



王瑞娟

上海市农业科学院食用菌研究所副研究员，从事金针菇等食用菌的遗传研究及工厂化新品种的选育、推广工作 10 余年。主持或参加 30 多项国家级和省部级科研项目，获得上海市科技进步一等奖 1 项（3），选育上海市认定食用菌新品种 6 个，发表学术论文 20 余篇，获得授权发明专利 5 项。



徐宁

湖南省食用菌研究所助理研究员，博士，湖南省科技特派员，主要研究方向为食药菌栽培与功能活性成分。主持或参与国家、省、市级科技攻关项目 20 多项，参与完成科技成果登记 10 多项，发表学术论文 10 余篇，SCI 论文 2 篇，获得授权专利 2 项，参与编著 2 部。

不同碳氮源对花脸香蘑胞外酶活性的影响

陆欢^{1,2} 王小艳² 尚晓冬¹ 王瑞娟^{1*} 徐宁^{2*}

①上海市农业科学院食用菌研究所 农业农村部应用真菌资源与利用重点开放实验室 国家食用菌工程技术研究中心 上海市农业遗传育种重点实验室 上海 201403

②湖南省食用菌研究所 湖南 长沙 410013

摘要：以花脸香蘑 *Lepista sordida* 为材料，研究其分别在 9 种碳源和 11 种氮源液体培养条件下不同阶段 pH 值和葡萄糖浓度的变化，以及不同碳氮源对其所分泌的木质素过氧化物酶、羧甲基纤维素酶、锰过氧化物酶和漆酶活性的影响。结果表明，pH 值在不同碳源培养后期变化显著（ $P<0.05$ ），而在不同氮源培养阶段无明显变化（ $P>0.05$ ），葡萄糖浓度和菌丝量在不同碳氮源中也无显著差异（ $P<0.05$ ）。不同碳源和氮源培养基对花脸香蘑木质素过氧化物酶、羧甲基纤维素酶、锰过氧化物酶和漆酶活性均具有影响（ $P<0.05$ ）。木糖和米糠有利于花脸香蘑分泌羧甲基纤维素酶（ $P<0.05$ ），红糖和牛肉浸膏有利于其分泌漆酶（ $P<0.05$ ），白砂糖和豆粉有利于其分泌锰过氧化物酶（ $P<0.05$ ），木糖和尿素有利于其分泌木质素过氧化物酶（ $P<0.05$ ）。本研究为选择合适培养基以提高花脸香蘑生物转化效率提供了理论基础。

关键词：花脸香蘑，碳氮源，胞外酶，pH 值，菌丝生物量

基金项目：湖南省自然科学基金（2019JJ50330）；上海市农业科学院卓越团队建设计划[2017(A-02)]

Supported by Natural Science Foundation of Hunan Province (2019JJ50330), and SAAS Program for Excellent Research Team [2017(A-02)].

* Corresponding authors. E-mail: ruijuanwang@yeah.net, 1050353232@qq.com

ORCID: LU Huan (0000-0001-7267-6016), XU Ning (0000-0002-1056-8586), WANG Rui-Juan (0000-0003-3357-9445)

Received: 2021-09-06, accepted: 2021-09-15

[引用本文] 陆欢, 王小艳, 尚晓冬, 王瑞娟, 徐宁, 2021. 不同碳氮源对花脸香蘑菇胞外酶活性的影响. 菌物学报, 40(12): 3286-3303
Lu H, Wang XY, Shang XD, Wang RJ, Xu N, 2021. Effects of different carbon and nitrogen sources on extracellular enzyme activities of *Lepista sordida*. Mycosystema, 40(12): 3286-3303

Effects of different carbon and nitrogen sources on extracellular enzyme activities of *Lepista sordida*

LU Huan^{1, 2} WANG Xiao-Yan² SHANG Xiao-Dong¹ WANG Rui-Juan^{1*} XU Ning^{2*}

①Key Laboratory of Applied Fungal Resources and Utilization (South), Ministry of Agriculture of China, National Engineering Research Center of Edible Fungi, Shanghai Key Laboratory of Agricultural Genetics and Breeding, Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China

②Institute of Hunan Edible Fungi, Changsha, Hunan 410013, China

Abstract: *Lepista sordida* was used as experimental material to study the variation of pH-value and glucose concentration and lignin peroxidase, carboxymethyl cellulase, manganese peroxidase, and laccase activities in liquid cultures containing different carbon and nitrogen sources (9 carbon and 11 nitrogen sources). The results showed that the pH-value changed significantly in the later period of culture using different carbon sources ($P<0.05$), but there was no significant change in the cultures with different nitrogen sources ($P>0.05$). The glucose concentration and mycelial biomass were not significantly different in the cultures with different carbon and nitrogen sources ($P<0.05$). The activities of lignin peroxidase, carboxymethyl cellulase, manganese peroxidase and laccase varied with different carbon source and nitrogen sources ($P<0.05$). Xylose and rice bran were conducive to the secretion of carboxymethyl cellulase ($P<0.05$), and brown sugar and beef extract were conducive to the secretion of laccase ($P<0.05$); white granulated sugar and bean powder were conducive to the secretion of manganese peroxidase ($P<0.05$), and xylose and urea were conducive to the secretion of lignin peroxidase ($P<0.05$). This study provided a reference for the selection of appropriate medium to improve the efficiency of biotransformation of *L. sordida*.

Key words: *Lepista sordida*, carbon and nitrogen sources, extracellular enzymes, pH value, mycelial biomass

花脸香蘑 *Lepista sordida* (Schumach.) Singer, 又名紫晶口蘑、丁香蘑等, 属担子菌门 Basidiomycota、伞菌纲 Agaricomycetes、伞菌目 Agaricales、口蘑科 Tricholomataceae (戴玉成和杨祝良 2008; 戴玉成等 2010; 李传华等 2013), 主要分布于中国和欧洲等地。花脸香蘑营养丰富, 含有多糖、二萜等

多种活性物质 (Mazur *et al.* 1996), 是一种兼具较高营养及药用价值的珍稀食用菌, 拥有极大的开发价值。培养基质对食用菌的菌丝生长速率、生物学效率、营养价值和产量都有显著的影响 (Philippoussis *et al.* 2001; Isikhuemhen & Mikiashvilli 2009)。目前花脸香蘑以稻草、玉米、小麦秸秆和菌渣等为主要

生长基质,因产量不稳定、生物学转化率较低等原因,目前为止该种食用菌还未能实现标准化和规模化种植。

木质纤维素是地球生物物质中含量最丰富的成分之一,每年的产量超过 1 800 亿吨,且木质纤维素生物精炼已经作为未来可持续发展的可再生化学品、材料和燃料的来源,受到了相当大的关注 (Schutyser *et al.* 2018; Dahmen *et al.* 2019)。花脸香蘑菇生产过程与草菇、双孢蘑菇一致,也是对木质纤维素进行降解转化的过程,木质纤维素主要由纤维素、半纤维素和木质素组成,不同栽培基质的木质纤维素含量、组成结构均不相同。其中木质素是由几种醇单体形成的一种复杂酚类聚合物,不溶于任何溶剂,很难被降解;纤维素是植物细胞壁主要成分,主要是由 D-吡喃葡萄糖以 β -1,4 糖苷键连接而成的天然链状高分子多糖物质 (Kameshwa & Qin 2016; 马鸿飞等 2018); 木质素与半纤维素相连,形成了复杂致密的网络结构。此外,木质纤维素降解酶主要包括纤维素降解酶系、半纤维素降解酶系和木质素降解酶系。真菌是具有最高自然降解木质纤维素底物能力的生物,这是由真菌胞外酶的复杂系统所促成的。这些胞外的木质纤维素酶主要包括锰过氧化物酶 (manganese peroxidase)、木质素过氧化物酶 (lignin peroxidase)、漆酶 (laccase) 等,且都与木质素降解相关,而胞外酶的表达和分泌又取决于底物和环境的特性 (高锋等 2017)。如 Weng *et al.* (2008) 报道了真菌漆酶的性质、结构和功能; 吴怡等 (2019) 报道了真菌漆酶生产、纯化和固定化过程; 司静等 (2011b) 和吴怡等 (2020) 报道了真菌漆酶对染料的脱色作用。且漆酶作为一种环境友好的生物催化酶,能氧化大部分的芳香族化合物 (司静等 2011c; 韩美玲等 2017; Aza *et al.* 2021)。据报道,食用菌是木质素降

解酶的重要来源,其中白腐菌主要是通过酶解过程降解木材中的木质素和结晶纤维素等成分,在陆地生态系统的碳循环中发挥着关键作用 (Baldrian & Valášková 2008; Camarero *et al.* 2014; 曹永佳等 2021); 褐腐菌能完全降解多糖,但只能部分降解木质素 (Niemenmaa *et al.* 2007; Yelle *et al.* 2008; Floudas *et al.* 2014)。

