

木腐菌木质素分解酶活力的初步研究

刘秀英 王建军 李杏芳

(中国林科院木材工业研究所 北京, 100091)

摘要 本文对8种木腐菌、13株菌株的木质素分解酶活力进行了初步研究, 结果表明: 13株木腐菌菌株都具有程度不同的木质素分解酶活力, 其中白腐菌的木质素分解酶活力高于褐腐菌, 酶活力增长速度较快, 高酶活力维持时间长。这些结果对于木材防腐研究及白腐菌综合利用的研究具有一定的参考价值。

关键词 木腐菌; 白腐菌; 褐腐菌; 木质素分解酶

木腐菌使木材腐朽的主要原因是由于木材被木腐菌侵染后, 菌体分泌出的纤维素酶、半纤维素酶、木质素酶破坏了木材原有的细胞结构, 这些木材分解酶类可以使木材复杂的大分子有机物转变成简单的能被菌类吸收的低分子物质。防止木腐菌对木材的侵染, 抑制菌体的生长或致死, 是木材防腐工作中长期致力研究的主要内容。另一方面如何利用木腐菌中含有丰富的酶系, 将世界上每年大量的植物性废弃资源转化、降解成为有用产品或化工原料, 已愈来愈受到人们的重视。近年来, 国际上的一些研究更加注重利用木腐菌含有较强的木质素酶活性这一特点, 加强对木质素的降解、转化等方面的研究工作^[1]。与此同时, 有关酶类的分离、提纯、酶特性的测定、酶作用机理等基础研究也正在取得进展^[2~4]。

本研究对13株木腐菌菌株的木质素分解酶活力进行了研究测定, 其目的是筛选出对木质素分解能力高的菌株为木材防腐及木腐菌综合利用提供一些基本数据, 同时对于从酶活力角度上探索木腐菌生理生化特性的研究提供一条可行途径。

收稿日期 1993-05-11

• 中国林科院基金项目“木腐菌三种主要木材分解酶活力测定方法的研究和评价”的部分内容。

1 材料与方法

1.1 仪器 751G型紫外分光光度计, 上海分析仪器厂出品, 选用波长203nm; 微生物旋转振荡式摇床。

1.2 菌种及来源 选择8种木腐菌, 13株菌株如下:

- ①彩绒革盖菌 (*Coriarius versicolor*) -2°、-20°、-28°;
- ②多年层孔菌 (*Fomes arnosus*) -22°;
- ③松木层孔菌 (*Phellinus pini*) -21°;
- ④绵腐卧孔菌 (*Poria placenta*) -3°、-12°、-16°;
- ⑤洁丽香菇菌 (*Lentinus lepideus*) -13°、-17°;
- ⑥薄孔菌 (*Antrodia sinuosa*);
- ⑦粉孢革菌 (*Coniophora puteana*);
- ⑧干朽菌 (*Merulius lacrymans*) -15°。

菌种来源 中国林科院木材所木材防护室。

菌种培养条件 温度 28 ± 1 °C, 相对湿度 75 ± 5 %。

菌种培养周期(天) 30, 60, 90, 120。

1.3 培养基制备

①麦芽糖-琼脂培养基: 麦芽糖液(波梅氏比重1.03) 1000ml, 马尾松木粉5g, 琼

脂20g, 用0.11MPa蒸汽灭菌30min, 在无
菌条件下制成平皿琼脂培养基25ml/皿。

②河沙-木屑培养基: 河沙150g, 马尾
松木屑15g, 玉米粉8.5g, 红糖1.0g, 麦芽
糖液(波梅氏比重1.03) 100ml 装入500ml
三角瓶中, 用0.11MPa蒸汽灭菌60min后 备
用。

1.4 木质素溶液的制备及测定方法和木
质素分解酶活力的测定方法见文献〔5〕。

2 结果与讨论

在二种不同的培养基上培养的五种白腐
菌菌株的木质素分解酶活力及其变化趋势见
表1、图1。

表1 五株白腐菌株在两种培养
基中的木素分解酶活力

培 养 基	菌种名称	酶活力单位 ($\mu\text{g/h}\cdot\text{g}$ 干菌体)			
		30天	60天	90天	120天
麦芽糖-琼脂	C.v-2*	648.43	789.51	448.63	170.06
麦芽糖-琼脂	C.v-20*	485.00	443.00	365.90	166.37
麦芽糖-琼脂	C.v-28*	425.00	477.58	392.86	159.13
麦芽糖-琼脂	F.a-22*	497.13	263.70	300.00	971.11
河 沙-木屑	F.a-22*	413.00	649.48	868.46	513.69
河 沙-木屑	P.p-21*	546.55	601.11	281.00	343.00
河 沙-木屑	C.v-2*	511.00	374.84	335.09	439.92

