

阿布来提·托合提热甫, 张国庆, 果禹鑫, 张文强, 陈青君, 杨佳玉. 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[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26 (3): 520-527

Tohtirjap A, Zhang GQ, Guo YX, Zhang WQ, Chen QJ, Yang JY. Lignocellulose utilization and changes in lignocellulosic enzyme during *Volvariella volvacea* cultivation using spent mushroom substrate of *Pleurotus eryngii* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2020, 26 (3): 520-527

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

阿布来提·托合提热甫 张国庆 果禹鑫 张文强 陈青君✉ 杨佳玉

北京农学院植物科学技术学院, 农业应用新技术北京市重点实验室 北京 102206

摘要 杏鲍菇是木腐型食用菌, 其菇渣可以用于草腐型食用菌(如草菇)的栽培。为探讨杏鲍菇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, 以杏鲍菇菇渣(SMS)和杏鲍菇菇渣加玉米芯(SMS-C)两个配方, 采用二次发酵工艺进行草菇栽培, 测定培养理化性质、木质纤维素含量及其降解酶活性变化, 并分析经济效益。结果显示, 一次发酵阶段, SMS配方对纤维素、半纤维素和木质素的利用率分别为17.62%、18.78%和6.39%, SMS-C配方分别为23.71%、26.02%和6.81%; 二次发酵阶段SMS配方分别为14.17%、11.12%和6.98%, SMS-C配方分别为16.36%、18.91%和4.43%; 草菇发菌和出菇过程中, SMS配方分别为13.19%、13.06%和12.63%, SMS-C配方分别为11.37%、11.41%和7.31%。两个配方培养料不同时期的纤维素酶、木聚糖酶和漆酶活性变化趋势大体一致, SMS-C配方纤维素酶活性在发酵和出菇过程中均高于SMS配方, 与期间纤维素利用率结果一致; 发菌和出菇期, SMS配方木聚糖酶活性高于SMS配方; 两个配方均在发菌阶段表现出较高的漆酶活性。SMS和SMS-C配方生物转化率分别为14.08%和11.85%, 投入产出比分别为3.71和3.12, 均高于同条件下废棉配方投入产出比。本研究表明, 利用杏鲍菇菇渣栽培草菇过程中, 优先利用纤维素和半纤维素, 表现出较高纤维素酶和木聚糖酶活性, 这种栽培方法技术可行、经济效益高。(图2 表4 参35)

关键词 杏鲍菇菇渣; 草菇栽培; 木质纤维素; 木质纤维素降解酶

Lignocellulose utilization and changes in lignocellulosic enzyme during *Volvariella volvacea* cultivation using spent mushroom substrate of *Pleurotus eryngii*

TOHTIRJAP · Ablat, ZHANG Guoqing, GUO Yuxin, ZHANG Wenqiang, CHEN Qingjun✉ & YANG Jiayu

Beijing Key Laboratory for Agricultural Application and New Technique, College of Plant Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China

Abstract King oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) is a wood rotting mushroom species whose spent substrate can be utilized in cultivating straw rotting mushroom (e.g. *Volvariella volvacea*). In this study, we aimed to investigate the utilization of lignocellulose and the changes occurring in lignocellulose degrading enzymes during the *V. volvacea* cultivation using spent mushroom substrate (SMS) of *P. eryngii*. For this, two formulae using SMS and SMS with corncob (SMS-C) were prepared for *V. volvacea* cultivation using the secondary fermentation technology. Physico-chemical properties, lignocellulose components, lignocellulosic enzyme activities, and economic performances of the two formulae were determined. During phase I composting, the utilization rate of cellulose, hemicellulose, and lignin of SMS formula was 17.62%, 18.78%, and 6.39%, respectively, while that of SMS-C formula was 23.71%, 26.02%, and 6.81%, respectively. During phase II composting, the utilization rate of cellulose, hemicellulose, and lignin of SMS formula was 14.17%, 11.12%, and 6.98%, respectively, while that of SMS-C formula was 16.36%, 18.91%, and 4.43%, respectively. During the cultivation of mushroom, the utilization rate of cellulose, hemicellulose, and lignin of SMS formula was 13.19%, 13.06%, and 12.63%, respectively, while that of SMS-C formula was 11.37%, 11.41%, and 7.31%, respectively. The change trends of cellulase, xylanase, and laccase in the two formulae at different stages were

收稿日期 Received: 2019-07-18 接受日期 Accepted: 2019-08-30

现代农业产业技术体系北京市食用菌创新团队(BAIC05-2019)、北京市农委农业科技项目(20180125)和北京市科技计划项目(Z181100009818007)资助 Supported by the Beijing Innovation Consortium of Agriculture Research System (BAIC05-2019), the Beijing Agricultural Committee Agricultural Science and Technology Project (20180125) and the Beijing Science and Technology Plan (Z181100009818007)

✉通讯作者 Corresponding author (E-mail: cqj3305@126.com)

similar. Cellulase activity of SMS-C formula at different stages was higher than that of SMS formula, which was consistent with the results of cellulose utilization. Xylanase activity of SMC formula was higher than that of SMS-C formula during mushroom cultivation. Laccase activity of the two formulae increased and maximized during the pinning stage. The bioconversion rates of SMS and SMS-C formulae were 14.08% and 11.85%, respectively, and the input-output ratios were 3.71 and 3.12, respectively, which were higher than those of waste cotton formula under the same conditions. Cellulose and hemicellulose were preferentially utilized during the cultivation of *V. volvacea* with *P. eryngii* mushroom residue, showing higher cellulase and xylanase activities. These results suggest that spent mushroom substrate of *P. eryngii* is a reasonable and economical raw material for *V. volvacea* cultivation.

Keywords spent mushroom substrate of *Pleurotus eryngii*; *Volvariella volvacea* cultivation; lignocellulose; lignocellulosic enzyme

草菇 (*Volvariella volvacea*), 又名稻草菇、美味苞脚菇、秆菇等, 隶属菌物界 (Fungi) 担子菌门 (Basidiomycota) 伞菌纲 (Agaricomycetes) 伞菌目 (Agaricales) 光柄菇科 (Pluteaceae)^[1]. 草菇属于典型的高温型食用菌, 是热带和亚热带高温、潮湿地区广泛栽培的菌类. 草菇味道鲜美、营养丰富, 深受人民喜爱, 具有重要的商业价值, 同时其药用价值也受到广泛关注^[2]. 其栽培历史300多年, 是全球第三大食用菌栽培种类, 我国年产量超过30万吨, 占全球总产量80%以上^[3]. 草菇可以通过降解各种农业废弃物进行生产, 如水稻和小麦秸秆、废棉、甘蔗渣、油棕果皮、香蕉叶等, 在生产美味食用菌的同时, 还发挥着重要的生态作用^[4]. 草菇在28℃至35℃、相对湿度为65%-68%条件下快速生长, 可以更有效地利用木质纤维素材料^[5]. 草菇的栽培原料由最早的稻草栽培逐步发展到以废棉、杏鲍菇菌渣、玉米芯等原料栽培^[6]. 1971年, 在张树庭教授使用废棉栽培草菇^[7], 之后废棉成为草菇周年化栽培的主要原料. 经典的草菇周年化生产以废棉或棉籽壳为原料, 利用石灰水浸透后捞起堆置自然发酵2 d, 控制含水量65%-70%、pH 9-10, 转入栽培床架、料厚5-7 cm, 通过蒸汽加温, 保持培养料温度达到65℃、维持4-6 h, 后自然降温至36℃左右进行草菇接种和出菇管理^[1]. 近年来, 废棉原料缺乏、价格上涨, 并存在原料掺假、生产过程排出大量废水、劳动强度大等问题, 亟待解决替代废棉进行草菇周年生产的优质栽培基质.