木质纤维素是食用菌栽培中常用的培养基质,在食用菌生产过程中胞外酶对木质纤维素降解有显著影响,降解木质纤维素的基因在不同的培养基上诱导表达情况有差异。Tuyen *et al.* (2013) 发现废弃秸秆中含有大量的木质素,营养物质特别是氮含量低,会对微生物降解产生明显的抗性。赵长江等 (2020) 发现猴头菌 *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. 氧化酶类活性受底物影响较大,漆酶和过氧化物酶的最适碳源分别为阿拉伯胶和蔗糖,最适氮源分别为硝酸铵和谷氨酰胺。张先吉等 (2020) 发现 5 株不同灵芝 *Ganoderma lingzhi* Sheng H. Wu *et al.* 生长的最适碳源均为玉米粉、最适氮源均为黄豆饼粉,其中秸秆粉对漆酶酶活有诱导作用,玉米粉和黄豆饼粉相比其他的碳源和氮源,同样也能增强漆酶活性。陈小敏等 (2018) 研究了不同碳氮源下香菇 *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler 中尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶 (UGP) 活性,发现小分子碳源 (蔗糖、麦芽糖和甘露糖)、有机氮源 (麦麸和黄豆芽) 可以促进香菇菌丝 *ugp* 基因的转录表达水平,提高 UGP 酶活性。阿布来提·托合提热结甫等 (2020) 探讨了杏鲍菇 *Pleurotus eryngii* (DC.) Quél. 菇渣栽培草菇过程中木质纤维素的利用情况及其降解酶活性变化,使用杏鲍菇菇渣和杏鲍菇菇渣加玉米芯 2 个配方栽培草菇,不同时期的纤维素酶 (hemicellulase)、木聚糖酶 (xylanase) 和漆酶活性变化趋势大体一致,且均在发菌阶

段表现出较高的漆酶活性。司静等(2011a)筛选出高产漆酶的栓孔菌属 *Trametes* 菌株,并优化了该菌株最适产漆酶条件,酶活最高可达 19.923U/mL。郑飞等(2017)研究了白腐真菌东方栓孔菌 *Trametes orientalis* 在两种液体培养基中产漆酶过程的生理学变化,发现东方栓孔菌的漆酶活性的大小与菌株生长状况、抗氧化能力密切相关。

花脸香蘑是食药兼用的珍稀食用菌,但关于花脸香蘑对于不同碳氮营养的响应情况未见有报道。由于底物种类、培养方式和品种等因素均能对胞外酶的产量和活性起到关键作用,又因木质纤维素组分构成复杂,不利于实验室开展前期研究。因此,本试验利用 9 种碳源和 11 种氮源作为培养材料,通过液态发酵方式对花脸香蘑生长过程中漆酶、羧甲基纤维素酶、木质素过氧化物酶和锰过氧化物酶进行初步研究,以期了解花脸香蘑生育期的营养生理需求,以及花脸香蘑在营养生长过程中对碳氮的利用规律。为花脸香蘑生产栽培料的选择、栽培过程的管理及提高生物转化效率奠定理论基础,也为探究花脸香蘑对木质纤维素的降解机制和挖掘其功能基因提供依据。此外,可将酶活性作为一个重要的农艺性状指标,为后期开发花脸香蘑新品种提供理论指导和借鉴。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试菌株: 供试菌株花脸香蘑来自湖南省食用菌研究所保藏菌株。

1.1.2 试剂: 红糖、白砂糖、麸皮、米糠、豆粉、玉米粉均为市场上购买。糖蜜、蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、木糖、糊精、果糖、蛋白胨、酵母粉、麦芽浸膏、牛肉浸膏、尿素、氯化铵、硫酸铵、酒石酸、藜芦醇、乙酸、羧甲基纤维素钠、丙二酸、愈创木酚、琥珀

酸均为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司。3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)购于 Sigma 公司。

1.1.3 碳源培养基: C1: 马铃薯 200g, 红糖 20g, 无菌水定容至 1L。C2: 马铃薯 200g, 糖蜜 20g, 无菌水定容至 1L。C3: 马铃薯 200g, 白砂糖 20g, 无菌水定容至 1L。C4: 马铃薯 200g, 蔗糖 20g, 无菌水定容至 1L。C5: 马铃薯 200g, 葡萄糖 20g, 无菌水定容至 1L。C6: 马铃薯 200g, 麦芽糖 20g, 无菌水定容至 1L。C7: 马铃薯 200g, 木糖 20g, 无菌水定容至 1L。C8: 马铃薯 200g, 糊精 20g, 无菌水定容至 1L。C9: 马铃薯 200g, 果糖 20g, 无菌水定容至 1L。pH 自然, 121℃、 1×10^5 Pa 灭菌 20min。

1.1.4 氮源培养基: N1: 马铃薯 200g, 葡萄糖 20g, 蛋白胨 5g, 无菌水定容至 1L。N2: 马铃薯 200g, 葡萄糖 20g, 酵母粉 5g, 无菌水定容至 1L。N3: 马铃薯 200g, 葡萄糖 20g, 麸皮 5g, 无菌水定容至 1L。N4: 马铃薯 200g, 葡萄糖 20g, 米糠 5g, 无菌水定容至 1L。N5: 马铃薯 200g, 葡萄糖 20g, 豆粉 5g, 无菌水定容至 1L。N6: 马铃薯 200g, 葡萄糖 20g, 麦芽浸膏 5g, 无菌水定容至 1L。N7: 马铃薯 200g, 葡萄糖 20g, 牛肉浸膏 5g, 无菌水定容至 1L。N8: 马铃薯 200g, 葡萄糖 20g, 玉米粉 5g, 无菌水定容至 1L。N9: 马铃薯 200g, 葡萄糖 20g, 尿素 5g, 无菌水定容至 1L。N10: 马铃薯 200g, 葡萄糖 20g, 氯化铵 5g, 无菌水定容至 1L。N11: 马铃薯 200g, 葡萄糖 20g, 硫酸铵 5g, 无菌水定容至 1L。pH 自然, 121℃、 1×10^5 Pa 灭菌 20min。

1.1.5 DNS 试剂配置: 参照马鸿飞等(2018)的方法。

1.2 培养方法

将花脸香蘑菌种接种于 PDA 平板上,于 25℃ 条件下恒温培养 7d,用打孔器取直径为

5mm 的菌种块转接于 PDA 平板, 连续活化 3 次。用打孔器取 10 块 5mm 的菌种块接种于装有 100mL 培养基的 250mL 三角瓶中, 置于 25℃、150r/min 摇床中避光培养 8d。培养好的液体菌种用匀浆机搅拌 1min, 使其充分破碎匀质后分别向装有 100mL 碳源培养基 C1、C2、C3、C4、C5、C6、C7、C8 和 C9, 及氮源培养基 N1、N2、N3、N4、N5、N6、N7、N8、N9、N10 和 N11 的三角瓶中加入 5mL 匀质的花脸香蘑菇液体菌种, 置于 25℃、150r/min 摇床中避光培养 8d。每个处理均设置 3 次重复。

1.3 pH、葡萄糖浓度和生物量测定

摇床培养第 5–8 天, 定瓶定时取各处理的 10mL 发酵全液, 用 pH 计 (梅特勒-托利多 FE-28) 测定发酵液 pH 值, 用葡萄糖浓度计 (ATAGO PAL-15S) 测定发酵液葡萄糖浓度 (%), 测 3 次取平均值。摇瓶培养结束后, 4 层纱布过滤滤液, 无菌水洗涤 3 次, 收集菌丝球置于 50℃ 恒温烘箱中烘干至恒重, 计算菌丝生物量。

1.4 分子生物学鉴定

基因组 DNA 提取、PCR 扩增及测序参照 Fan *et al.* (2016) 的方法, PCR 产物送交生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行测定。

1.5 酶活测定

1.5.1 粗酶液提取: 摇床培养第 5–8 天, 定瓶定时取各处理的 10mL 发酵全液, 于 12 000r/min 离心 20min, 所得上清液即为粗酶液。

1.5.2 木质素过氧化物酶活力测定: 参照郭艳艳等 (2014) 的方法。在试管中加入 2.2mL 0.1mol/L 酒石酸-酒石酸钠缓冲液 (pH 3.5)、0.1mL 0.01mol/L 黎芦醇、0.1mL 0.06mmol/L 亮蓝、0.1mL 0.01mol/L 过氧化氢和 0.5mL 粗酶液, 混匀置于 28℃ 水浴锅中加热 1h。取

0.2mL 混合液点样到酶标板上, 用 M200PRO 酶标仪测 310nm 处的吸光值。以在 90℃ 水浴锅中灭活 1h 的粗酶液作为空白对照。1 个酶活力单位 (U) 定义为每分钟反应体系转化 1.0μmol 黎芦醇为黎芦醛所需的酶量。

1.5.3 羧甲基纤维素酶活力测定: 参照韩美玲等 (2020) 的方法。取 1.9mL 0.1mol/L 乙酸-乙酸钠缓冲液 (pH 5.5) 加 0.1mL 粗酶液作为稀释粗酶液备用。取 0.2mL 0.01mol/L 羧甲基纤维素钠和 0.2mL 稀释的粗酶液置于 37℃ 保温 30min, 再加入 0.5mL DNS 试剂, 沸水加热 5min, 定容到 2.5mL, 冷水冲洗至室温备用。取 0.2mL 混合液点样到酶标板上, 用 M200PRO 酶标仪测 540nm 处的吸光值。取 0.2mL 0.01mol/L 羧甲基纤维素钠、0.5mL DNS 试剂和 0.2mL 稀释的粗酶液置于 37℃ 保温 30min, 沸水加热 5min, 定容到 2.5mL, 冷水冲洗至室温备用。取 0.2mL 混合液点样到酶标板上, 用 M200PRO 酶标仪测 540nm 处的吸光值作为对照。1 个酶活力单位 (U) 定义为每分钟反应体系催化底物生成 1.0μmol 葡萄糖所需的酶量。

1.5.4 锰过氧化物酶活力测定: 参照孙淑静等 (2015) 的方法。在试管中加入 2.3mL 0.1mol/L 丙二酸-丙二酸钠缓冲液 (pH 3.5)、0.1mL 0.015mol/L 硫酸锰、0.01mL 0.04mol/L 愈创木酚、0.1mL 0.01mol/L 过氧化氢和 0.5mL 粗酶液, 混匀后置于 28℃ 水浴锅中加热 1h。取 0.2mL 混合液点样到酶标板上, 用 M200PRO 酶标仪测 240nm 处的吸光值。以在 90℃ 水浴锅中灭活 1h 的粗酶液作为空白对照。1 个酶活力单位 (U) 定义为每分钟反应体系转化 1.0μmol Mn^{2+} 为 Mn^{3+} 所需的酶量。

