74.75
199	54.39	54.39	30.33	57.13	11.25	80.00	8.22	81.35
230	73.36	60.93	16.94	86.01	6.75	92.98	9.89	86.88

* 0—18 天: 菌丝迅速生长期; 18—199 天: 菌丝生理成熟期; 199—230 天: 子实体生长阶段
** 基质中干物质减少量 (%) = (A - B) / A × 100
*** 呼吸消耗量 (%) = (A - B - C) / A × 100
A: 接种前基质干重; B: 培养后基质干重;
C: 子实体干重。

从表 1 还可以看出,在菌丝体生长阶段 (0—199 天),木素与半纤维素的降解速率大于纤维素,但在子实体阶段 (199—230 天)纤维素的降解速率远远大于木素与半纤维素。子实体阶段纤维素的降解量显著增加,其主要原因有五个方面: (1) 在菌体发育进入子实体阶段时,基质中纤维素含量远高于半纤维素和木素,大约为 3—4 倍。 (2) 子实体阶段纤维素酶活性显著增加。 (3) 在滑菇原基出现时 (第 199 天),木屑中阻碍纤维素酶解的木素和半纤维素含量已减少了 80% 左右 (表 1),这对于纤维素的降解是十分有利的^[1,3-11]。由此说明,滑菇在营养生长阶段,木素和半纤维素的大量分解是

有重要生理意义的。 (4) 根据我们最近提出的木腐类高等担子菌分解纤维素的“代谢平衡”观点^[3]。我们认为,纤维素酶活性高峰对应于子实体生长阶段出现,这样可以加强培养基中胞外酶解产物的吸收与转化速率,从而可以使培养物中已有的胞外纤维素酶更有效的发挥出水解活力,这是子实体阶段纤维素降解率增加的重要原因之一。 (5) 在子实体阶段培养基中 pH 值在 3.8—4.1 左右,接近于滑菇纤维素酶的最适反应 pH 值 (pH 4.0—4.2)。

3. 培养不同阶段木质纤维素降解量与培养基失重量的比值 (表 2): 测定培养不同阶段木素、半纤维素、纤维素的降解量与培养基失重量的比值可进一步的了解菌株不同生长阶段的营养特点。从表 2 可见: (1) 在菌丝体迅速生长阶段木质纤维素降解量大于培养基失重量。说明菌丝迅速生长阶段基质中胞外还原糖含量迅速减少。此阶段降解的木质纤维素有一部分转化为菌丝体生物量,此量相当于这一期间木质纤维素降解量的 32% 左右。 (2) 菌丝体生理成熟阶段木质纤维素降解量略低于培养基失重量。说明此阶段培养物中非木质纤维素成分的总量不在增加,并且此阶段的菌丝体呼吸还将消耗掉少量的非木质纤维素营养物质,此量相当于这一期间培养基失重量的 6.96%。 (3) 子实体生长阶段消耗的营养物质 (用于呼吸和构建子实体) 有 49.13% 是来自于纤维素的降解, 17.54% 是来自于半纤维素的降解, 5.85% 是来自于木素的降解, 27.48% 是来自于菌丝体生物量或是菌丝体转化产物。由此可见,纤维素是子实体生长发育阶段的重要碳源。因此,子实体阶段纤维素降解量将对子实体生长有重要的影响。这进一步说明了,滑菇在菌丝体营

表 2 滑菇不同生长阶段培养基中木质纤维素减少量与培养基失重量的比值

培养时间 (天)	LR(g)	HCR(g)	CR(g)	LCR(g)	SR(g)	LR/SR × 100	HCR/SR × 100	CR/SR × 100	LCR/SR × 100
0—18	4.49	3.71	1.60	9.80	6.60	68.03	56.21	24.24	148.48
18—199	8.33	12.37	12.86	33.56	36.07	23.09	34.29	35.65	93.04
199—230	0.87	2.61	7.31	10.79	14.88	5.85	17.54	49.13	72.51

“LR”: 木素减少; “HCR”: 半纤维素减少; “CR”: 纤维素减少; “LCR”: 木质纤维素减少 = LR + HCR + CR;
“SR”: 培养基失重