菇渣 (spent mushroom substrate, SMS), 又称菌渣、菌糠, 是生产食用菌之后剩余的栽培基质, 其中含有丰富的纤维素、半纤维素、木质素、菌丝残体蛋和矿物质等, 具有较高的利用价值, 可作为二次栽培食用菌的原料, 也可用作有机肥和饲料^[8]. 食用菌菌丝生长过程中, 将原料中纤维素、半纤维素、木质素、粗蛋白等生物大分子有效降解为低聚糖、多肽、氨基酸、有机酸等小分子物质, 同时还富含食用菌菌体蛋白^[9]. 根据中国食用菌协会统计数据, 2017年全国食用菌总产量超过3 000万吨, 按照食用菌平均生物转化率40%计算, 2017年全国菇渣总产量达到5 000万吨. 菇渣来源广, 价格便宜, 营养丰富, 透气性和吸水性优良, 可以作为替代废棉栽培草菇的主要原料. 杏鲍菇菇渣是指杏鲍菇出菇后的培养料 (下脚料), 主要是工厂化生产第一潮菇采收后的培养料. 近年来以杏鲍菇菇渣作为原料用于食用菌再生产的研究很多, 但由于原材料、二次栽培菇种和栽培工艺的不同, 其菇渣营养成分有较大差异, 使用效果上大有异同^[10]. 张志鸿等利用工厂化杏鲍菇菇渣 (98.5%)、石灰粉 (0.75%) 和碳酸钙 (0.75%) 配方, 进行一次发酵栽培草菇, 采收一潮菇和三潮菇的生物学效率分别为

11.6%和24.6%^[11]. 林金盛等利用95%杏鲍菇菌渣加5%熟石灰配方, 堆肥4 d后栽培草菇, 采收一潮和三潮菇的生物学效率分别为8.15%和17.6%^[12]. 黄春燕等用95%杏鲍菇菌渣加5%石灰配方, 室内发酵4 d栽培草菇, 采收三潮菇的生物学效率达到11.24%^[13]. 另外, 由于玉米芯含有较高的纤维素、半纤维素, 也常作为补充剂, 用于菇渣生产草菇. 任海霞等以杏鲍菇菌渣添加30%-40%的玉米芯为原料进行草菇生产, 玉米芯的添加能够调节原料碳氮比、增加原料持水量, 并可显著提高草菇产量^[14].

草菇生产过程是对栽培基质中木质纤维素的利用转化过程, 草菇可分泌木质纤维素酶降解木质纤维素, 并将其转化为自身生长所需要的营养物质^[15]. 木质纤维素主要由纤维素、半纤维素和木质素组成^[16]. 根据木质纤维素的组成元件, 可将木质纤维素降解酶划分为纤维素降解酶系、半纤维素降解酶系和木质素降解酶系^[17]. 草菇拥有较完备的纤维素降解酶系和半纤维素降解酶系^[18], 近年来的研究还表明, 草菇具一定漆酶活性, 木质素降解酶系存在^[19]. 草菇胞外木质纤维素酶活性对其生物转化率具有重要影响^[20]. 另一方面, 草菇栽培基质的制备过程是利用环境微生物进行自然发酵和巴氏灭菌的过程, 在这个过程中, 环境微生物将原料转化为草菇菌丝能够生长的栽培基质, 而这个过程原料的木质纤维素含量和降解酶变化缺乏系统研究. 另外, 根据前期生产调研的结果, 以菇渣为唯一原料的配方经济效益高于菇渣加玉米芯配方. 因此, 本研究以杏鲍菇菇渣为主要原料, 设计杏鲍菇菇渣 (SMS) 和杏鲍菇菇渣加玉米芯 (SMS-C) 两个配方, 参照双孢蘑菇工厂化栽培培养料二次发酵工艺对菇渣进行发酵处理, 追踪从堆肥到一潮菇结束过程中, 培养料中木质纤维素含量及降解酶活性变化, 为杏鲍菇菇渣栽培草菇提供基础理化数据与实践依据.

1 材料与方法

1.1 供试菌种

草菇V6, 来自北京菌益农种植有限公司.

1.2 供试菇渣

新鲜、无污染的杏鲍菇菇渣来自工厂化栽培企业, 其栽培配方为木屑30%、玉米芯30%、麸皮25%、豆粕6%、玉米粉7%、轻质碳酸钙1%、过磷酸钙1%.

1.3 配方

配方1 (SMS): 98%杏鲍菇菇渣 + 2%石灰.

配方2 (SMS-C): 79%杏鲍菇菇渣 + 19%玉米芯 + 2%

石灰。

1.4 菇渣发酵和草菇栽培

原料混匀后堆成宽 $\times$ 长 $\times$ 高为4 m $\times$ 10 m $\times$ 1.5 m的堆,喷水淋湿24 h,喷水带置于堆肥高处,让菇渣充分吸水,含水量达到70%左右。喷水结束后加入2%石灰进行混料调节原料的pH,然后进行第一次发酵(phase I compost, PI)。一次发酵在露天场地,建堆高度为2.5-3 m,每隔2 d用铲车翻堆,共9 d。一次发酵结束后培养料运输到菇房进行二次发酵(phase II compost, PII),在1.4 m $\times$ 5.6 m床架上堆高为0.2 m进行二次发酵,首先密封菇房进行自然发酵5 d,第6天时通入70 $^{\circ}$ C高温蒸汽进行灭菌,保持5 h,自然降温。第7天喷水(平均1 kg/m²)并播种,播种量0.3 kg/m²,播种时料温38-40 $^{\circ}$ C,培养料湿度70%。菌丝生长期及出菇期菇房温度保持在30-35 $^{\circ}$ C,培养料湿度保持在65%左右。

1.5 取样

(1) 一次发酵前(before the phase I compost, PI-b):在料堆离表面0.2 m处随机选取10个点,每个点取样500 g充分混匀后,从中取500 g样品平均分成10份,-80 $^{\circ}$ C保存。

(2) 一次发酵结束(the end of phase I compost, PI-e):采用网袋法^[21]取样,一次发酵前培养料装入6个尼龙网袋,每袋10 kg,分别随机放置在堆肥料表面0.5 m以下不同位置。一次发酵结束时,对6个尼龙网袋培养料分别称重,每袋取500 g混匀,从中取500 g样品平均分成10份,-80 $^{\circ}$ C保存。