1.5.5 漆酶活力测定: 参照张宇婷等 (2021) 的方法。在试管中加入 2.0mL 0.1mol/L 的琥珀酸-琥珀酸钠缓冲液 (pH 4.5)、0.5mL

0.04mol/L 愈创木酚和 0.5mL 粗酶液，混匀后取 0.2mL 混合液点样到酶标板上，用 M200PRO 酶标仪测 465nm 处的吸光值作为对照，测完后置于 28℃ 水浴锅中，隔 1h 测 465nm 处的吸光值。1 个酶活力单位 (U) 定义为每分钟反应体系产生一个吸光值变化所需的酶量。

1.6 数据分析

利用 SPSS 26 对所得数据进行分析 and 检验，利用 Origin 2017 作图。

2 结果与分析

2.1 分子生物学结果

供试菌株经分子生物学鉴定为花脸香蘑 *Lepista sordida* (Schumach.) Singer, GenBank 号为 MZ396402。

2.2 不同碳氮源对花脸香蘑液体培养 pH 和葡萄糖浓度的影响

碳源对花脸香蘑液体培养 pH 值变化影响明显，氮源对 pH 值变化影响不显著 (图 1)。

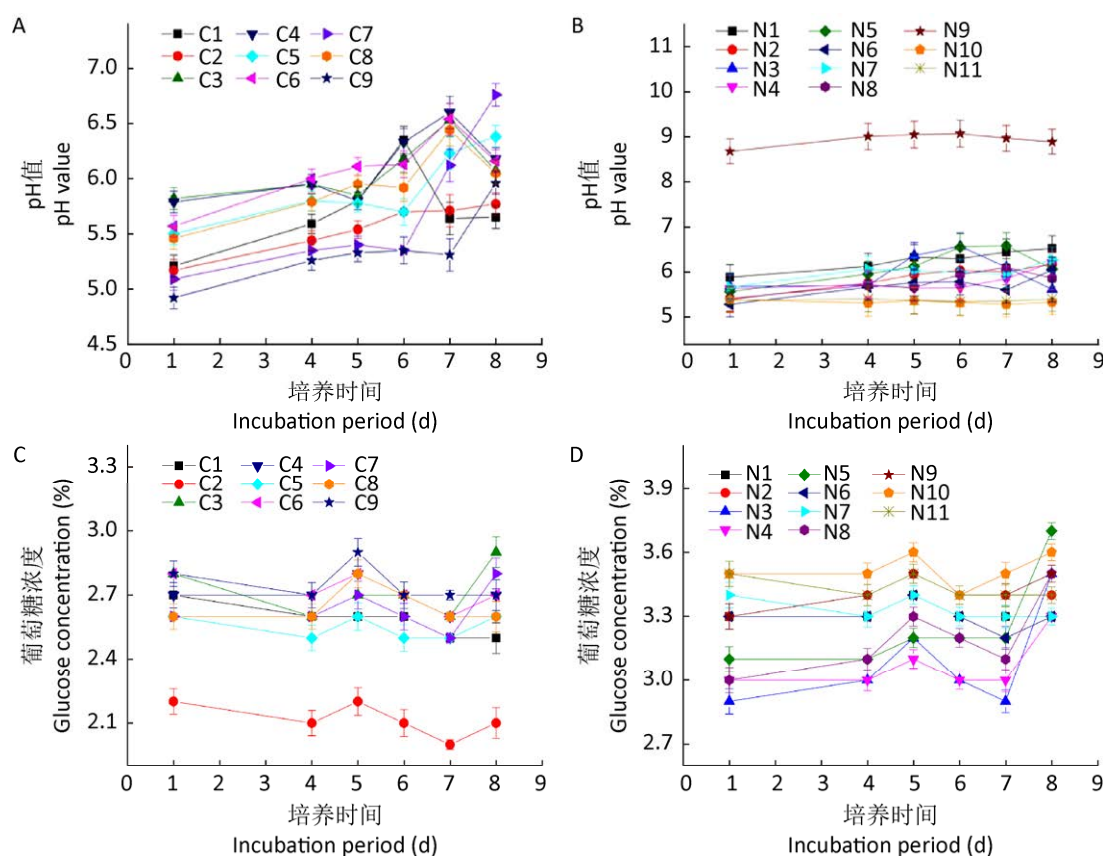


图 1 不同碳源和氮源对花脸香蘑 pH 和葡萄糖浓度的影响 A: 不同碳源对 pH 的影响; B: 不同氮源对 pH 的影响; C: 不同碳源对葡萄糖浓度的影响; D: 不同氮源对葡萄糖浓度的影响

Fig. 1 Effects of different C and N sources on pH values and glucose concentrations of *Lepista sordida*. A: Effects of different carbon sources on pH values; B: Effects of different nitrogen sources on pH values; C: Effects of different carbon sources on glucose concentrations; D: Effects of different nitrogen sources on glucose concentrations. C1: Brown sugar; C2: Molasses; C3: White granulated sugar; C4: Sucrose; C5: Glucose; C6: Maltose; C7: Xylose; C8: Dextrin; C9: Fructose; N1: Peptone; N2: Yeast powder; N3: Bran; N4: Rice bran; N5: Soybean powder; N6: Malt extract; N7: Beef extract; N8: Corn flour; N9: Urea; N10: Ammonium chloride; N11: Ammonium sulfate. The same below.

9 种碳源培养基中,培养第 1–4 天的 pH 值都随时间增加而升高。此后随着培养时间的增加,红糖的 pH 值在第 6 天达到最高,糖蜜、葡萄糖、木糖和果糖的 pH 值在第 8 天达到最高,白砂糖、蔗糖、麦芽糖和糊精的 pH 值在第 7 天达到最高。11 种氮源培养基中,尿素的 pH 值一直维持在较高的水平,麸皮在培养第 6 天 pH 值达到最高后迅速降低,豆粉在培养第 7 天后 pH 值迅速降低,米糠和麦芽浸膏在培养第 7 天后 pH 值呈现快速上升趋势,其余氮源的 pH 值在培养阶段变化不显著。这是由于菌丝生长过程中向基质中分泌酸所导致。

添加碳源对花脸香蘑菇液体培养的葡萄糖浓度无明显变化,添加氮源培养液的葡萄糖浓度比碳源高,可能是添加的氮源如麸皮、米糠等的水解液含有五碳糖及六碳糖,导致培养液葡萄糖浓度发生了变化(图 1)。9 种碳源培养基中,在培养期间葡萄糖浓度变化不大,培养第 1–4 天的葡萄糖浓度都随时间增加而下降。而糖蜜的

葡萄糖浓度一直处于较低水平,可能因为糖蜜是合成糖,更有利于花脸香蘑菇菌丝吸收利用。11 种氮源培养基中,葡萄糖浓度变化范围不明显,麸皮、米糠、豆粉和玉米粉在培养第 7 天后葡萄糖浓度迅速升高;牛肉浸膏和硫酸铵在培养第 6 天后的葡萄糖浓度几乎无变化。

2.3 不同碳氮源对花脸香蘑菇菌丝生物量的影响

以添加不同碳源和氮源作为营养条件时,培养第 8 天,花脸香蘑菇液体发酵的菌丝生物量有一定差异(表 1)。碳源培养基以蔗糖的菌丝生物量最高,达 1.19g;以木糖的菌丝生物量最低,仅 0.37g,可能是由于木糖主要以木聚糖形式存在,不易于菌丝分解吸收导致菌丝量较低。氮源培养基以麸皮的菌丝生物量最高,达 1.56g,此结果与陆欢等(2019)利用不同氮源培养条件下的花脸香蘑菇菌丝生长结果一致;以氯化铵的菌丝生物量最低,仅 0.20g,原因可能是无机氮源不能满足花脸香蘑菇菌丝在营养生长阶段的需求。

表 1 不同碳氮源对花脸香蘑菇菌丝生物量的影响

Table 1 Effects of different C and N sources on mycelial biomass of *Lepista sordida*

培养基 Culture medium	菌丝生物量 Mycelia biomass (g)	培养基 Culture medium	菌丝生物量 Mycelia biomass (g)
红糖 Brown sugar	0.62 ^{Bb}	酵母粉 Yeast powder	0.47 ^{Dd}
糖蜜 Molasses	0.42 ^{Cc}	麸皮 Bran	1.56 ^{Aa}
白砂糖 White granulated sugar	0.67 ^{Bb}	米糠 Rice bran	0.58 ^{Cc}
蔗糖 Sucrose	1.19 ^{Aa}	豆粉 Soybean powder	0.89 ^{Bb}
葡萄糖 Glucose	0.49 ^{Cc}	麦芽浸膏 Malt extract	0.42 ^{Dd}
麦芽糖 Maltose	0.46 ^{Cc}	牛肉浸膏 Beef extract	0.40 ^{Dd}
木糖 Xylose	0.37 ^{Dd}	玉米粉 Corn flour	0.60 ^{Cc}
糊精 Dextrin	0.61 ^{Bb}	尿素 Urea	0.27 ^{Ee}
果糖 Fructose	0.49 ^{Dd}	氯化铵 Ammonium chloride	0.20 ^{Ee}
蛋白胨 Peptone	0.46 ^{Dd}	硫酸铵 Ammonium sulfate	0.25 ^{Ee}

注: 同列数据后不同小写和大写字母分别表示在 0.05 及 0.01 水平差异显著

Note: Different lowercase and capital letters in the same column indicate significant differences at the level of 0.05 and 0.01, respectively.

