

鸡腿蘑对基质的降解及有关酶活性变化特点研究

暴增海¹, 马桂珍¹, 吴智艳²

(1. 河北职业技术师范学院, 河北 秦皇岛, 066000; 2. 河北廊坊师范学院生物系)

摘要: 研究测定了鸡腿蘑在稻草—麸皮基质上生长期间羧甲基纤维素酶、滤纸酶、半纤维素酶活性的动态变化及其与子实体生长的关系, 以及鸡腿蘑对木质纤维素的降解规律。结果表明: (1) 菌丝体阶段上述三种酶的活性均很低, 随着子实体的生长发育, 酶活迅速提高, 成熟时达到高峰, 然后急剧下降; (2) 菌丝体阶段和子实体阶段均能很好降解利用半纤维素, 而纤维素主要在于子实体阶段大量分解利用, 木质素在整个栽培过程中仅有少量降解。

关键词: 鸡腿蘑; 稻草; 降解; 羧甲基纤维素酶; 滤纸酶; 半纤维素酶

中图分类号: S646.1⁺5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2002)03-0054-02

鸡腿蘑(*Coprinus comatus*)俗称毛头鬼伞, 是我国北方重要的野生食用菌资源, 主要分布于我国山西、辽宁等地。鸡腿蘑肉质鲜嫩, 营养成分丰富, 味道鲜美, 是一种很有开发前途的食用菌。有关鸡腿蘑的某些生物学特性已有报道^[1,2], 而对该菌生理生化基础方面则缺少研究。为此, 本文着重对鸡腿蘑在稻草—麸皮基质上的生长过程中, 对于基质上的木质纤维素的降解规律以及有关多糖分解酶的活力变化进行研究, 为进一步了解鸡腿蘑的营养特性和人工栽培提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 菌种与培养

1.1.1 菌种 鸡腿蘑 C₈₉, 采自野生种, 通过组织分离获得。

1.1.2 培养 在 500 ml(毫升)罐头瓶中加入稻草 50 g(克), 麸皮 10 g(克), 水 110 ml(毫升), 混合拌匀, 表面轻轻压平, 中心打孔。于 121 °C 灭菌 2 h(小时), 接种, 在 24 °C 培养。当菌丝长满基质后, 取出置于 18 °C~20 °C 进行出菇培养。

1.2 组分分析

取不同培养时间的底物 1 g(克), 于 70 °C~80 °C 烘干, 打碎, 测定其失重量, 纤维素、半纤维素和木质素的含量, 测定方法和计算方法参照王玉万等^[3,4]的方法。

1.3 酶活测定

1.3.1 酶液制备 取不同培养时间的培养物 1 g(克), 打碎, 加水 10 ml(毫升), 室温浸提 4 h(小时), 用 4 层纱布过滤, 即得粗酶液。

1.3.2 羧甲基纤维素酶活性测定 在酶解管中加入 0.5% 的羧甲基纤维素钠溶液(用 pH4.5, 0.1 mol/L(摩尔/升)柠檬酸缓冲液配制)1.5 ml(毫升), 之后加入粗酶液 0.5 ml(毫

升), 于 50 °C 水浴中准确保温 30 min(分), 取出后立即加入 DNS 试剂 1.5 ml(毫升), 于 100 °C 水温中保温 5 min(分), 取出冷却后加入蒸馏水 21.5 ml(毫升), 混匀, 用 752G 型分光光度计测 E_{520nm} 值, 由标准曲线求得含糖量。对照管在加入 DNS 试剂后, 再加入 0.5 ml(毫升)酶液, 其它操作与酶解管相同。酶解管糖量减去对照管糖量即为 0.5 ml(毫升)酶液 30 min(分)水解羧甲基纤维素钠产生的还原糖量。酶活力单位为 I_u 干培养物 = 1 mg(毫克)葡萄糖/30 min(分). g(克)。

1.3.3 滤纸纤维素酶活性测定 于酶解管和对照管各加入一条新华 1 号滤纸(1×6 cm(厘米)), 而后各加入柠檬酸缓冲液(pH4.5, 0.1 mol/L(摩尔/升))1.0 ml(毫升), 再向酶解管中加入粗酶液 1 ml(毫升), 于 50 °C 准确保温 60 min(分), 其后操作与羧甲基纤维素酶测定相同。酶活力单位: I_u 干培养物 = 1 mg(毫克)葡萄糖/60 min(分). g(克)。