(3) 二次发酵结束(the end of phase II, PII-e)、原基形成(pinning, Pn)和一潮菇出菇结束期(the end of first flush, F)样品采集参照Mamiro等人的方法^[22],使用栽培筐进行取样。一次发酵结束后,称取8.0 kg培养料装入到塑料栽培筐(40 cm $\times$ 35 cm $\times$ 15 cm)中(每个栽培筐的栽培面积是0.14 m²)放入菇床中,每个配方种植3个菇房,每个菇房设9个栽培框共计27个。在二次发酵结束期、原基形成期和一潮菇采菇结束后每个时期随机对3个栽培筐中的培养料进行称重和多点取样(每筐500 g),充分混合,从中取500 g样品平均分成10份,-80 $^{\circ}$ C保存。每个时期5份样品供酶活测定使用;其余5份用于培养料基础理化数据和木质纤维素组分含量测定。

1.6 理化性质测定

分别测定原料和不同时期栽培基质的理化性质,包括含水量、pH值、含氮量、含碳量和灰分含量。称取100 g新鲜样品,置于烘箱105 $^{\circ}$ C过夜,采用干燥称重法测定样品的含水量^[23]。取5.0 g新鲜样品,用50 mL蒸馏水稀释后采用pH仪(PHH-7200, OMEGA)测定pH。采用凯氏定氮法测含氮量^[24]。采用灼烧重量法计算样品的含碳量和灰分含量^[25]。

1.7 木质纤维素含量及相关酶活测定

根据Ahmadi的滤袋方法^[26]测定纤维素和半纤维素含量。根据Jurak的方法^[21]测定木质素的含量,每个样品3个重复。取3.0 g样品,加入30 mL的生理盐水,25 $^{\circ}$ C、220 r/min振荡摇2 h,4层纱布过滤后,12 000 r/min、4 $^{\circ}$ C离心10 min,收集上清即为粗提酶液。分别以滤纸和木聚糖作为底物采用DNS法^[27]测定木聚糖酶、滤纸纤维素酶活性,反应在50 $^{\circ}$ C和pH 4.8进行30 min,酶活单位(Unit, U)定义为每min释放1 μ mol葡萄糖;采用ABTS法^[28]测定漆酶活性,反应在37 $^{\circ}$ C水浴进行5 min,酶活单位(Unit, U)定义为每min催化1 μ mol ABTS生成产物所需的酶量。

1.8 产量、生物学效率与经济效益分析

分别统计两个配方每个菇房草菇产量,并计算生物学转

化效率。生物学转化效率等于每平方米蘑菇的鲜重与培养料(二次发酵结束后)干重的比值。

$$BE = FWm/DWs \times 100\%$$

其中, BE是生物学效率(%); FWm是蘑菇鲜重总量(g); DWs是培养料干重(g)。

$$\text{产出投入比} = \text{总收益}/\text{总投资}$$

调研菇渣、玉米芯、废棉等原料价格、单位面积管理与运行成本以及鲜菇销售价格,计算不同配方经济效益,产出投入比。

2 结果与分析

2.1 原料理化性质分析

杏鲍菇菇渣(SMS)和玉米芯(C)原料理化性质如表1所示。杏鲍菇菇渣和玉米芯含水量分别为62.11%和35.17%,这是由于菇渣为新鲜原料,而玉米芯为自然风干。杏鲍菇菇渣含氮量和灰分均显著高于玉米芯,这是由于菇渣中具有大量的菌体蛋白,且杏鲍菇栽培配方中加入的钙盐以及水中的矿物质元素引起。杏鲍菇菇渣pH值为4.52,显著低于玉米芯的7.32,这是由于菌丝生长过程中向基质中分泌酸所导致。杏鲍菇菇渣中纤维素、半纤维素、木质素含量分别为20.38%、14.33%和21.01%,玉米芯中三者含量分别为28.83%、29.51%和7.07%,玉米芯中含有较高的纤维素与半纤维素,因此生产实践中,通过添加适量玉米芯,提高菇渣中纤维素与半纤维素的不足,从而提高草菇产量。

表1 原材料理化性质

Table 1 The physicochemical properties of raw materials

理化性质 Physicochemical property	杏鲍菇菇渣 Spent mushroom substrate (SMS)	玉米芯 Cornob (C)
含水量 Moisture (w/%)	62.11 $\pm$ 1.84	35.17 $\pm$ 2.06
含碳量 Carbon content (w/%)	48.45 $\pm$ 2.48	51.37 $\pm$ 0.26
含氮量 Nitrogen content (w/%)	1.77 $\pm$ 0.06	0.68 $\pm$ 0.01
碳氮比 C/N ratio (r/%)	27.28 $\pm$ 1.34	76.46 $\pm$ 0.16
灰分 Ash (w/%)	12.77 $\pm$ 4.47	7.53 $\pm$ 0.48
pH	4.52 $\pm$ 0.07	7.32 $\pm$ 0.15
纤维素 Cellulose (w/%)	20.38 $\pm$ 0.06	28.83 $\pm$ 0.05
半纤维素 Hemicellulose (w/%)	14.33 $\pm$ 0.01	29.51 $\pm$ 0.06
木质素 Lignin (w/%)	21.01 $\pm$ 1.58	7.07 $\pm$ 1.68

2.2 不同时期培养料理化性质的变化

测定SMS和SMS-C 2个配方培养料在一次发酵前(PI-b)、一次发酵结束(PI-e)、二次发酵结束(PII-e)、原基形成(Pn)和一潮菇采菇结束(F)共5个时期理化性质,结果如表2所示。在整个栽培过程中,培养基pH值均在8.5-9.5,这是由于草菇的菌丝最适生长pH 8.0-9.0、子实体发生最适pH 7.5-8.0。一次发酵前(PI-b), SMS配方具有较高的含氮量(1.75%)和较低的碳氮比(27.05:1),这是由于玉米芯的添加降低了SMS-C配方的含氮量,提高了其碳氮比,而SMS配方高含氮量、低碳氮比的特性一直维持到一潮菇采菇结束(F)。二次发酵结束时, SMS和SMS-C配方培养料碳氮比分别21.61:1和24.30:1、含水量分别为62.70%和61.71%, pH值分别8.98和8.78。前人报道,草菇培养料最适碳氮比为20:1-30:1,最适含水量为65%-70%,最适pH值为8.0-8.5^[1]。表明两个配方堆肥结束时,培养料理化性质基本达到草菇菌丝生长最适营养需求。在二次发酵结束时, 2个配方碳氮比差距缩小,分别为21.61:1和24.30:1,这是由于玉米芯中含有丰富的

单糖,更容易被微生物利用^[29]。出菇过程中2个配方碳氮比继续缓慢下降,这是由于草菇菌丝生长产生大量菌体蛋白导致。

2.3 不同时期培养料木质纤维素含量的变化

从堆肥开始到出菇结束的过程中,2个配方木质纤维素组分相对含量变化如图1所示。在培养料发酵、草菇菌丝生长和出菇过程中,两个配方木质纤维素相对含量发生了较明显的变化。与发酵前相比,二次发酵结束时SMS和SMS-C配方纤维素相对含量分别为17.72%和16.97%,分别降低3.16%和5.00%;半纤维素含量分别为10.15%和9.61%,分别降低1.54%和3.94%。在二次发酵阶段纤维素和半纤维素相对含量下降SMS-C大于SMS,说明在发酵阶段SMS-C损耗了更多的纤维素和半纤维素,这是由于玉米芯中含有更高的纤维素和半纤维素,更易于被降解。在草菇发菌和出菇阶段,纤维素和半纤维素相对含量都表现下降趋势。SMS和SMS-C配方纤维素相对含量分别从二次发酵结束的17.72%和16.97%,下降到出菇结束时的15.98%和15.54%,分别下降了1.24%和1.43%;半纤维素相对含量分别从二次发酵结束的10.15%和9.61%,下降到出菇结束时的9.48%和8.61%,分别下降了0.37%和1.00%。而另一方面,两配方木质素相对含量虽然在发酵阶段有小幅度上升,但整个栽培过程在18.26%-21.64%之间保持