从表1和图1可以看出: 在麦芽糖-琼
脂培养基中培养的三株不同C.v菌株的酶活
力变化曲线各有不同。30天时C.v-20*菌的
酶活力出现高峰值485.00 $\mu\text{g/h}\cdot\text{g}$ (干菌体),
30天以后酶活力缓慢下降, C.v-20*菌的酶
活力比C.v-28*菌略低60个单位。C.v-2*菌
则高于C.v-28*菌达180 $\mu\text{g/h}\cdot\text{g}$ (干菌体),
60天时C.v-2*菌,C.v-28*菌出现峰值,C.v
-28*菌酶活力较低, 但C.v-2*菌则以高于
C.v-28*300 $\mu\text{g/h}\cdot\text{g}$ (干菌体)而居于三株
菌株的首位。在60天以后的C.v-2*菌、C.v
-28*菌的酶活力都呈下降趋势, 在120天时
已降至该菌峰值的1/3~1/4范围。从上述结
果中可以显示C.v-2*菌的木质素分解酶活

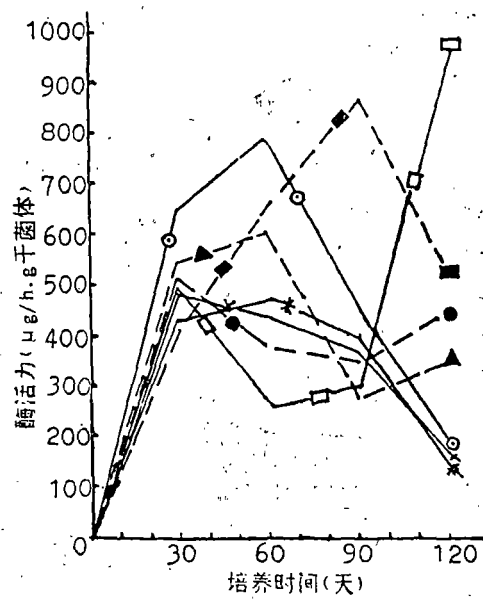


图1 白腐菌木质素分解酶
活力随培养时间变化

—○— C.v-2* - - - ■ - - - F.a-22*
—×— C.v-20* - - - ▲ - - - P.p-21*
—*— C.v-28* — 麦芽糖-琼脂培养基
—□— F.a-22* - - - 河沙-木屑培养基
- - - ● - - - C.v-2*

力比其它二株同种菌株更强, 同时也说明同
一种菌的木腐菌, 菌株来源不同, 酶活力亦
相差较大。

从图1中可以看出: 在河沙-木屑培 养
基中C.v-2*菌的酶活力高峰值 低于麦芽糖-
琼脂培养基, 仅为511.00 $\mu\text{g/h}\cdot\text{g}$ (干菌体),
但高峰值出现时间缩短30天, 30天以后酶活
力缓慢下降, 90天后又有所回升。因此培养
基成分是酶活力重要影响因素之一, 说明营
养成分对菌体自身代谢及酶系产生的影响在
某些情况下不亚于由于菌种差异的影响。图
1还表示出: C.v菌的木质素分解酶活力的
高峰值一般在测定的前半周期(60天)内出
现, 这点可能是与C.v菌的酶作用方式有
关, 有资料介绍据显微镜观察结果, C.v菌
分泌酶首先分解木质素, 而后再分解纤维素
〔6〕。因而C.v菌在120天的培养周期中, 先
发现木质素分解酶活力高峰, 而后随着纤维

素酶类的出现和加强,木质素分解酶活力逐步降低,C.v菌的碳营养源也逐步转向纤维素。

在河沙-木屑培养基培养的多年层孔菌F.a-22°酶活力从30~90天周期内以较快速度上升,90天时达到最高峰值868.46 $\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体),90天后迅速下降,而该菌种在琼脂培养基上其酶活力在30~60天培养期内缓慢下降,在60~90天时略有回升,在120天测定时酶活力迅速上升达到971.11 $\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体),为90天时酶活力的3倍。

P.p-21°菌在河沙-木屑培养基的酶活力变化曲线不同于C.v-2°与F.a-22°菌,30天时酶活力略高于在同类培养基中的其它白腐菌,在60天时稍高于F.a-22°菌达到高峰值为601.11 $\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体),90天为酶活力最低点,尔后又略有回升。

在上述二种培养基培养的白腐菌中F.a-22°菌的木质素分解酶活力最高,在麦芽糖-琼脂培养基培养120天时酶活力达971.11 $\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体),在河沙-木屑培养基中的最高酶活力略低于麦芽糖-琼脂培养基中,但其高酶活力维持的周期长,在整个培养期内木质素分解酶活力降低幅度小,是一种比较理想的用于木质素分解研究的菌种。