2.4 不同碳氮源对花脸香蘑羧甲基纤维素酶活性的影响

9 种碳源培养基中, 红糖、糖蜜、葡萄糖、木糖和糊精的羧甲基纤维素酶活性都是在第 8 天达到最高; 蔗糖、麦芽糖和果糖的酶活在第 6 天最高; 而白砂糖在第 5 天最高, 随后酶活力随着时间增加而逐步降低(图 2)。以红糖为碳源诱导培养基时, 花脸香蘑的羧甲基纤维素酶活性在第 5-8 天都保持较低的水平, 在第 8 天时达到最大值, 为 1.42U/mL。以糖蜜为碳源诱导培养基时, 羧甲基纤维素酶活性在第 5-8 天也都保持较低的水平, 且随着时间增加酶活力逐步上升, 在第 8 天时达到最大值, 为 1.81U/mL。以白砂糖为碳源诱导培养基时, 羧甲基纤维素酶活性随着时间增加反而下降, 羧甲基纤维素酶活性最大值出现在第 5 天, 为 1.57U/mL。以蔗糖为碳源诱导培养基时, 羧甲基纤维素酶活性在第 5-8 天也维持较低的水平, 且随着时间增加酶活力逐步增高, 在第 7 天时达到最大值, 为 1.04U/mL。以葡萄糖为碳源诱导培养基时, 羧甲基纤维素酶活性较其他碳源培养基表现出较高的活性水平, 在第 8 天时达到最大值,

为 5.37U/mL。以麦芽糖为碳源诱导培养基时, 羧甲基纤维素酶活性也表现出较高的活性水平, 羧甲基纤维素酶活性在第 7 天达到最大值, 为 4.66U/mL。以木糖为碳源诱导培养基时, 羧甲基纤维素酶活性水平最高, 且随着时间增加酶活力逐步上升, 在第 8 天时达到最大值, 为 6.34U/mL。以糊精为碳源诱导培养基时, 羧甲基纤维素酶活性水平较低, 在第 8 天时达到最大值, 为 2.11U/mL。以果糖为碳源诱导培养基时, 羧甲基纤维素酶活性水平维持了较高的水平, 在第 7 天时达到最大值, 为 6.02U/mL。

11 种氮源培养基中, 蛋白胨和米糠的羧甲基纤维素酶活性在第 6 天达到最高; 豆粉、麦芽浸膏、牛肉浸膏、玉米粉、尿素和硫酸铵的酶活在第 8 天最高, 且仅硫酸铵的酶活一直随着时间的增加而逐步升高; 麸皮是第 5 天最高, 随后酶活力随着时间增加而逐步降低, 第 8 天又陡然升高; 酵母粉和氯化铵的酶活在第 7 天最高(图 2)。以蛋白胨为氮源诱导培养基时, 花脸香蘑的羧甲基纤维素酶活性先增加, 在第 6 天达到最大值, 为 6.95U/mL 而后随着时间增加反而下降。

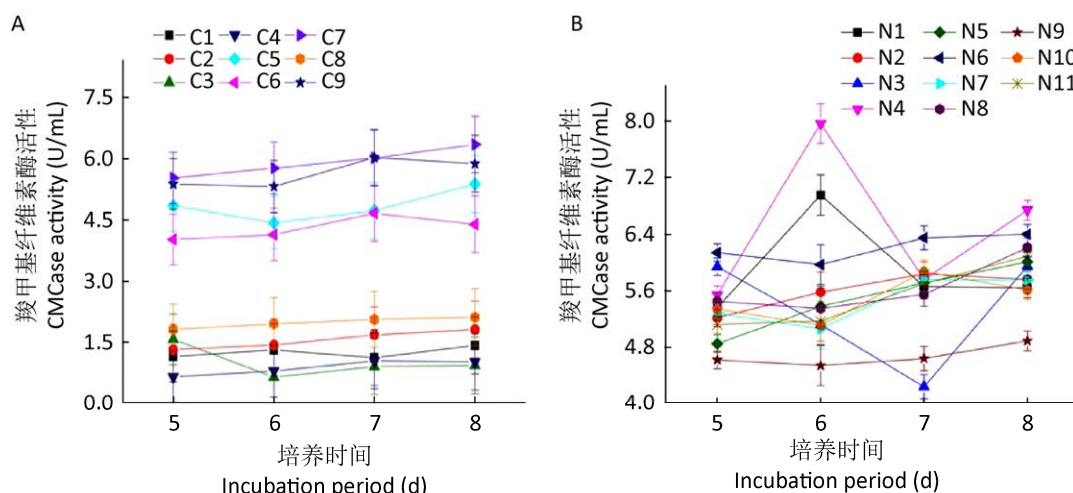


图 2 不同碳源 (A) 和氮源 (B) 对花脸香蘑羧甲基纤维素酶活性的影响

Fig. 2 Effects of different C (A) and N (B) sources on carboxymethyl cellulase activities of *Lepista sordida*.

以酵母粉为氮源诱导培养基时,羧甲基纤维素酶活性先增加,在第7天达到最大值,为5.84U/mL。以麸皮为氮源诱导培养基时,羧甲基纤维素酶活性先降低再增加,在第8天达到最大值,为5.95U/mL,与第4天酶活力差距微小。以米糠为氮源诱导培养基时,羧甲基纤维素酶活性先增加后快速降低,在第6天达到最大值,为7.96U/mL。以豆粉为氮源诱导培养基时,羧甲基纤维素酶活性一直随着时间的增加而升高,在第8天达到最大值,为6.01U/mL。以麦芽浸膏为氮源诱导培养基时,羧甲基纤维素酶活性在第7天达到最大值,为6.35U/mL。以牛肉浸膏为氮源诱导培养基时,羧甲基纤维素酶活性在第7天达到最大值,为5.76U/mL。以玉米粉为氮源诱导培养基时,羧甲基纤维素酶活性先下降,后随着时间逐步升高,在第8天达到最大值,为6.21U/mL。以尿素为氮源诱导培养基时,羧甲基纤维素酶活性维持在较低水平,在第8天达到最大值,为4.89U/mL。以氯化铵为氮源诱导培养基时,羧甲基纤维素酶活性在第7天达到最大值,为5.87U/mL。以硫酸铵为氮源诱导培养基时,羧甲基纤维素酶活性一直随着时间的增加而升高,在第8天达到

最大值,为6.09U/mL。

2.5 不同碳氮源对花脸香蘑漆酶活性的影响

9种碳源培养基中,除糖蜜、糊精和果糖的漆酶活性在第8天达到最高外,其余碳源培养基的漆酶活性在第6天就达到最高值。且糖蜜、木糖、糊精和果糖的漆酶活性随着时间先升高后下降又再升高,其余碳源培养基的酶活力在第6天后随着时间增加逐渐下降(图3)。以红糖为碳源诱导培养基时,花脸香蘑的漆酶活性在第6天时达到最大值,为13.77U/mL,而后随着时间增加逐步下降。以糖蜜为碳源诱导培养基时,漆酶活性在第8天时达到最大值,为7.01U/mL。以白砂糖为碳源诱导培养基时,漆酶活性在第6天时达到最大值,为3.08U/mL,而后随着时间增加逐步下降。以蔗糖为碳源诱导培养基时,漆酶活性也在第6天时达到最大值,为4.63U/mL,而后随着时间增加逐步下降。以葡萄糖为碳源诱导培养基时,漆酶活性在第6天时达到最大值,为6.01U/mL,而后随着时间增加逐步下降。以麦芽糖为碳源诱导培养基时,漆酶活性同样在第6天时达到最大值,为5.59U/mL,而后随着时间增加逐步下降。以木糖为碳源诱导培养基时,漆酶活

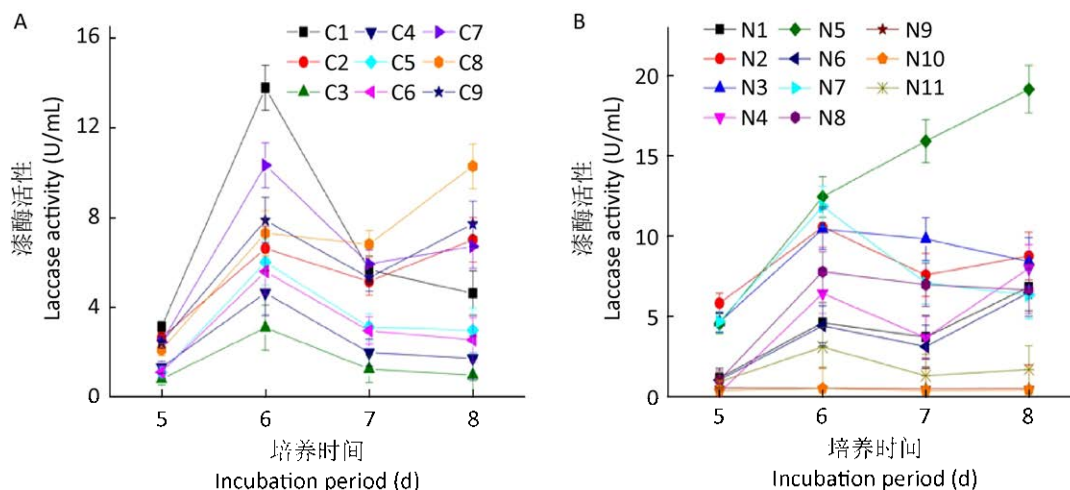


图3 不同碳源(A)和氮源(B)对花脸香蘑漆酶活性的影响

Fig. 3 Effects of different C (A) and N (B) sources on laccase activities of *Lepista sordida*.