相对稳定状态。结果表明,草菇菌丝生长主要利用了纤维素和半纤维素,而木质素含量在发酵期、草菇发菌和出菇阶段变化较小。

培养料中木质纤维素绝对含量的变化能反映其实际利用情况。将一次发酵前培养料的干重设为1 000 g,通过含水量计算干物质的质量变化,并通过纤维素、半纤维素和木质素占干物质的百分含量来计算质量变化,结果如表3所示。在一次发酵阶段,SMS和SMS-C配方分别利用了11.68%和11.51%的干物质,其中纤维素利用率分别为17.62%和23.71%,半纤维素利用率分别为18.78%和26.02%,木质素利用率分别为6.39%和6.81%。在二次发酵阶段,SMS和SMS-C配方分别利用了7.59%和10.90%的干物质,其中纤维素利用率分别为14.17%和16.36%,半纤维素利用率分别为11.12%和18.91%,木质素利用率分别为6.98%和4.43%。结果表明,堆肥阶段主要利用纤维素和半纤维素,而木质素利用率较低,这是与双孢蘑菇堆肥过程结果^[30]一致。在一、二次发酵过程中,SMS-C配方木质纤维素利用率均高于SMS配方,这是由于玉米芯原料碳氮比高(76.46:1,表1)、并含有容易被微生物利用的单糖,其堆肥微生物丰度更高,因而木质素利用率更高,也导致原料营养过多消耗而造成草菇产量降低。在草菇菌丝

表2 培养料理化性质
Table 2 The physicochemical properties of compost

样品名称 Sample	含碳量 Carbon content (w%)	含氮量 Nitrogen content (w%)	灰分 Ash (w%)	pH	含水量 Moisture (w%)	碳氮比 C/N ratio (r%)
PI-b	SMS	47.53 ± 1.70	1.75 ± 0.28	14.43 ± 2.07	9.47 ± 0.21	27.05 ± 1.11
	SMS-C	48.45 ± 2.48	1.43 ± 0.02	12.97 ± 1.47	9.06 ± 0.16	33.88 ± 0.19
PI-e	SMS	45.65 ± 1.32	1.83 ± 0.07	17.36 ± 1.36	8.57 ± 0.07	24.94 ± 0.84
	SMS-C	46.35 ± 1.32	1.53 ± 0.02	16.56 ± 0.36	8.76 ± 0.05	30.29 ± 0.14
PII-e	SMS	43.44 ± 0.92	2.01 ± 0.10	19.64 ± 1.65	8.98 ± 0.09	21.61 ± 0.70
	SMS-C	42.54 ± 0.92	1.75 ± 0.01	23.37 ± 1.65	8.78 ± 0.33	24.30 ± 1.46
Pn	SMS	42.13 ± 1.55	2.18 ± 0.06	24.17 ± 0.73	8.69 ± 0.18	19.32 ± 0.87
	SMS-C	41.78 ± 1.55	1.81 ± 0.06	24.78 ± 1.73	8.65 ± 0.25	23.08 ± 0.56
F	SMS	40.65 ± 1.74	2.22 ± 0.03	26.83 ± 0.96	8.65 ± 0.06	18.31 ± 0.78
	SMS-C	39.35 ± 1.74	1.87 ± 0.05	29.17 ± 1.96	8.96 ± 0.07	21.04 ± 0.72

SMS: 菇渣; SMS-C: 菇渣加玉米芯; PI-b: 一次发酵前; PI-e: 一次发酵结束; PII-e: 二次发酵结束; Pn: 原基形成; F: 一潮菇采菇结束。
SMS: Spent mushroom substrate; SMS-C: Spent mushroom substrate-corncob; PI-b: Before the phase I compost; PI-e: The end of phase I compost; PII-e: The end of phase II compost; Pn: Pinning; F: The end of the flush.

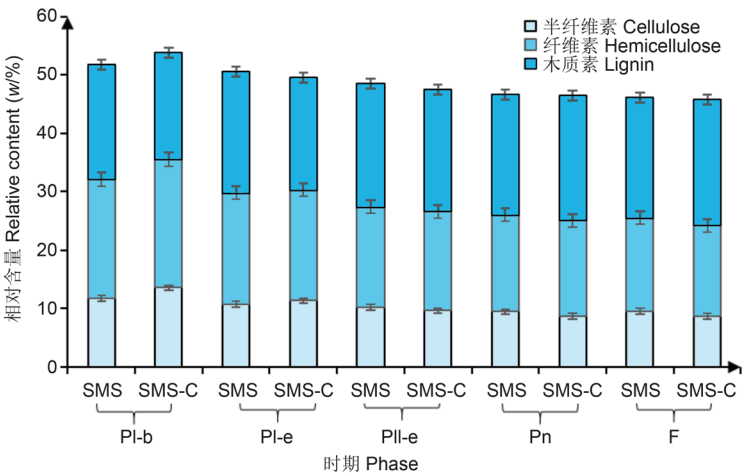


图1 不同时期培养料木质纤维素的含量。SMS: 菇渣; SMS-C: 菇渣加玉米芯; PI-b: 一次发酵前; PI-e: 一次发酵结束; PII-e: 二次发酵结束; Pn: 原基形成; F: 采菇结束。
Fig. 1 The lignocellulose contents of compost in different phases. SMS: Spent mushroom substrate; SMS-C: Spent mushroom substrate-corncob; Raw: Raw materials; PI-b: Before of phase I compost; PI-e: The end of phase I compost; PII-e: The end of phase II compost; Pn: Pinning; F: The end of the flush.