C.v-2°菌在30天培养期达到大大高于其它菌种的木质素分解酶活力,60天培养时达到酶活力高峰,其木质素分解酶产生周期短,活力高,在以木腐菌综合利用为目的的研究中利用此类菌株可缩短培养周期,对于降低生产成本提高设备利用率是非常有利的。

褐腐菌在不同的培养基培养条件下的木质素分解酶活力变化情况见图2。

图2显示,麦芽糖-琼脂培养基培养的P.p-12°菌与P.p-16°菌的酶活力及变化特征则有显著差异,P.p-12°菌的酶活力及酶活力变化曲线波动较大,P.p-16°菌酶活力变化曲线波动平稳,P.p-12°菌在30天时酶活力为148.92 $\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体),60天时达

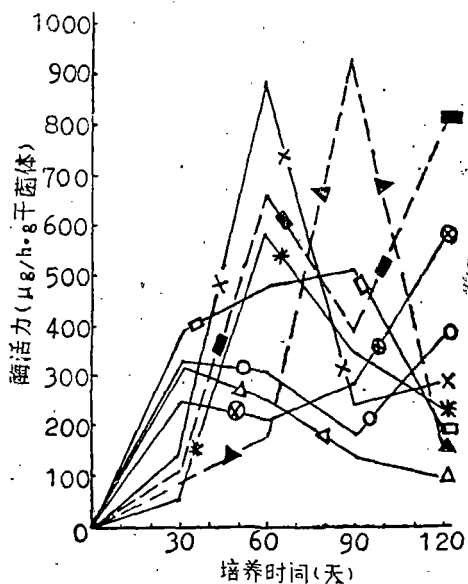


图2 褐腐菌木质素分解酶活力随培养时间变化

——河沙-木屑培养基 ——麦芽糖-琼脂培养基
 —×— P.p-12° —△— A.s
 —□— P.p-16° —*— M.l-15°
 —○— L.l-13° —■— P.p-3°
 —⊗— L.l-17° —▲— C.p

到峰值891.41 $\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体),90天以后下降至243.08 $\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体),120天时又略有回升,而P.p-16°菌在30天的培养周期酶活力已达到398.50 $\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体),在其后的培养周期内酶活力缓慢上升,峰值在90天时为501.68 $\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体),120天时又迅速降至184.92 $\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体)。

L.l-13°菌与L.l-17°菌的酶活力变化趋势基本相似,90天测定时L.l-17°菌略有增加,但L.l-13°菌有较大幅度下降。从90天至120天两种菌的酶活力又有大幅度上升达到最高峰值,L.l-17°菌的高峰值高于L.l-13°菌近200 $\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体),但其起始酶活力却低80 $\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体)。从上述结果中可以进一步显示:同一菌种不同种源之间酶活力相差很大。

A.s菌在周期30天时酶活力已达到峰值,但仅为309.10 $\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体),在整

个培养周期内酶活力呈下降趋势,120天时已降至 $96.37\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体)。

M.l-15^{*}菌的酶活力30天时仅有 $58.84\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体),60天时骤然升至 $586.81\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体),然后则趋于缓慢下降。

图2还显示:在河沙-木屑培养基培养的P.p-3^{*}菌其酶活力在60天以前呈缓慢上升,60天以后增幅,至90天时达到高峰 $933.23\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体),90天以后骤然下降至 $156.16\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体)。该菌株酶活力变动较大的原因有待进一步探索。C.p菌的酶活力变化曲线出现两次较高峰值,60天时次高峰值为 $666.92\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体),然后下降,在120天时出现最高峰值达 $810.14\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ (干菌体)。

综上所述,在相同的培养条件下,菌种不同,其酶活力的大小与酶活力高峰值出现时间亦有不同,(见图1、图2)。在麦芽糖-琼脂培养基培养条件下,F.a-22^{*}菌的酶活力最高,而A.s菌酶活力最低,C.v-2^{*}菌酶活力高峰值出现时间较早而且在较长周期内保持了较高的酶活力。

菌种相同,培养基及培养条件不同,木腐菌的酶活力变化也不同。用河沙-木屑培养基培养的C.v-2^{*}菌的酶活力最高峰值低于麦芽糖-琼脂培养基的峰值,在两种培养基培养条件下F.a-22^{*}菌的酶活力变化差异较大,麦芽糖-琼脂培养基的F.a-22^{*}高峰值在120天出现,而河沙-木屑培养基的高峰则在60天时就已出现。在麦芽糖-琼脂培养基培养的真菌在培养前期(30天)其酶活力普遍高于褐腐菌,从利用微生物来降解木质素取得纤维素这一角度考虑,白腐菌优于褐腐菌。