性在第 6 天时达到最大值, 为 10.32U/mL。以糊精为碳源诱导培养基时, 漆酶活性在第 8 天时达到最大值, 为 10.27U/mL。以果糖为碳源诱导培养基时, 漆酶活性在第 6 天时达到最大值, 为 7.88U/mL, 与第 8 天酶活力相差不大。

11 种氮源培养基中, 酵母粉、麸皮、牛肉浸膏、玉米粉和硫酸铵的漆酶活性在第 6 天达到最高; 蛋白胨、米糠和麦芽浸膏的漆酶活性在第 8 天达到最高值; 此外, 豆粉的漆酶活力一直随着时间增加而快速升高, 在第 8 天达到最高值; 而尿素和硫酸铵的漆酶活性在第 5-8 天没有明显变化 (图 3)。以蛋白胨为氮源诱导培养基时, 花脸香蘑的漆酶活性在第 8 天达到最大值, 为 6.05U/mL。以酵母粉为氮源诱导培养基时, 漆酶活性在第 6 天达到最大值, 为 10.59U/mL。以麸皮为氮源诱导培养基时, 漆酶活性在第 6 天达到最大值, 为 10.46U/mL, 而后随着时间增加而逐步下降。以米糠为氮源诱导培养基时, 漆酶活性在第 8 天达到最大值, 为 8.01U/mL。以豆粉为氮源诱导培养基时, 漆酶活性在第 8 天达到最大值, 为 6.50U/mL。以麦芽浸膏为氮源诱导培养基时, 漆酶活性在第 8 天达

到最大值, 为 6.50U/mL。以牛肉浸膏为氮源诱导培养基时, 漆酶活性在第 6 天达到最大值, 为 11.87U/mL, 而后随着时间增加逐步下降。以玉米粉为氮源诱导培养基时, 漆酶活性在第 7 天达到最大值, 为 7.80U/mL, 而后也是随着时间增加而逐步下降。以尿素为氮源诱导培养基时, 漆酶活性维持在较低水平, 第 5 天达到最大值, 为 0.54U/mL, 而后随着时间逐步降低。以氯化铵为氮源诱导培养基时, 漆酶活性也一直维持在较低水平, 在第 6 天达到最大值, 为 0.51U/mL。以硫酸铵为氮源诱导培养基时, 漆酶活性在第 6 天达到最大值, 为 3.10U/mL。

2.6 不同碳氮源对花脸香蘑锰过氧化物酶活性的影响

9 种碳源培养基中, 除红糖、糖蜜和果糖的锰过氧化物酶活性在第 6 天时最低, 随着时间增加又逐渐升高, 其中红糖和糖蜜的酶活力在第 8 天达到最高; 糊精的酶活力一直随着时间增加逐渐升高, 在第 8 天达到最高; 白砂糖和木糖的酶活力也在第 8 天达到最高; 蔗糖和葡萄糖的酶活力在第 7 天达到最高; 麦芽糖的酶活力在第 6 天达到最高 (图 4)。以红糖为碳源诱导培养基时, 花脸

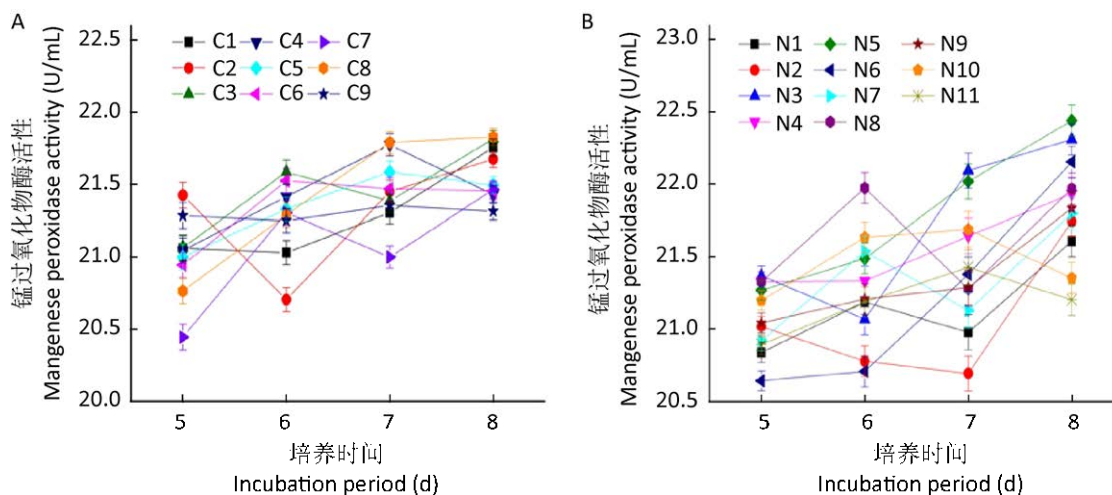


图 4 不同碳源 (A) 和氮源 (B) 对花脸香蘑锰过氧化物酶活性的影响

Fig. 4 Effects of different C (A) and N (B) sources on manganese peroxidase activities of *Lepista sordida*.

香蘑的锰过氧化物酶活性在第 8 天时达到最大值, 为 21.76U/mL。以糖蜜为碳源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性也在第 8 天时达到最大值, 为 21.68U/mL。以白砂糖为碳源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性在第 6 天时达到最大值, 为 21.82U/mL。以蔗糖为碳源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性在第 7 天时达到最大值, 为 21.78U/mL, 而后又下降。以葡萄糖为碳源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性也在第 7 天时达到最大值, 为 21.59U/mL。以麦芽糖为碳源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性在第 6 天时达到最大值, 为 21.53U/mL, 而后随着时间增加逐步下降。以木糖为碳源诱导培养基时, 在第 8 天时达到最大值, 为 21.47U/mL。以糊精为碳源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性一直随着时间增加而升高, 锰过氧化物酶活性在第 8 天时达到最大值, 为 21.83U/mL。以果糖为碳源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性在第 7 天时达到最大值, 为 21.36U/mL。

11 种氮源培养基中, 除玉米粉在第 6 天的锰过氧化物酶活性最高, 氯化铵和硫酸铵的酶活力在第 7 天达到最高值之外, 其余氮源培养基的酶活力都在第 8 天达到最高值, 且豆粉、麦芽浸膏和尿素的酶活力一直是随着时间增加而逐渐升高 (图 4)。以蛋白胨为氮源诱导培养基时, 花脸香蘑的锰过氧化物酶活性在第 7 天达到最大值, 为 21.36U/mL。以酵母粉为氮源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性在第 8 天达到最大值, 为 21.61U/mL。以麸皮为氮源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性在第 6 天达到最大值, 为 20.78U/mL。以米糠为氮源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性一直随着时间增加而升高, 在第 8 天达到最大值, 为 21.94U/mL。以豆粉为氮源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性也是一直升

高, 在第 8 天达到最大值, 为 22.44U/mL。以麦芽浸膏为氮源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性同样在第 8 天达到最大值, 为 22.16U/mL。以牛肉浸膏为氮源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性在第 8 天达到最大值, 为 21.80U/mL。以玉米粉为氮源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性在第 6 天达到最大值, 为 21.98U/mL。以尿素为氮源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性也一直随着时间增加而升高, 第 8 天达到最大值, 为 21.84U/mL。以氯化铵为氮源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性在第 7 天达到最大值, 为 21.69U/mL。以硫酸铵为氮源诱导培养基时, 锰过氧化物酶活性同样在第 7 天达到最大值, 为 21.43U/mL。

2.7 不同碳氮源对花脸香蘑木质素过氧化物酶活性的影响

9 种碳源培养基中的木质素过氧化物酶活性变化趋势一致, 都是随着时间的增加而逐步降低, 第 5 天的酶活力最高 (图 5)。以红糖、糖蜜、白砂糖、蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、木糖、糊精和果糖为碳源诱导培养基时, 花脸香蘑的木质素过氧化物酶活性都在第 5 天为最大值, 分别为 2.67、2.71、2.69、2.66、2.77、2.80、2.90、2.49 和 2.65U/mL。11 种氮源培养基中, 与碳源的木质素过氧化物酶活性变化一样, 11 种氮源的木质素过氧化物酶活性都是随着时间的增加而逐步降低, 第 5 天的酶活力最高 (图 5)。以蛋白胨、酵母粉、麸皮、米糠、豆粉、麦芽浸膏、牛肉浸膏、玉米粉、尿素、氯化铵和硫酸铵为氮源诱导培养基时, 花脸香蘑的木质素过氧化物酶活性都在第 5 天为最大值, 分别为 2.62、2.39、2.31、2.54、1.66、2.56、2.47、2.54、2.64、2.18 和 2.57U/mL。

综上所述, 以木糖作为碳源诱导剂时, 有利于花脸香蘑分泌羧甲基纤维素酶和木质

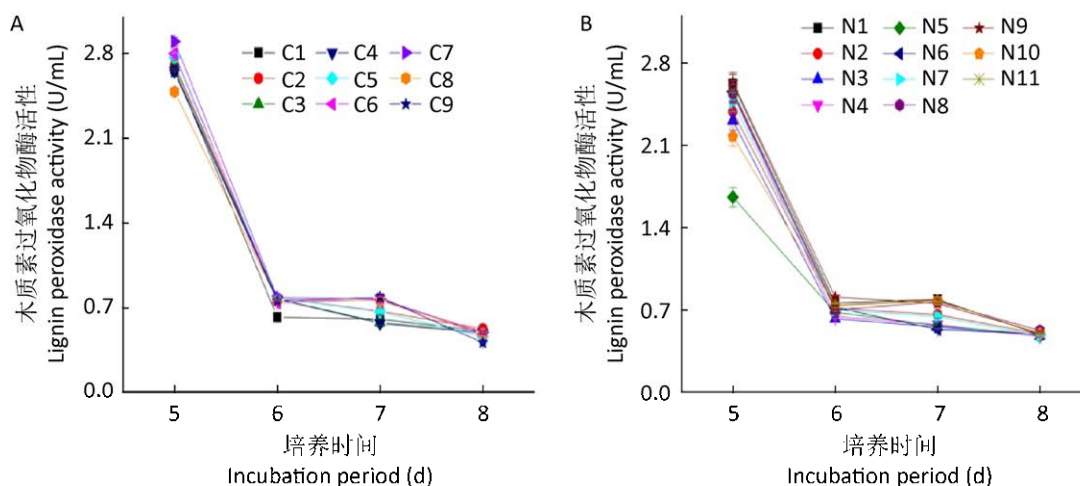


图 5 不同碳源 (A) 和氮源 (B) 对花脸香蘑木质素过氧化物酶活性的影响

Fig. 5 Effects of different C (A) and N (B) sources on lignin peroxidase activities of *Lepista sordida*.