生长和出菇的整个过程中, SMS和SMS-C配方分别利用了10.34%和8.93%的干物质, 其中纤维素利用率分别为13.19%和11.37%, 半纤维素利用率分别为13.06%和11.41%, 木质素利用率分别为12.63%和7.31%。在草菇菌丝生长的发菌阶段, SMS和SMS-C配方分别利用了6.90%和7.31%的干物质, 其中纤维素利用率分别为8.22%和7.60%, 半纤维素利用率分别为10.59%和10.17%, 木质素利用率分别为9.13%和6.12%。在出菇阶段, SMS和SMS-C配方对干物质利用率均较低, 分别为3.44%和1.62%, 其中纤维素利用率分别为4.97%和3.77%, 半纤维素利用率分别为2.47%和1.24%, 木质素利用率分别为3.50%和1.19%。在发菌和出菇过程中, SMS配方表现出更高的木质纤维素利用率。综合分析表明, 菇渣种植草菇的纤维素和半纤维素利用率主要发生在发酵期和发菌期, 出菇期利用较少; 而木质素在整个栽培过程中利用率均不高, 在发菌至原基形成时利用率相对稍多, 其他时期利用率都很少。

2.4 不同时期木质纤维素降解酶活的变化

在不同时期, 两个配方培养料的纤维素酶、木聚糖酶和漆酶活性变化趋势大体一致。如图2A所示, 从一次发酵开始纤维素酶活性呈现逐渐升高趋势, 在原基形成期达到最大值, 然后开始下降, 而SMS-C配方纤维素酶活性高于SMS。木聚糖酶是降解半纤维素的关键酶, 其活性代表半纤维素降解能力。如图2B所示, SMS配方在除二次发酵结束阶段之外其他4个阶段时, 木聚糖酶活性高于SMS-C配方。在一次发酵阶段木聚糖活性变化不大, 二次发酵结束都开始上升。SMS-C在发菌阶段至原基期木聚糖酶活性一直处于一个较高酶活状态, 在4.74-4.79 U/g之间, SMS在原基形成时达到最高值5.52 U/g, 出菇阶段下降, 但仍显著高于SMS-C。漆酶是反映木质素酶活性的主要酶。如图2C所示, 在一次发酵前菇渣中有20-50 U/g的酶活性, 这可能跟菇渣中残留的杏鲍菇菌丝有关。一次发酵到二次发酵结束几乎没有漆酶活性, 发菌期至原基出现漆酶出现最大值, SMS配方酶活高于SMS-C酶活, 达到160.61 U/g, 出菇阶段两个配方漆酶活性都下降。

2.5 产量、生物学效率与经济效益

SMS和SMS-C配方种植草菇采收第一潮菇, 测定单位面积产量和生物学效率如表4所示。SMS配方的单位面积产量为2.27 kg/m², 略高于SMS-C配方的单位面积产量(2.01 kg/m²)。SMS配方生物学效率高于SMS-C配方, 分别为14.08%和11.85%。根据对试验基地的调研结果, 菌渣0.12元/kg(水分60%左右, 折合干料为0.3元/kg), 玉米芯0.3元/kg(水分

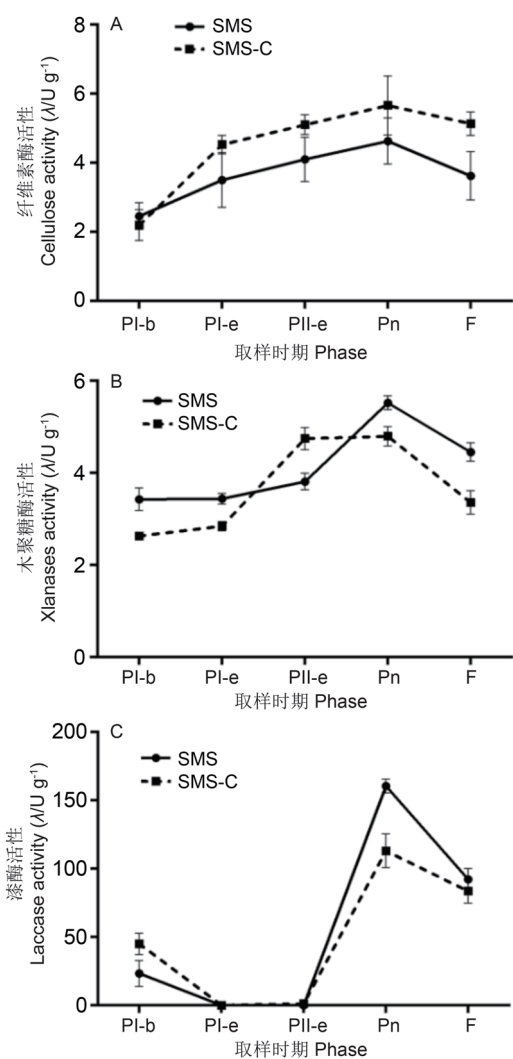


图2 培养料各时期木质纤维素降解相关酶活性。SMS: 菇渣; SMS-C: 菇渣加玉米芯; A: 纤维素酶; B: 木聚糖酶; C: 漆酶; PI-b: 一次发酵前; PI-e: 一次发酵结束; PII-e: 二次发酵结束; Pn: 原基形成; F: 采菇结束。
Fig. 2 The activities of lignocellulosic enzymes in compost. SMS: Spent mushroom substrate; SMS-C: Spent mushroom substrate-corn-cob; A: Cellulase; B: Xylanase; C: Laccase; PI-b: Before the phase I compost; PI-e: The end of phase I compost; PII-e: The end of phase II compost; Pn: Pinning; F: The end of the flush.

35%左右, 折合干料为0.46元/kg), 废棉1元/kg, 管理与运行成本废棉约12元/m², 菇渣约5元/m²。北京市2019年草菇出库

表3 不同时期培养料物质变化

Table 3 The mass balance of composts at different phases

时期 Phase		总物质量 Total mass		纤维素 Cellulose		半纤维素 Hemicellulose		木质素 Lignin	
		干质量	损耗率	质量	损耗率	质量	损耗率	质量	损耗率
		Dry weight (m/g)	Loss rate (r/%)	Weight (m/g)	Loss rate (r/%)	Weight (m/g)	Loss rate (r/%)	Weight (m/g)	Loss rate (r/%)
PI-b	SMS	1000.00	-	203.80	-	116.90	-	196.80	-
	SMS-C	1000.00	-	219.70	-	135.40	-	182.60	-
PI-e	SMS	883.19	11.68	167.89	17.62	94.94	18.78	184.23	6.39
	SMS-C	884.89	11.51	167.60	23.71	100.17	26.02	170.16	6.81
PII-e	SMS	807.29	7.59	139.02	14.17	81.94	11.12	170.50	6.98
	SMS-C	775.87	10.90	131.67	16.36	74.56	18.91	162.08	4.43
Pn	SMS	738.26	6.90	122.26	8.22	69.62	10.59	152.52	9.13
	SMS-C	702.76	7.31	114.97	7.60	60.79	10.17	150.74	6.21
F	SMS	703.91	3.44	112.48	4.79	66.73	2.47	145.64	3.50
	SMS-C	686.54	1.62	106.69	3.77	59.11	1.24	148.57	1.19

SMS: 菇渣; SMS-C: 菇渣加玉米芯; PI-b: 一次发酵前; PI-e: 一次发酵结束; PII-e: 二次发酵结束; Pn: 原基形成; F: 采菇结束。

SMS: Spent mushroom substrate; SMS-C: Spent mushroom substrate-corn-cob; Raw: Raw materials; PI-b: Before the phase I compost; PI-e: The end of phase I compost; PII-e: The end of phase II compost; Pn: Pinning; F: The end of the flush.