1.3.4 半纤维素活性测定 在酶解管中加入 0.5% 的玉米芯半纤维素溶液(用 pH4.8, 0.1 mol/L(摩尔/升)的乙酸盐缓冲液配制)1.5 ml(毫升), 而后加入粗酶液 0.5 ml(毫升), 于 50 °C 水浴中准确保温 30 min(分), 其后操作与羧甲基纤维素酶活性测定相同。酶活力单位为 I_u 干培养物 = 1 mg(毫克)木糖/30 min(分). g(克)。

2 结果与分析

2.1 基质中几种多糖分解酶活性的变化

培养基中酶活性的存在是鸡腿蘑对基质降解利用的前提, 测定栽培过程中基质某些酶的活性变化规律有助于深入了解菌株生长发育过程中生理生化的变化。

表 1 鸡腿蘑培养期间稻草基质中主要成分含量变化

培养时间 (d)	基质重量 (g)	基质失重 (%)	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	53.48			31.60		18.20		8.24	
24	48.23	9.81	9.81	34.27	1.10	12.53	29.34	9.47	1.23
36	38.42	28.10	18.24	30.67	25.57	13.54	36.72	10.25	3.24

注: (C) 基质失重% = A - B / A × 100%, 其中为 A 培养前基质干重; B 为培养后基质干重; 呼吸消耗(%) = C - D / A × 100%; D 子实体重量。

研究发现, 鸡腿蘑在稻草—麸皮培养基上生长期, 基质



第一作者简介: 暴增海, 1962 年生, 1985 年毕业于河北农大植保系植保专业获农学学士学位, 1996 年获沈阳农业大学植物病理学硕士学位。毕业后一直从事食用菌的教学和科研工作。

收稿日期: 2002-02-17

中释放出羧甲基纤维素酶、滤纸纤维素酶和半纤维素酶。同时在培养初期(0~24 d(天)), 基质中该三种酶的活力均较低。24 d(天)后即原基出现后该三种酶活性迅速升高, 酶活性高峰出现在接种后 36 d(天)左右。随后该三种酶类活力迅速下降。子实体阶段纤维分解酶活性增加, 从而提高了基质中纤维素和半纤维素的降解量, 进而提高了碳素供应量。为子实体的生长提供了必要的营养物质。

2.2 基质中有机物质的降解

基质失重和呼吸消耗的有机质: 从表 1 可以看到, 鸡腿蘑在菌丝生长阶段基质减少不多, 其减少量为基质重的 18.34%, 而在子实体阶段干物质质量显著减少(为基质重的 34.20%)。同时表明, 菌株对基质的不同组成成分的分解能力不同; 菌株的生长阶段不同, 对底物成分的利用也存在着明显差异。基物的失重主要是由于呼吸过程释放出 CO₂ 和 H₂O 的缘故。在菌丝体阶段基物的失重为 9.81%, 每天降解 0.41%。子实体阶段基物失重为 18.29%(其中 8.96% 转化为子实体生物量), 每天失重为 1.52%, 为菌丝体阶段的 3.71 倍。这说明子实体阶段的代谢较菌丝体阶段旺盛。纤维素的降解主要发生在子实体阶段, 子实体成熟时降解 25.57%, 而菌丝体阶段仅利用 1.10%; 半纤维素在菌丝体阶段即被大量降解, 减少 29.34%, 子实体成熟时降解 36.72%; 鸡腿蘑对木质素的降解利用能力较差, 整个培养过程仅减少 3.24%。从表 1 还可以看出, 稻草—麸皮培养基中木质纤维素含量为 58.04%, 非木质纤维素组分为 41.96%, 这些非木质纤维素有机质都是菌丝体易于利用的营养物质。

2.3 不同培养阶段木质纤维素降解量与基物失重的比值

测定培养不同时期木质纤维素减少量与基物失重的比值, 可以看出菌种的不同发育阶段的营养特点。测定结果见表 2。

表 2 不同培养阶段木质纤维素降解量与基物失重的比值(%)

培养阶段	SR (g)	CR (g)	HCR (g)	LR (g)	LCR (g)	CR/SR ×100	HCR/SR ×100	LR/SR ×100	LCR/SR ×100
菌丝阶段	6.28	0.21	2.98	0.25	3.04	3.34	47.45	3.98	48.41
子实体阶段	11.27	4.62	1.11	0.26	6.01	40.99	9.85	2.31	53.33