素过氧化物酶；以红糖作为碳源诱导剂时，有利于花脸香蘑分泌漆酶；以白砂糖作为碳源诱导剂时，有利于花脸香蘑分泌锰过氧化物酶。以米糠作为氮源诱导剂时，有利于花脸香蘑分泌羧甲基纤维素酶；以牛肉浸膏为氮源诱导剂时，有利于花脸香蘑分泌漆酶；以豆粉作为氮源诱导剂时，有利于花脸香蘑分泌锰过氧化物酶；以尿素作为氮源诱导剂时，有利于花脸香蘑分泌木质素过氧化物酶。

3 讨论

木质纤维素是地球上一种丰富的可再生生物材料，但若未能做到分解和分离木质素，就很难有效地利用纤维素。真菌中的过氧化物酶和漆酶广泛参与了木质纤维素生物质的分解和利用，通过释放环境中木质纤维素中的碳水化合物来获得生长和繁殖所需的营养。碳源和氮源是影响真菌中木质纤维素酶活性要的因素，Sulej *et al.* (2013) 发现木质素修饰漆酶的表达受碳源和/或氮源及其浓度和比例的影响。高锰过氧化物酶活性的菌株几乎存在于所有的真菌目中，食用菌中漆酶产量最高的是多孔菌目和伞菌目 (Eichlerová &

Baldrian 2020)。

Karp *et al.* (2015) 研究了 pH、水分活度、温度、硫酸铜、硫酸铵、磷酸二氢钾、天冬酰胺和酵母提取物的浓度对平菇 *Pleurotus ostreatus* 中漆酶活性的影响，发现硫酸铜和硫酸铵浓度显著影响漆酶的产生，酵母浸膏替代硫酸铵和添加阿魏酸诱导漆酶活性分别提高了 5.7 倍和 2.0 倍。赵翠敏等 (2020) 以玉米芯、玉米秸秆、木屑、花生壳为培养基质，发现在这些基质培养的刺芹侧耳 *Pleurotus eryngii* 中，漆酶和木质素过氧化物酶的活性相对较高，菌丝生长速度也较快。说明菌丝的生长速度与诱导产生的木质纤维素酶类的活性紧密相关，活性越高，所能释放的碳源越多，菌丝生长状况就越好。Camassola *et al.* (2013) 发现侧耳属 *Pleurotus* 分泌漆酶和锰过氧化物酶存在一定的差异，因此以松木屑、麦麸和碳酸钙为原料，通过固体发酵培养的 10 株不同侧耳菌株中的漆酶和锰过氧化物酶活性均较高，说明木质素纤维素酶存在于不同种类的侧耳种中。Janusz *et al.* (2015) 通过对 12 个金针菇 *Flammulina filiformis* (Z.W. Ge, X.B. Liu & Zhu L.

Yang) P.M. Wang 菌株葡萄糖同化的研究, 探究了碳抑制与金针菇漆酶产生的相关性, 测定了不同温度、藜芦酸、阿魏酸和金属离子 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 对漆酶活性的影响。结果表明, 所有诱导剂对 12 个金针菇菌株的漆酶表达均有影响, 且诱导程度不仅取决于使用的菌株, 还取决于诱导时间 (Wang *et al.* 2018)。韩美玲等 (2020) 研究了简单碳氮源及木质素纯品诱导条件对糙皮侧耳的木质纤维素酶活性的影响, 结果表明以蔗糖作碳源诱导物有利于提高漆酶活性, 果糖有利于提高羧甲基纤维素酶活性, 葡萄糖有利于提高木聚糖酶活性; 酵母浸粉作氮源诱导物有利于提高漆酶活性, 硝酸钾有利于提高羧甲基纤维素酶活性, 硫酸铵有利于提高木聚糖酶活性。郭艳艳等 (2014) 发现不同的营养条件对斑玉蕈 *Hypsizygus marmoreus* (Peck) H.E. Bigelow 的多种酶活性有很大影响, 低碳氮盐培养基在整个生长阶段酶活力 (包括漆酶、锰过氧化物酶、木质素过氧化物酶、木聚糖酶、纤维素酶) 均较低, 低氮条件下最先产生木质素过氧化物酶, 高无机盐条件下最先产生漆酶和锰过氧化物酶。安琪等 (2015) 以不同碳源和氮源为基质研究其对金针菇降解木质纤维素酶活性的影响, 结果表明金针菇在复杂氮源培养基上生长时漆酶活性相对低于简单氮源培养基。Naraian *et al.* (2014) 以小麦秸秆为平菇基料, 添加牡蛎壳粉进行不同组合栽培, 发现添加牡蛎壳粉对不同培养阶段有显著的响应, 在子实体初始阶段的漆酶 (5.433U/g) 和锰过氧化物酶 (0.097U/g) 最高。本研究发现木糖和米糠有利于花脸香蘑菇分泌羧甲基纤维素酶, 红糖和牛肉浸膏有利于花脸香蘑菇分泌漆酶, 白砂糖和豆粉有利于花脸香蘑菇分泌锰过氧化物酶, 木糖和尿素有利于花脸香蘑菇分泌木质素过氧化物酶。说明

花脸香蘑菇具有较高降解碳源的能力, 能分泌大量的胞外酶从复杂碳源中获得足够的有效碳源, 在复杂氮源培养基上生长时锰过氧化物酶活性和羧甲基纤维素酶活性相应高于简单氮源培养基, 而漆酶和木质素过氧化物酶与之相反。这与其他食用菌的结果有一定的相似性, 但也存在一定的区别。原因可能是不同食用菌品种对不同的碳氮源有偏向选择性, 即不同的品种有各自最适的诱导条件。

随着木质纤维素分解机理的进化和发展, 褐腐真菌和共生真菌中的某些科逐步消失, 不同分解木质纤维素酶基因数量的改变影响了系统进化的分支或节点, 进而导致了不同的生态生活方式。Fernández-Fueyo *et al.* (2016) 发现在所有典型白腐担孢子菌基因组中存在木质素分解过氧化物酶、锰过氧化物酶和多功能过氧化物酶家族, 在所有褐腐真菌基因组中没有这些基因。An *et al.* (2019) 发现不同生态类型的真菌在进化选择过程中对特定的分解基因家族具有明显的偏好。双孢蘑菇 *Agaricus bisporus* 种植原料中的碳源和氮源可能在世界各地不同, 碳水化合物结构和含量的变化与双孢蘑菇产生的酶活性有关。Kabel *et al.* (2017) 发现漆酶是双孢蘑菇菌丝生长过程中蛋白质合成的主要产物, 双孢蘑菇菌丝体生长过程中木质素的减少和变化, 提高了生长后期碳水化合物的消化率。杏鲍菇可降解木质纤维素, 且杏鲍菇在非木质纤维素材料上生长时, 也能够选择性地降解木质素。Peña *et al.* (2021) 结合蛋白质组学、转录组学和代谢组学的综合方法, 研究了以麦秸为底物栽培杏鲍菇的木质纤维素降解过程, 以及真菌酶如何参与协调植物细胞壁的降解。Vasina *et al.* (2016) 发现毛栓菌 *Trametes hirsuta* (Wulfen) Lloyd 主要分泌葡萄

糖酶和甘露糖苷酶来响应木质纤维素底物的存在,在培养过程中,毛栓菌产生不同的酶来消化底物中的主要成分。Chen *et al.* (2016) 发现香菇能分泌大量的木质纤维素水解酶,含有 101 种与其他白腐真菌相似的木质纤维素酶,且与葡萄糖培养基相比,纤维素培养基培养 120min 时,编码 2 种纤维素酶和 16 种转录因子的基因表达上调。Naraian *et al.*

(2009) 研究发现栽培平菇可对木质纤维素残留物进行生物转化,还能分泌多种酶以降解除所有关键类别的木质纤维素多糖和污染物,为利用可再生资源生产富含蛋白质的食物提供了有效途径。本研究探索了不同碳氮源对花脸香蘑产胞外酶的诱导作用,发现有些培养基有利于提高胞外酶的分泌作用,而有些效果并不好,原因可能是分泌的胞外酶更容易酶解纤维素和半纤维素材料。且花脸香蘑的 pH 值和葡萄糖浓度在培养后期波动较大,可能与胞外酶影响菌丝体发育有关,从而影响生长周期。Xu *et al.* (2013) 报道表明,食用菌的酶活和锰过氧化物酶分泌能力及品种与栽培期密切相关,酶活性高,培养周期短。

本文探究了花脸香蘑在不同营养条件、不同液体培养时间下胞外酶的变化规律,发现 9 种碳源培养基和 11 种氮源培养基对花脸香蘑分泌羧甲基纤维素酶、漆酶、锰过氧化物酶和木质素过氧化物酶均有一定的影响,其中不同碳源和氮源对木质素过氧化物酶影响不显著。木糖和米糠有利于诱导花脸香蘑产生羧甲基纤维素酶;红糖和牛肉浸膏有利于诱导花脸香蘑产生漆酶;白砂糖和豆粉有利于诱导花脸香蘑产生锰过氧化物酶,木糖和尿素有利于诱导花脸香蘑产生木质素过氧化物酶。因此,本研究成果为进一步了解花脸香蘑生长过程中对培养基质的降解提供了