表4 草菇生产效益

Table 4 The yield and biological efficiency (BE) of mushroom

配方 Formula	价格 Price (CNY/kg)	用量 Amount (m/kg m ⁻²)	其他费用 Other expenses (CNY/m ²)	产量 Yield (Y/kg m ⁻²)	生物学效率 Bio-efficiency (r/%)	价格 Price (CNY/kg)	纯收益 Net income (CNY/m ²)	产出投入比 Output-input ratio
SMS	0.30	16	5	2.27 ± 0.20	14.08	16	26.52	3.71
SMS-C	0.33	16	5	2.01 ± 0.02	11.85	16	21.88	3.12

价格16元/kg, 采收一潮菇情况下, SMS和SMS-C配方纯收入分别为26.52和21.88元/m², 产出投入比分别为3.71和3.12. 另外, 根据北京菌益农种植有限公司草菇基地利用废棉进行草菇栽培时的生产统计数据, 废棉用量15 kg/m², 一潮菇产量2.56 kg/m², 生物学效率17.06%, 折合经济效益20.96元/m², 产出投入比为1.51. 结果表明, 两个配方纯收益和投入均高于废棉配方.

3 讨论与结论

目前, 我国草菇周年化生产多以废棉、棉籽壳或菇渣为主要原料, 进行短时间的自然发酵(2 d左右)和二次发酵过程, 制备适宜草菇生长的培养料, 然后进一步进行接种和出菇管理. 本研究首次利用工厂化双孢蘑菇生产的堆肥工艺(一次发酵9 d、二次发酵7 d), 利用杏鲍菇菇渣和玉米芯进行草菇培养料制备和出菇, 测定了从一次发酵前到一潮菇采收结束完整生产过程中的木质纤维素含量及其降解酶活性变化, 分析了两种配方的经济效益, 为草菇工厂化生产、食用菌菇渣二次利用提供了基础数据和实践依据.

SMS和SMS-C配方在二次发酵结束后碳氮比分别为21.61:1和24.30:1, 含水量分别为62.70%和61.71%, pH值分别8.98和8.78, 与前人报道草菇培养最适营养需求范围^[1]基本一致, 表明以杏鲍菇菇渣和玉米芯为主要原料、以工厂化双孢蘑菇生产的堆肥工艺进行草菇培养料生产是可行的. 本试验在发菌及原基形成阶段含水量61%左右, 低于前人报道, 这是由于本试验二次发酵时间略长, 刚刚结束时取样, 水分偏少, 实际上播种前还会给培养料补水. 本试验菇渣在发酵过程中碳氮比和含水量逐渐下降, 而含氮量和灰分逐渐上升, 这是由于堆肥微生物增殖并利用堆肥原料的结果, 这与桑羽希等利用草菇菇渣堆肥生产双孢蘑菇过程中培养料理化性质变化^[10]一致.

草菇培养料的堆肥过程中原料木质纤维素含量和降解酶活性变化缺乏系统研究, 但前人对双孢蘑菇培养料堆肥生产过程进行了大量研究. 本研究结果表明, SMS和SMS-C两个配方在堆肥过程中, 主要利用纤维素和半纤维素, 并表现出较高了纤维素酶和木聚糖酶活性; 漆酶在一次发酵前具有较低的活性, 而一次发酵和二次发酵结束时均无漆酶活性, 这是由于杏鲍菇分泌漆酶从而在菇渣中表现出漆酶活性, 随着堆肥过程中温度的升高漆酶失活. 秦改娟等以麦草秸秆、玉米秸秆和杂草秸秆为主料的3种不同配方进行的双孢蘑菇培养料堆肥研究中, 3个配方堆肥期纤维素和半纤维素的相对含量明显下降, 木质素相对含量则几乎不变, 且表现出较高的纤维素酶和木聚糖酶活性、无漆酶活性. Zhang等利用黍秆生产双孢蘑菇培养料的堆肥过程也表现出类似的结果^[31]. 这说明, 不同堆肥配方进行一、二次发酵过程中, 木质纤维素利用趋势相近, 即主要利用纤维素和半纤维素, 而木质素利用率较低.

有研究报道, 草菇纤维素酶和半纤维素酶的活性高峰出现在发菌期, 而漆酶活性出菇期较高, 可能对子实体的形态

建成和发育产生作用^[32]. 在本试验中, 添加了玉米芯的配方SMS-C与纯菇渣配方SMS相比, 纤维素酶活性一直较高, 而木聚糖酶活性仅在二次发酵结束时高于SMS配方. 两个配方降解木质纤维素的酶活性在不同时期趋势基本一致, SMS配方接种草菇后纤维素酶、木聚糖酶和漆酶活性迅速升高, 并且在原基期达到最大值, 与前人报道^[30]基本一致. SMS-C配方接种后纤维素酶、和漆酶活性迅速升高并在原基期达到最高, 而木聚糖酶活性在发菌至原基形成阶段活性变化较低; 另一方面, SMS-C配方木聚糖酶活性在二次发酵结束时达到最高. 根据原料理化性质测定的结果(表1), 玉米芯中的半纤维素含量(29.51%)显著高于杏鲍菇菇渣(14.33%), 因此在堆肥过程中SMS-C配方木聚糖酶迅速升高, 在堆肥过程中累计消耗40.07%的半纤维素(SMS配方为31.79%), 在草菇发酵和原基形成阶段木聚糖活性由于底物量的减少而降低. 另外, 发酵至原基形成阶段, SMS配方半纤维素消耗量(8.22%)高于SMS-C配方(7.60%)(表3), 这也与图2中木聚糖酶的酶活测定结果相吻合. 漆酶活性在培养料发酵阶段几乎为零, 播种以后活性升高, 原基形成期达到最高值(SMS配方160.6 U/g, SMS-C配方113.07 U/g), 表明草菇菌丝也具有分解利用木质素的能力, 这与朱刚等人研究报道草菇基因组含有11种漆酶基因产生漆酶能够分解木质素的结论^[33]吻合.

吕军等研究报道草菇有较强的分解纤维素、半纤维素能力, 而半纤维素比纤维素容易降解^[34]. 本试验中玉米芯中含有的纤维素、半纤维素显著高于菇渣, 木质素含量低于菇渣, 加入玉米芯后的SMS-C配方发酵期和发菌期的纤维素和半纤维素损耗率都大于纯菇渣的SMS配方, 尤其纤维素更为突出, 而到出菇期SMS-C纤维素、半纤维素和木质素损耗都低于SMS配方. 这可能是加入玉米芯后在发酵阶段其养分更容易被降解利用, 到出菇期培养料中营养物质缺乏, 影响生物学效率. 试验中观察发现SMS-C二次发酵结束时的放线菌生长更旺盛, 但其最终产量并不高, 这可能与放线菌过度生长消耗营养有关. 因此可以考虑玉米芯种植草菇时尽量减少发酵时间, 减少半纤维素和纤维素的损耗, 添加玉米芯的处理方法有待改进.