由表 2 可以看到, 菌丝体阶段利用非木质纤维素 3.24 g(克), 大于木质纤维素的降解量(3.04 g(克)), 而木质纤维素主要是半纤维素的降解(2.98 g(克)), 纤维素和木质素的降解量很少, 分别为 0.21 g(克)和 0.25 g(克)。子实体阶段鸡腿蘑对木质纤维素的降解能力增强, 降解量为基物失重的 53.33%, 其中纤维素的降解比值由菌丝体阶段的 3.34% 上升到子实体阶段的 40.99%, 非木质纤维素的降解量占基物失重的 46.67%。仍然是子实体阶段的重要营养来源。由此可见, 基质中非木质纤维素组分及含量对子实体发育是很重要的。

3 讨论

通过测定鸡腿蘑在稻草—麸皮基质上培养过程中对基质的降解和酶活性的变化, 在科学利用稻草、麸皮为栽培基质, 提高稻草的有效转化率中有其实用价值。研究结果表明, ①

菌丝体阶段, 鸡腿蘑主要分解非木质纤维素和半纤维素做为营养物质。子实体生长发育阶段的营养是由非木质纤维素、纤维素提供的。②菌丝体阶段, 羧甲基纤维素酶、滤纸纤维素酶、半纤维素酶的活性较低, 从原基出现后, 酶活迅速提高。子实体成熟时达到高峰, 说明纤维分解酶活性增加与子实体生理生化有着十分密切的关系。对此值得深入研究, 这将有助于从营养代谢角度了解子实体发生的生理生化机制。③不同食用菌种类对同一培养基质的降解及酶活变化规律存在着差异, 同一食用菌菌株对不同培养基质的降解及有关酶的活性变化也存在着差异。

在食用菌的研究中发现, 胞外多糖分解酶的活跃程度与食用菌的生长发育以及生物量息息相关。陈玉梅等^[8]对 14 属 17 种高等担子菌中近 30 个菌株的酶活性进行了研究, 发现所有供试菌株都有很强的羧甲基纤维素酶活性, 但其活性在不同菌株间存在着较大的差异。郭倩^[9]等在四孢蘑菇的研究中发现, 随着子实体发育阶段羧甲基纤维素酶和滤纸纤维素酶活性迅速增加, 基质甲纤维素和半纤维素的降解量也显著增加, 二者之间存在着明显的因果关系。同时酶活性的峰值和低谷与子实体的发育状态呈正相关。Claydon^[10]在研究双孢蘑菇时发现, 胞外纤维素酶的活性的峰值的高低与子实体的生物量呈正相关, 如果采取随时去除原基的方法抑制出菇, 可以使酶活性一直处于低水平状态。

另外关于纤维素酶的活性检测, 也可采用沈业寿^[11]改进的固体支持物超薄层琼脂板扩散法快速进行。该方法敏捷、快速, 特别是在酶活低的情况下, 不需对酶液进行浓缩即可检测, 比较适合食用菌纤维素酶的研究。

参考文献

- [1] 暴增海, 马桂珍. 鸡腿蘑生物学特性研究[J]. 河北林学院学报, 1993, 8(3): 244~247.
- [2] 暴增海. 鸡腿蘑菌丝生长的营养条件研究[J]. 安徽农业大学学报, 1999, 26(3): 368~370.
- [3] 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[J]. 微生物学通报, 1987(2): 81~84.
- [4] 王玉万, 王云. 构菌栽培过程中对木质纤维素的降解和几种多糖分解酶活性的变化[J]. 微生物学通报, 1989(3): 137~139.
- [5] 李田春. 糙皮侧耳栽培期间对豆秸的降解及有关酶活的变化[J]. 微生物学与应用, 1991(1): 15~17.
- [6] 李田春, 王玉万, 王云. 糙皮侧耳对玉米秸的降解利用[J]. 中国食用菌, 1992, 11(2): 8~10.
- [7] 王云, 王玉万, 谢晨曦. 黑木耳对木质纤维素的降解[M]. 食用菌新技术汇编. 大连: 大连理工大学出版社, 1990.
- [8] 陈玉梅, 李丽娜, 叶韵娴等. 高等担子菌菌丝纤维素酶的初步研究[J]. 中国食用菌, 1987, 6(1): 7~9.
- [9] 郭倩, 何庆邦. 四孢蘑菇生长过程中四种胞外酶活性和木质纤维素降解的变化规律[J]. 食用菌学报, 1998, 5(2): 13~17.
- [10] Claydon N, Allar M, Wood DA. Fruitbody biomass regulated production of extracellular endocellulase during periodic fruiting by *Agaricus bisporus*. Trans. Br. Mycol. Sci. 1988, 90(1): 85~90.
- [11] 沈业寿, 王光存, 陈斌. 超薄层琼脂板扩散法快速检测纤维素酶[J]. 中国食用菌, 1994, 13(5): 33~35.