科学依据,为提高花脸香蘑生长速度、缩短栽培周期、降低生产成本及提高产量提供了参考。

[REFERENCES]

- An Q, Wu XJ, Dai YC, 2019. Comparative genomics of 40 edible and medicinal mushrooms provide an insight into the evolution of lignocellulose decomposition mechanisms. *3 Biotech*, 9: 157
- An Q, Wu XJ, Wu B, Dai YC, 2015. Effects of carbon and nitrogen sources on lignocellulose decomposition enzyme activities in *Flammulina velutipes*. *Mycosystema*, 34(4): 761-771 (in Chinese)
- Aza P, Molpeceres G, Ruiz-Dueñas FJ, Camarero S, 2021. Heterologous expression, engineering and characterization of a novel laccase of *Agrocybe pediades* with promising properties as biocatalyst. *Journal of Fungi*, 7: 359
- Baldrian P, Valášková V, 2008. Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. *FEMS Microbiology Reviews*, 32: 501-521
- Camarero S, Martínez MJ, Martínez AT, 2014. Understanding lignin biodegradation for the improved utilization of plant biomass in modern biorefineries. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 8: 615-625
- Camassola M, da Rosa LO, Calloni R, Gaio TA, Dillon AJ, 2013. Secretion of laccase and manganese peroxidase by *Pleurotus* strains cultivate in solid-state using *Pinus* spp. sawdust. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(1): 207-213
- Cao YJ, Ma HF, Cui BK, Si J, Dai YC, 2021. Lignocellulolytic enzyme activities of three white rot fungi under different solid-state fermentation media. *Mycosystema*, 40(5): 1123-1139 (in Chinese)
- Chen LF, Gong YH, Cai YL, Liu W, Zhou Y, Xiao Y, Xu ZY, Liu Y, Lei XY, Wang GZ, Guo MP, Ma XL, Bian YB, 2016. Genome sequence of the edible cultivated mushroom *Lentinula edodes* (shiitake) reveals

- insights into lignocellulose degradation. PLoS One, 11(8): e0160336
- Chen XM, Wu HB, Xiang QJ, Gu YF, Zhang XP, 2018. Transcriptional expression profiles and enzyme activity of UGP from *Lentinus edodes* under different carbon and nitrogen sources. Journal of Sichuan university (Natural Science Edition), 55(1): 214-220 (in Chinese)
- Dahmen N, Lewandowski I, Zibek S, Weidtmann A, 2019. Integrated lignocellulosic value chains in a growing bioeconomy: status quo and perspectives. GCB-Bioenergy, 11(1): 107-117
- Dai YC, Yang ZL, 2008. A revised checklist of medicinal fungi in China. Mycosystema, 27(6): 801-824 (in Chinese)
- Dai YC, Zhou LW, Yang ZL, Wen HA, Bau T, Li TH, 2010. A revised checklist of edible fungi in China. Mycosystema, 29(1): 1-21 (in Chinese)
- Eichlerová I, Baldrian P, 2020. Ligninolytic enzyme production and decolorization capacity of synthetic dyes by saprotrophic white rot, brown rot, and litter decomposing basidiomycetes. Journal of Fungi, 6: 301
- Fan L, Han L, Zhang PR, Yan XY, 2016. Molecular analysis of Chinese truffles resembling *Tuber californicum* in morphology reveals a rich pattern of species diversity with emphasis on four new species. Mycologia, 108(2): 344-353
- Fernández-Fueyo E, Ruiz-Dueñas FJ, López-Lucendo MF, Pérez-Boada M, Rencoret J, Gutiérrez A, Pisabarro AG, Ramírez L, Martínez AT, 2016. A secretomic view of woody and nonwoody lignocellulose degradation by *Pleurotus ostreatus*. Biotechnology for Biofuels, 9: 49
- Floudas D, Held BW, Riley R, Nagy LG, Koehler G, Ransdell AS, Younus H, Chow J, Chiniquy J, Lipzen A, Tritt A, Sun H, Haridas S, LaButti K, Ohm RA, Kües U, Blanchette RA, Grigoriev IV, Minto RE, Hibbett DS, 2014. Evolution of novel wood decay mechanisms in Agaricales revealed by the genome sequences of *Fistulina hepatica* and *Cylindrobasidium torrendii*. Fungal Genetics and Biology, 76: 78-92
- Gao F, Cao Y, He MX, Liu J, Fang YW, Zhang CX, 2017. Type and activity variation of extracellular enzymes of *Lentinus edodes*, *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus ostreatus*. Northern Horticulture, 23: 199-206 (in Chinese)
- Guo YY, Ruan LY, Feng HC, Hu KH, Sun SJ, 2014. Characteristics of mycelial growth and enzyme production of *Hypsizygus marmoreus* under different nutritional conditions. Mycosystema, 33(3): 697-705 (in Chinese)
- Han ML, An Q, Wu XJ, Zheng F, Si J, 2017. Effects of different lignocellulose as inducers on laccase activities of *Pleurotus ostreatus* in submerged fermentation. Mycosystema, 36(3): 349-357 (in Chinese)
- Han ML, Bian LS, Jiang HH, An Q, 2020. Effects of different carbon and nitrogen sources on lignocellulolytic enzyme activities of *Pleurotus ostreatus*. Mycosystema, 39(8): 1538-1550 (in Chinese)
- Isikhuemhen OS, Mikiashvili NA, 2009. Lignocellulolytic enzyme activity, substrate utilization, and mushroom yield by *Pleurotus ostreatus* cultivated on substrate containing anaerobic digester solids. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 36: 1353-1362
- Janusz G, Czuryło A, Frąc M, Rola B, Sulej J, Pawlik A, Siwulski M, Rogalski J, 2015. Laccase production and metabolic diversity among *Flammulina velutipes* strains. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 31: 121-133
- Kabel MA, Jurak E, Mäkelä MR, de Vries RP, 2017. Occurrence and function of enzymes for lignocellulose degradation in commercial *Agaricus bisporus* cultivation. Applied Microbiology and Biotechnology, 101: 4363-4369
- Kameshwa AKS, Qin WS, 2016. Recent developments in using advanced sequencing technologies for the genomic studies of lignin and cellulose degrading microorganisms. International Journal of Biological Sciences, 12(2): 156-171

- Karp SG, Faraco V, Amore A, Letti LAJ, Soccol VT, Soccol CR, 2015. Statistical optimization of laccase production and delignification of sugarcane bagasse by *Pleurotus ostreatus* in solid-state fermentation. *BioMed Research International*, 2015: 181204
- Li CH, Qu MQ, Cao H, Deng WQ, Shang XD, Song B, Tan Q, 2013. Checklist of common names of mushrooms in China. *Acta Edulis Fungi*, 20(3): 50-72 (in Chinese)
- Lu H, Xu N, Wang CH, Feng LG, Deng ZL, Xia YL, 2019. Effects of different nutritional conditions on the growth of mycelium of *Lepista sordida*. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 47(19): 113-117 (in Chinese)
- Ma HF, Cui BK, Yuan Y, Chen YY, Dai YC, Si J, 2018. Optimization of liquid medium composition for the production of cellulase from brown rot fungus *Antrodia bambusicola* by response surface methodology. *Biotechnology Bulletin*, 34(4): 91-101 (in Chinese)
- Mazur X, Becker U, Anke T, Sterner O, 1996. Two new bioactive diterpenes from *Lepista sordida*. *Phytochemistry*, 43(2): 405-407
- Naraian R, Narayan OP, Srivastava J, 2014. Differential response of oyster shell powder on enzyme profile and nutritional value of oyster mushroom *Pleurotus florida* PF05. *BioMed Research International*, 2014: 386265
- Naraian R, Sahu RK, Kumar S, Garg SK, Singh CS, Kanaujia RS, 2009. Influence of different nitrogen rich supplements during cultivation of *Pleurotus florida* on corn cob substrate. *Environmentalist*, 29: 1-7
- Niemenmaa O, Uusi-Rauve A, Hatakka A, 2007. Demethoxylation of [O¹⁴CH₃]-labelled lignin model compounds by the brown-rot fungi *Gloeophyllum trabeum* and *Poria (Postia) placenta*. *Biodegradation*, 19: 555-565
- Peña A, Babiker R, Chaduli D, Lipzen A, Wang M, Chovatia M, Rencoret J, Marques G, Sánchez-Ruiz MI, Kijpornyongpan T, Salvachúa D, Camarero S, Ng V, Gutiérrez A, Grigoriev IV, Rosso MN, Martínez AT, Ruiz-Dueñas FJ, 2021. A multiomic approach to understand how *Pleurotus eryngii* transforms non-woody lignocellulosic material. *Journal of Fungi*, 7: 426
- Philippoussis A, Zervakis G, Diamantopoulou P, 2001. Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(2): 191-200
- Schutyser W, Renders T, van den Bosch S, Koelewijn SF, Beckham GT, Sels BF, 2018. Chemicals from lignin: an interplay of lignocellulose fractionation, depolymerisation, and upgrading. *Chemistry Society Reviews*, 47: 852-908
- Si J, Cui BK, Dai YC, 2011a. Primary screening of effective *Trametes* strains with high laccase-productivity and optimization of conditions on laccase production. *Microbiology China*, 38(3): 405-416 (in Chinese)
- Si J, Cui BK, He S, Dai YC, 2011b. Optimization of conditions for laccase production by *Perenniporia subacida* and its application in dye decolorization. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 17(5): 736-741 (in Chinese)
- Si J, Li W, Cui BK, Dai YC, 2011c. Advances of research on characteristic, molecular biology and applications of laccase from fungi. *Biotechnology Bulletin*, 2: 48-55 (in Chinese)
- Sulej J, Janusz G, Osińska-Jaroszuk M, Malek P, Mazur A, Komaniecka I, Choma A, Rogalski J, 2013. Characterization of cellobiose dehydrogenase and its FAD-domain from the ligninolytic basidiomycete *Pycnoporus sanguineus*. *Enzyme and Microbial Technology*, 53: 427-437
- Sun SJ, Shan SK, Li ZF, Guo YY, Chen WX, Hu KH, 2015. Effects of trace elements on the mycelial growth and enzyme activities of *Hypsizygus marmoreus*. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*,