草菇栽培周期短, 栽培模式多种多样, 主要以废棉、稻草、食用菌菇渣进行生产, 其产量形成主要集中在一潮菇, 约占总产量的60%-70%^[35]. 因此, 目前周年化生产时为提高单位面积经济效益, 往往只采收一潮菇. 本研究中SMS配方一潮菇生物转化率为14.08%, 高于张志鸿等利用杏鲍菇菇渣、一次发酵栽培草菇的报道(8.15%-11.6%)[11-12]. 吕晓东和陈有芳报道, 利用棉籽壳95%、麸皮5%配方生产草菇时, 一潮和三潮菇生物学效率分别为15.48%和25.8%; 杏鲍菇菌渣95%, 麸皮5%配方一潮和三潮菇生物学效率分别为10.11%和17.4%; 杏鲍菇菌渣55%、棉籽壳40%、麸皮5%配方一潮和三潮菇生物学效率分别为13.66%和22.6%^[35]. 任海霞等报道, 杏鲍菇菌渣添加30%-40%玉米芯配方三潮菇总产量为6.28 kg/m²、生物学效率为16.14%^[14]. 结合与前人相关产量性质的报道, 本研究中SMS配方接近利用前人棉籽壳、麦麸配方

的生物学效率,但略低于本基地直接利用废棉进行生产的生物学效率(17.06%)。另外,本研究在二次发酵结束时,培养料含水量(62.70%)略低于草菇生长最适含水量要求(65%-75%)、pH值(8.98)则略高于草菇生长最适pH范围(8.0-8.5),今后还可以通过调整其含水量和pH值进一步提高生物学效率。经济效益分析表明,单位面积经济效益由之前废棉配方的20.96元/m²提高至SMS配方的26.52元/m²,单位面积提

高26.53%,而SMS-C配方产量和经济效益略低,需要进一步优化其配方和堆肥工艺。由于杏鲍菇菇渣、玉米芯等原料配方生产成本低于废棉配方,且原料丰富、质量稳定,经济效益也高于废棉配方;以杏鲍菇菇渣为唯一原料的经济效益高于杏鲍菇菇渣加玉米芯配方,是由于杏鲍菇菇渣成本低于玉米芯,因此杏鲍菇菇渣单一原料的配方可以作为今后草菇生产的重要栽培配方。

参考文献 [References]

- 黄年来,林志彬,陈国良.中国食药菌学[M].上海:上海科学技术文献出版社,2010:580-585 [Huang NL, Lin ZL, Chen LG. Medicinal and edible fungi [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Literature Publishing House, 2010: 580-585]
- He BL, You LR, Ye ZW, Guo LQ, Lin JF, Wei T, Zheng QW. Construction of novel cold-tolerant strains of *Volvariella volvacea* through protoplast fusion between *Volvariella volvacea* and *Pleurotus eryngii* [J]. *Sci Horticult*, 2018, **230**: 161-168
- Bao DP, Gong M, Zheng HJ, Chen MJ, Zhang L, Wang H, Jiang JP, Wu L, Zhu YQ, Zhu G. Sequencing and comparative analysis of the straw mushroom (*Volvariella volvacea*) genome [J]. *PLoS ONE*, 2013, **8** (3): e58294
- Gao WX, Liang JF, Pizzul L, Feng XM, Zhang KQ, Castillo MD. Evaluation of spent mushroom substrate as substitute of peat in Chinese biobeds [J]. *Int Biodeter Biodegr*, 2015, **98**: 107-112
- Hou LJ, Li Y, Chen MJ, Li ZP. Improved fruiting of the straw mushroom (*Volvariella volvacea*) on cotton waste supplemented with sodium acetate [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2017, **101** (23-24): 1-9
- 李正鹏,余昌霞,黄建春,鲍大鹏,李玉,周峰.三种食用菌菌渣部分替代废棉栽培草菇[J].食用菌学报,2016, **23** (1): 27-30 [Li ZP, Yu CX, Huang JC, Bao DP, Li Y, Zhou F. Cultivation of *Volvariella volvacea* with three edible fungus residues as partial substitutes for waste cotton [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2016, **23** (1): 27-30]
- Chang ST. Production of the straw-mushroom (*Volvariella volvacea*) from cotton wastes [J]. *Mushroom J*, 1974 (21): 348-354
- Xie XL, Guo XB, Zhou L, Yao Q, Zhu HH. Study of biochemical and microbiological properties during co-composting of spent mushroom substrates and chicken feather [J]. *Waste Biomass Valor*, 2019, **10** (1): 23-32.
- 卫智涛,周国英,胡清秀.食用菌菌渣利用研究现状[J].中国食用菌,2010, **29** (5): 3-6 [Wei ZT, Zhou GY, Hu QX. Research and utilization of edible fungi residue [J]. *Edible Fungi Chin*, 2010, **29** (5): 3-6]
- 桑羽希,张昊琳,高晓静,蔡盼盼,陈青君.草菇菇渣栽培双孢蘑菇过程中的理化性状和木质纤维素分解利用研究[J].中国农学通报,2018, **35** (8): 152-157 [Sang YX, Zhang HL, Gao XJ, Cai PP, Chen QJ. Physicochemical properties and lignocellulose decomposition of *Agaricus bisporus* compost cultivated with *Volvariella volvacea* mushroom residue [J]. *Chin Agric Bull*, 2018, **35** (8): 152-157]
- 张志鸿,张金文,柯丽娜,袁滨,赖碧梅,赖志滨.杏鲍菇菌渣栽培草菇技术[J].食药菌,2011 (3): 43-44 [Zhang ZH, Zhang JW, Ke LN, Yuan B, Lai BM, Lai ZB. Cultivation of *Volvariella volvacea* with mushroom residue of *Pleurotus eryngii* [J]. *Edible med mushrooms*, 2011 (3): 43-44]
- 林金盛,郑玉海,陈云开,马健雄,蒋宁.杏鲍菇菌渣栽培草菇试验[J].中国食用菌,2016, **35** (6): 78-79 [Lin JS, Zheng YH, Chen YK, Ma JX, Jiang N. *Pleurotus eryngii* residue cultivation *Volvariella volvacea* test [J]. *Edible Fungi Chin*, 2016, **35** (6): 78-79]
- 黄春燕,宫志远,任海霞,沈秀芬,杨鹏,姚强,韩建东,万鲁长.不同菌渣栽培草菇比较试验[J].食用菌,2018, **40** (2): 40-42 [Huang CY, Gong ZY, Ren HX, Shen XF, Yang P, Yao Q, Han JD, Wan LC. Comparison of *Volvariella volvacea* cultivation with different mushroom residue [J]. *Edible Fungi*, 2018, **40** (2): 40-42]
- 任海霞,任鹏飞,万鲁长,曲玲,郭惠东,张柏松.利用杏鲍菇菌渣与玉米芯栽培草菇配方筛选[J].山东农业科学,2019, **51** (5): 56-58 [Ren HX, Ren PF, Wan LC, Qu L, Guo HD, Zhang BS. Formula selection of *Volvariella volvacea* cultivation using *Pleurotus eryngii* residue and corncob [J]. *Shandong Agric Sci*, 2019, **51** (5): 56-58]
- 李燕,吴林,鲍大鹏.基于草菇基因组基础上的纤维素酶分析[C]//中国菌物学会第六届会员代表大会暨贵州省食用菌产业发展高峰论坛,贵阳,2014 [Li Y, Wu L, Bao DP. Cellulase analysis based on the genome of *Volvariella volvacea* [C]//The 6th member congress of the Chinese society of fungi and the guizhou provincial edible fungus industry development summit forum, Guiyang, 2014]
- 苏嘉卉.秸秆降解菌的筛选及应用研究[D].长春:吉林大学,2017 [Su JF. The research on separation and application of the microbes to degrade corn stover [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2017]
- 鲁丽鑫,姚方杰,张友民.对双孢蘑菇培养料在发酵过程中胞外酶活性变化和木质纤维素降解的研究[C]//第十届全国食用菌学术研讨会,北京,2014 [Lu LX, Yao FJ, Zhang YM. Study on extracellular enzyme activity and lignocellulose degradation of *Agaricus bisporus* on different cultivation formulas at the stage of fermentation [C]//The 10th National Symposium on Edible Fungi, Beijing, 2014]
- 裴建军,胡沂淮,邵蔚蓝.草菇半纤维素酶系统的诱导、分布及初步定性[J].食品与生物技术学报,2003, **22** (1): 61-64 [Pei JJ, Hu YH, Shao WL. Inducement, distribution and properties of hemicellulases from *Volvariella volvacea* [J]. *J Food Sci Biotechnol*, 2003, **22** (1): 61-64]
- Chen SC, Ma DB, Ge W, John A. Induction of laccase activity in the edible straw mushroom, *Volvariella volvacea* [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2003, **218** (1): 143-148
- Ahlawat OP, Gupta P, Dhar BL, Sagar TG, Rajendranath R, Rathnam K. Profile of the extracellular lignocellulolytic enzymes