养生长阶段大量的降解木素和半纤维素是具有重要的生理意义的,这有利于子实体阶段培养基中纤维素的酶解^[4,3-10],从而提高子实体阶段的营养供给量。(4)子实体阶段半纤维素降解量不多,这并非是酶活力不够,而是与培养基中半纤维素含量在进入子实体阶段时即已显著减少有关。

分析上述结果,我们认为有必要进一步研究菌丝体生理成熟期的长短(可采用延迟或提前低温处理来控制)对子实体阶段营养来源和子实体产量及产量系数的影响。这对深入了解滑菇的营养限制因子和指导滑菇栽培具有重要的参考价值。

(二) 滑菇生长阶段纤维分解酶活性(图1)

从图1可见,滑菇在菌丝迅速生长阶段和子实体生长阶段基质中均有 CMC 酶、FP 酶和半纤维素酶的活性高峰出现。充分证明了酶活性高峰对应于子实体生长阶段出现,充分发挥出酶的水解活力,提高子实体阶段的营养供

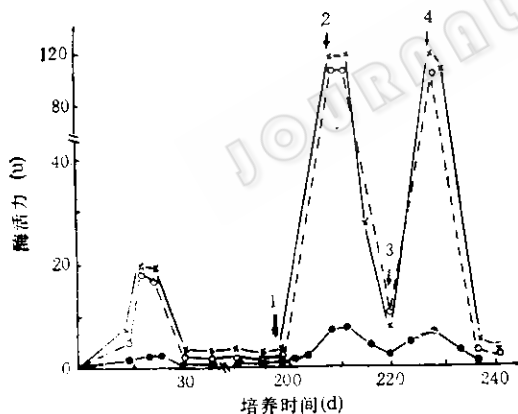


图1 滑菇栽培过程中培养基中胞外纤维分解酶活性
“○” CMC 酶: 1 u = 1 mg 葡萄糖/30 min·g 干培养物
“●” FP 酶: 1 u = 1 mg 葡萄糖/60 min·g 干培养物
“×”半纤维素酶: 1 u = 1 mg 木糖/30 min·g 干培养物
“1↓、2↓、3↓、4↓”分别表示头潮菇蕾期、成熟期和二潮菇蕾期、成熟期

给,这对于子实体的生长发育是十分有利的。

从图1还可以看出,在头潮菇与二潮菇子实体迅速生长阶段酶活性迅速增加,而在菇潮间期(212—220天)酶活性显著下降,说明酶活性增加与子实体生长有关。我们进一步实验表明:当在25℃培养或用切除菇蕾的方法来抑制子实体形成时,在相应于子实体生长阶段(以有子实体形成的培养物为对照)的培养物中没有纤维分解酶活性高峰出现,酶活力在10—18 u左右。这一结果提示我们:低温是诱导该菌株子实体形成的必要条件,而子实体生长发育可调节菌丝细胞中纤维素酶和半纤维素酶的合成活性。但是,这种调节作用的生化机制尚不清楚,有待深入研究。揭示这一问题不但有助于了解滑菇纤维素酶基因表达的调节机制,还可为深入探讨子实体阶段的营养代谢调节和子实体分化机制提供新的资料和研究思路。

参 考 文 献

1. 王玉万,徐文玉:东北师大学报(自然科学版)4: 85—91,1986。
2. 王玉万,王云:微生物学通报,1991(待发表)。
3. 王玉万,王云:食用菌新技术汇编,大工出版社,1990年(待出版)。
4. Rajarathnam S et al.: *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 8:125—134, 1979.
5. Detroy R W et al.: in: *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, (Charles D. Scott, ed.) 10: 135—148, 1980.
6. Kaneshiro T: *Developments in Industrial Microbiol.* Vol. 18. *Proceedings of the Thirty-Third General Meeting of the Society for Zndustrial Microbiology* August 14—20, 591—597, 1976.
7. Kornelia Z-H: *Biotech. Bioeng.* 26(4): 384, 1984.
8. Zeikus J G: in: *Advances in Microbial Ecology*, 5: 211—237, 1981.
9. Grohmann K et al.: *Biotech. Bioeng. Suppl.* 15: 59—80, 1985.
10. Fontana J D et al.: *Biotech. Bioeng. Symp.* 14: 175—186, 1984.
11. Dekker R F H et al.: *Biotech. Bioeng.* 25(12): 3027—3048, 1983.