- 44(6): 639-645 (in Chinese)
- Tohtirjap A, Zhang GQ, Guo YX, Zhang WQ, Chen QJ, Yang JY, 2020. Lignocellulose utilization and changes in lignocellulosic enzyme during *Volvariella volvacea* cultivation using spent mushroom substrate of *Pleurotus eryngii*. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 26(3): 520-527 (in Chinese)
- Tuyen DV, Phuong HN, Cone JW, Baars JJP, Sonnenberg ASM, Hendriks WH, 2013. Effect of fungal treatments of fibrous agricultural by-products on chemical composition and *in vitro* rumen fermentation and methane production. Bioresource Technology, 129: 256-263
- Vasina DV, Pavlov AR, Koroleva OV, 2016. Extracellular proteins of *Trametes hirsuta* st. 072 induced by copper ions and a lignocellulose substrate. BMC Microbiology, 16: 106
- Wang PM, Liu XB, Dai YC, Horak E, Steffen K, Yang ZL, 2018. Phylogeny and species delimitation of *Flammulina*: taxonomic status of winter mushroom in East Asia and a new European species identified using an integrated approach. Mycological Progress, 17: 1013-1030
- Weng JK, Li X, Bonawitz ND, Chapple C, 2008. Emerging strategies of lignin engineering and degradation for cellulosic biofuel production. Current Opinion in Biotechnology, 19: 166-172
- Wu Y, Ma HF, Cao YJ, Si J, Cui BK, 2019. Advances on properties, production, purification and immobilization of fungal laccase. Biotechnology Bulletin, 35(9): 1-10 (in Chinese)
- Wu Y, Ma HF, Cao YJ, Si J, Cui BK, 2020. Medium optimization for the laccase production by white rot fungus *Porodaedalea laricis* and its dye decolorizing capacity. Biotechnology Bulletin, 36(1): 45-59 (in Chinese)
- Xu JZ, Zhang JL, Hu KH, Zhang WG, 2013. The relationship between lignin peroxidase and manganese peroxidase production capacities and cultivation periods of mushrooms. Microbial Biotechnology, 6(3): 241-247
- Yelle DJ, Ralph J, Lu F, Hammel KE, 2008. Evidence for cleavage of lignin by a brown rot basidiomycete. Environmental Microbiology, 10(7): 1844-1849
- Zhang XJ, Hua J, Yan JQ, Long HZ, Huo GH, Zhang C, Zhang LP, Cui CY, 2020. Optimization of carbon and nitrogen sources of liquid inoculant of *Ganoderma* sp. in Jiangxi and their vitality evaluation. Food Science and Technology, 45(4): 19-25 (in Chinese)
- Zhang YT, Song MZ, Wang XF, Liu ZJ, 2021. Enzyme activity and decolorization of laccase from *Trichoderma pleuroticola*. Journal of Jilin Agricultural University, 43(3): 317-323 (in Chinese)
- Zhao CJ, Zhang YJ, Gong JL, Yu J, Zhao ZY, Ruan H, Fan BW, Li ZT, 2020. Effects of different carbon and nitrogen nutrients on extracellular enzyme activity of *Hericium erinaceus*. Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University, 32(3): 1-6 (in Chinese)
- Zhao CM, Du F, Zou YJ, Hu QX, Zheng SY, 2020. Study on the relationship between mycelial growth and lignin degrading enzymes of *Pleurotus eryngii* based on different substrates. Edible Fungi of China, 39(11): 109-114 (in Chinese)
- Zheng F, Meng G, An Q, Wu XJ, Si J, Liu HX, 2017. Physiological studies on laccase-producing process of white rot fungus *Trametes orientalis* incubated with two kinds of liquid media. Mycosystema, 36(5): 582-597 (in Chinese)
- [附中文参考文献]
- 阿布来提·托合提热结甫, 张国庆, 果禹鑫, 张文强, 陈青君, 杨佳玉, 2020. 杏鲍菇菇渣栽培草菇过程中木质纤维素利用及其降解酶活性变化. 应用与环境生物学报, 26(3): 520-527
- 安琪, 吴雪君, 吴冰, 戴玉成, 2015. 不同碳源和氮源对金针菇降解木质纤维素酶活性的影响. 菌物学报, 34(4): 761-771
- 曹永佳, 马鸿飞, 崔宝凯, 司静, 戴玉成, 2021. 不同固体发酵培养基下三种白腐真菌分泌的木

- 质纤维素酶活性. 菌物学报, 40(5): 1123-1139
- 陈小敏, 吴海冰, 向泉桔, 辜运富, 张小平, 2018. 香菇 UDP-葡萄糖焦磷酸化酶转录水平及酶活性对不同碳氮源的响应特征. 四川大学学报 (自然科学版), 55(1): 214-220
- 戴玉成, 杨祝良, 2008. 中国药用真菌名录及部分名称的修订. 菌物学报, 27(6): 801-824
- 戴玉成, 周丽伟, 杨祝良, 文华安, 图力古尔, 李泰辉, 2010. 中国食用菌名录. 菌物学报, 29(1): 1-21
- 高峰, 曹旻, 何明霞, 刘静, 方艺伟, 刘春霞, 2017. 香菇、杏鲍菇与平菇部分胞外酶种类及活性变化规律的对比分析. 北方园艺, 23: 199-206
- 郭艳艳, 阮玲云, 冯宏昌, 胡开辉, 孙淑静, 2014. 不同营养条件下斑玉蕈菌丝生长及产酶特性. 菌物学报, 33(3): 697-705
- 韩美玲, 安琪, 吴雪君, 郑飞, 司静, 2017. 不同木质纤维素诱导对糙皮侧耳液体发酵产漆酶活性的影响. 菌物学报, 36(3): 349-357
- 韩美玲, 边禄森, 姜宏浩, 安琪, 2020. 不同碳氮源对糙皮侧耳木质纤维素酶活性的影响. 菌物学报, 39(8): 1538-1550
- 李传华, 曲明清, 曹晖, 邓旺秋, 尚晓冬, 宋斌, 谭琦, 2013. 中国食用菌普通名名录. 食用菌学报, 20(3): 50-72
- 陆欢, 徐宁, 王春晖, 冯立国, 邓召利, 夏义良, 2019. 不同营养条件对花脸香蘑菌丝生长的影响. 江苏农业科学, 47(19): 113-117
- 马鸿飞, 崔宝凯, 员瑗, 陈圆圆, 戴玉成, 司静, 2018. 响应面法优化褐腐真菌竹生薄孔菌产纤维素酶的液体培养基. 生物技术通报, 34(4): 91-101
- 司静, 崔宝凯, 戴玉成, 2011a. 栓孔菌属漆酶高产菌株的初步筛选及其产酶条件的优化. 微生物学通报, 38(3): 405-416
- 司静, 崔宝凯, 贺帅, 戴玉成, 2011b. 微酸多年卧孔菌产漆酶条件优化及其在染料脱色中的应用. 应用与环境生物学报, 17(5): 736-741
- 司静, 李伟, 崔宝凯, 戴玉成, 2011c. 真菌漆酶性质、分子生物学及其应用研究进展. 生物技术通报, 2: 48-55
- 孙淑静, 单书凯, 李钊锋, 郭艳艳, 陈文星, 胡开辉, 2015. 不同微量元素对斑玉蕈菌丝生长及酶活的影响. 福建农林大学学报 (自然科学版), 44(6): 639-645
- 吴怡, 马鸿飞, 曹永佳, 司静, 崔宝凯, 2019. 真菌漆酶的性质、生产、纯化及固定化研究进展. 生物技术通报, 35(9): 1-10
- 吴怡, 马鸿飞, 曹永佳, 司静, 崔宝凯, 2020. 白腐真菌落叶松锈迷孔菌产漆酶液体培养基的优化及其对染料的脱色作用. 生物技术通报, 36(1): 45-59
- 张先吉, 花纪, 颜俊清, 龙昊知, 霍光华, 张诚, 张林平, 崔朝宇, 2020. 几株主栽灵芝菌株液体菌种培养基优化及其活力评价. 食品科技, 45(4): 19-25
- 张宇婷, 宋明珠, 王雪峰, 刘忠军, 2021. 侧耳木霉产漆酶酶活力测定和脱色方法. 吉林农业大学学报, 43(3): 317-323
- 赵长江, 张亚洁, 龚教龙, 于晶, 赵志莹, 阮航, 范博文, 李佐同, 2020. 不同碳氮营养对猴头菌胞外酶活性的影响. 黑龙江八一农垦大学学报, 32(3): 1-6
- 赵翠敏, 杜芳, 邹亚杰, 胡清秀, 郑素月, 2020. 基于不同基质刺芹侧耳菌丝生长与木质素降解酶的相关性研究. 中国食用菌, 39(11): 109-114
- 郑飞, 孟歌, 安琪, 吴雪君, 司静, 刘红霞, 2017. 白腐真菌东方栓孔菌在两种液体培养基中产漆酶过程的生理学研究. 菌物学报, 36(5): 582-597

(本文责编: 韩丽)