- activities as a tool to select the promising strains of *Volvariella volvacea* (Bull. ex Fr.) Sing [J]. *Indian J Microbiol*, 2008, **48** (3): 389-396
- 21 Jurak E, Punt AM, Arts W, Abel MA, Gruppen H. Fate of carbohydrates and lignin during composting and mycelium growth of *Agaricus bisporus* on wheat straw based compost [J]. *PLoS One*, 2015, **10** (10): e0138909
- 22 Mamiro DP, Royce DJ. The influence of spawn type and strain on yield, size and mushroom solids content of *Agaricus bisporus* produced on non-composted and spent mushroom compost [J]. *Biores Technol*, 2008, **99** (8): 3205-3212
- 23 Andrade MC, Jesus JP, Vieira FR, Viana SR, Spoto MH, Almeida MT. Dynamics of the chemical composition and productivity of composts for the cultivation of *Agaricus bisporus* strains [J]. *Braz J Microbiol*, 2013, **44** (4): 1139-1146
- 24 Jurak E, Patyshakulyeva A, de Vries RP, Gruppen H, Mirjam A. Kabel MA. Compost grown *Agaricus bisporus* lacks the ability to degrade and consume highly substituted xylan fragments [J]. *PLoS ONE*, 2015, **10** (8): 1-14
- 25 Stoknes K, Beyer DM, Norgaard E. Anaerobically digested food waste in compost for *Agaricus bisporus* and *Agaricus subrufescens* and its effect on mushroom productivity [J]. *J Sci Food Agric*, 2013, **93** (9): 2188-2200
- 26 Ahmadi F, Zamiri MJ, Khorvash M, Banihashemi Z, Bayat AR. Chemical composition and protein enrichment of orange peels and sugar beet pulp after fermentation by two *Trichoderma* species [J]. *Iran J Vet Res*, 2015, **16** (1): 25-30
- 27 叶云霞, 金宁, 杨杰, 孟俊龙, 常明昌. 不同培养料对元蘑胞外酶活性的影响[J]. 山西农业大学学报 (自然科学版), 2011, **31** (2): 172-175 [Ye YX, Jin N, Yang J, Meng CL, Chang MC. Effect of different composts on extracellular enzyme activity of *hohenbuehelia serotina* [J] *J ShanXi Agric Univ (Nat Sci Ed)*, 2011, **31** (2): 172-175]
- 28 胡渤洋, 王寿南, 陈青君, 张国庆, 杨佳玥, 徐鑫, 韩鹏, 张宇轩, 李兵. 一种白腐真菌的分离、鉴定、培养及产漆酶条件[J]. 应用与环境生物学报, 2018, **24** (2): 367-373 [Hu BY, Wang SN, Chen QJ, Zhang GQ, Yang JY, Xu X, Han P, Zhang YX, Li B. Isolation, identification, culture conditions, and laccase production of white rot fungus [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2018, **24** (2): 367-373]
- 29 郭亚萍, 张国庆, 陈青君, 杨凯. 双孢蘑菇堆肥过程中细菌群落结构分析[J]. 应用与环境生物学报, 2014, **20** (5): 832-839 [Guo YP, Zhang GQ, Chen QJ, Yang K. Bacterial community structure analysis for mushroom (*Agaricus bisporus*) compost using PCR-DGGE technique [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2014, **20** (5): 832-839]
- 30 秦改娟, 王晓, 陈青君, 张国庆. 不同配方培养料生产双孢蘑菇过程中主要木质纤维素降解酶及物料组分的变化[J]. 应用与环境生物学报, 2017, **23** (6): 1035-1041 [Qin GJ, Wang X, Chen QJ, Zhang GQ. Changes of lignocellulolytic enzymes and material components in different compost formulas during the production of *Agaricus bisporus* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2017, **23** (6): 1035-1041]
- 31 Zhang HL, Wei JK, Wang QH, Yang R, Gao XJ, Sang YX, Cai PP, Zhang GQ, Chen QJ. Lignocellulose utilization and bacterial communities of millet straw based mushroom (*Agaricus bisporus*) production [J]. *Sci Rep*, 2019, **9** (1): 1151
- 32 吴圣进, 王灿琴, 汪茜, 韦仕岩. 草菇生长发育过程中胞外酶活性变化[J]. 中国食用菌, 2015, **34** (1): 53-56 [Wu SJ, Wang CQ, Wang X, Wei SY. Extracellular enzyme production by *Volvariella volvacea* during its growth and development [J]. *Edible Fungi Chin*, 2015, **34** (1): 53-56]
- 33 朱刚, 鲍大鹏, 吴林. 草菇漆酶基因生物信息学及诱导转录分析[C]//2012年中国菌物学会学术年会会议, 北京, 2012 [Zhu G, Bao DP, Wu L. Bioinformatics and induced transcription analysis of laccase gene of *Volvariella volvacea* [C]//Summary of the 2012 China Society of Fungi Academic Annual Meeting, Beijing, 2012]
- 34 吕军, 曹修才, 张牧海, 李岩杰, 武恩斯, 闫怀芹, 刘新华. 3种草菇栽培模式比较[J]. 中国食用菌, 2017 (4): 83-85 [Lu J, Cao XC, Zhang MH, Li YJ, Wu ES, Yan HQ, Liu XH. Comparison of three types of *Volvariella volvacea* cultivation models [J]. *Edible Fungi Chin*, 2017 (4): 83-85]
- 35 吕晓东, 陈有芳. 杏鲍菇菌渣栽培草菇配方比较试验[J]. 食用菌, 2018, **40** (5): 37-38 [Lu XD, Chen YF. Comparisons of formulas for cultivating *Volvariella volvacea* with mushroom residue of *Pleurotus eryngii* [J]. *Edible Fungi*, 2018, **40** (5): 37-38]