3 结论

3.1 本研究探索的13株木腐菌菌株都具有一定的木质素分解酶活力,从总体情况看,白腐菌的木质素分解酶活力高于褐腐菌。

3.2 白腐菌菌株的另一特点是木质素分解酶活力增长速度快,高酶活力维持时间较长,这对于以木腐菌生物利用为目的的研究项目是一个值得注意的有利条件。

3.3 影响木腐菌木质素分解酶活力的因子除菌种因素外,还有菌种来源,培养基成分及培养条件等,这些在今后木腐菌综合利用研究中都是必须考虑的重要因素。

4 参考文献

- 1 Kirk T K. Lignin biodegradation. Microbiology, Chemistry and Potential Applications, CRC Press, Florida, 1980
- 2 Kadam K L et al. Study of lignin biotransformation by aspergillus fumigant and white-rot fungi using ^{14}C -labeled and unlabeled kraft lignins. Biotechnol and Bioeng., 1986, 28 (6): 394~404
- 3 Tiem M et al. Lignin-degrading enzyme from the hymenomycete *Phanerochaete chrysosporium* burds. Science., 1983, 221 (4611): 661
- 4 Tiem M et al. Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: purification, characterization and catalytic properties of a unique H_2O_2 -requiring oxygenase. Proc. Natl. Sci., 1984, 81 (8): 2280~2284
- 5 刘秀英等.用紫外分光光度法测定木腐菌木质素分解酶活力的研究.林业科学研究, 1991, 4 (4): 423~427
- 7 周慧明等.木材防腐.中国林业出版社, 1991, 97

(下转第25页)

· 书讯 ·

《木材改性工艺学》

陆文达主编 李 坚主审

命书由东北林业大学出版社出版,约28万余字。内容包括木材强化、木材尺寸稳定处理、

木塑复合材、木材软化、木材塑料化、木材染色处理和木材阻燃等。本书可为木材加工企业提供各种改性技术,可作为高等林业院校木材加工专业教材,亦可供科研、设计有关人员参考。欲购者可向哈尔滨市东北林业大学林工系陆文达联系。邮编150040。

下界值时, 优化值没有进入目标区, 那么可以根据市场的供求、价格等变化以及采取措施扩大生产能力 (这是最重要的), 来逐步调整灰数的白化值, 以达到增大利润, 使之进入期望目标区的目的。

(3) 预测需求值和销售之间常常存在一定的误差, 库存量就是这个误差的直接反映。该期望利润解中, 虽然茶几的贮存量均为零, 但在实际经营中, 很可能会出现贮存量为非零情况。关于这个问题, 决策人员在安排生产时, 应给予一定的重视。

在实例中, 由于我们对约束值采用了动态预测, 所以该模型在生产规划方面具有了

超前功能。本文提出的灰色线性规划模型, 虽然只是针对家具生产的, 但实际上该模型的应用可以推广到其他许多方面。

4 参考文献

- 1 邓聚龙. 灰色系统基本方法. 华中理工大学出版社, 1987, 96~164
- 2 邓聚龙. 灰色预测与决策. 华中理工大学出版社, 1989, 126~134
- 3 罗庆成、徐国新. 灰色线性规划与应用. 江苏科学技术出版社, 1989
- 4 Stewart Holmes. Introduction to operations research as applied in forest products industries. Forest Products Journal Vol:26, No. 1

Application of grey linear programming in furniture manufacturing

Song Dingqian Lu Xiaoning Zhou Xiaolu

(Nanjing Forestry University, Nanjing 210037)

Abstract This paper deals grey system (GS) to the management for furniture manufacturing. The grey linear programming (GLP) models are built for expected profit values on tea table manufacturing, instead of linear programming (LP) model, which satisfy dynamic characteristics of furniture manufacturing. Resulted from the solution, GLP is a sort of practicable method on working out the plans for furniture manufacturing.

Keywords Grey linear programming; Expected target; Expected profit value; Furniture manufacturing; Tea table

(上接第21页)

A study on activities of lignin decomposition enzyme of wood-rot fungi

Liu Xiuying Wang Jianjiun Li Xingfang

(The Research Institute of Wood Industry, CAF, Beijing 100091)

Abstract Activities of lignin decomposition enzyme of 13 individual wood-rot fungi in 8 species have been studied. The result showed that all of the 13 fungi have capability of lignin decomposition to different extent. White wood-rot fungi have higher activities than brown wood-rot fungi. The rate of activity increasing and the period of high activity remaining of white wood-rot fungi are quicker and longer than that of brown wood-rot fungi.

Keywords Wood-rot fungi; White wood-rot fungi; Brown wood-rot fungi; Enzyme of lignin decomposition