

碳氮源对复合木质素降解菌木质素降解能力及相关酶活的影响

范 寰¹, 梁军锋², 赵 润², 张金凤², 张洪生²

(1.天津市畜牧兽医研究所, 天津 300112; 2.农业部环境保护科研监测所资源再生研究室, 天津 300191)

摘 要:白腐真菌所具有的降解木质素能力源于其所产生的酶系统,碳源和氮源是其降解木质素和产酶的一个极为重要的影响因素。通过室内小麦秸秆固态发酵试验,研究了不同的碳、氮源对两株侧耳属真菌 Tf1(*P. pulmonarius*)和 JG1(*P. cornucopiae*)产酶活力、木质素降解和粗蛋白含量的影响。结果表明,Lip 和 MnP 是参与复合木质素降解菌 Tf1+JG1 降解小麦秸秆重要的木质素降解酶。以葡萄糖为碳源,酒石酸铵为氮源能显著提高复合木质素降解菌对木质素的降解能力,发酵 9 d 后小麦秸秆的失重率为 14.87%,木质素含量为 8.68%,木质素降解率为 22.95%;粗蛋白含量为 7.28%,比未发酵麦秸提高了 36.84%($P<0.05$);Lip 和 MnP 活力分别为 $629.11 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $622.22 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

关键词:碳源;氮源;木质素降解菌;木质素过氧化物酶;锰过氧化物酶;漆酶

中图分类号:X172 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)07-1394-05

Effect of Carbon and Nitrogen Sources on Lignin Degradation Ability and Enzyme Activity of Dual-Cultured, Lignin-Degrading Fungi

FAN Huan¹, LIANG Jun-feng², ZHAO Run², ZHANG Jin-feng², ZHANG Hong-sheng²

(1. Tianjin Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Tianjin 300112, China; 2. Institute of Agro-environmental Protection, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China)

Abstract: White-rot fungi are characterized by their lignin-degrading capability derived from their ligninolytic enzyme system. Carbon and nitrogen sources are important factors for the lignin degradation rate and enzyme activity of these fungi. The present study was conducted to investigate the effect of selected carbon and nitrogen sources on lignin degradation ability, ligninolytic enzyme activity and crude protein contents by dual culture of two *Pleurotus* strains (*P. pulmonarius* Tf1 and *P. cornucopiae* JG1) on wheat straw substrates. Lignin peroxidase (Lip) and manganese-dependent peroxidase (MnP) were the major lignin-degrading enzymes for the dual-cultured fungi Tf1+JG1. Carbon source (glucose, cane sugar, maizena, maltose and starch) and nitrogen source (ammonium tartrate, ammonium sulfate, peptone, wheat bran, soybean meal) were tested in these experiments. The greatest lignin degradation ability of Tf1+JG1 was found using glucose as carbon source and ammonium tartrate as a nitrogen source. After fermentation for 9 days, weight loss for wheat straw was 14.87%, lignin content was 8.68% and lignin degradation was 22.95%. The crude protein content was 7.28%, which is 36.84% greater than non-fermented wheat straw. The Lip and MnP activities were $629.11 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ and $622.22 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively.

Keywords: carbon sources; nitrogen sources; lignin-degrading fungi; lignin peroxidases; Mn-dependent peroxidases; laccase

饲料中的粗纤维主要包括纤维素、半纤维素和木质素,很难被动物消化道产生的酶所消化吸收,其中反刍动物瘤胃微生物可以部分降解纤维素、半纤维

素,对于木质素很难降解,而单胃动物对于粗纤维各种成分的消化利用更为有限。研究表明,木质素可以通过各种化学键与纤维素、半纤维素相连,形成更加复杂的物质——木质纤维素。木质素的存在,导致粗纤维系统中纤维素、半纤维素的降解率降低,因此木质素是影响饲料粗纤维消化率的限制因子^[1]。白腐真菌以其独特的生理生化机制和强大的降解代谢能力

收稿日期:2009-12-24

基金项目:农业部产地环境与农产品安全重点开放实验室资助

作者简介:范 寰(1971—),女,河北平山人,博士,副研究员,主要从事农业微生物的研究和开发工作。E-mail:fanhuan71@yahoo.com.cn

而成为木质素降解研究的模式菌株,是已知的唯一能在纯系培养中有效地将木质素降解为 CO_2 和 H_2O 的一类微生物^[2]。

白腐真菌所具有的降解木质素能力源于其所产生的一个复杂的胞外过氧化物酶系统,这一系统主要由3种酶构成:木质素过氧化物酶(Lip)、锰过氧化物酶(MnP)、漆酶(Lac),另外还有其他几种酶的综合作用^[3]。有研究表明,碳源和氮源是微生物降解木质素和产酶的一个极为主要的影响因素,可通过改变培养条件大大提高菌株木质素降解酶的产量^[4-5]。

在本实验室前期研究中筛选出4株侧耳属白腐菌菌株,其中复合菌株 Tf1+JG1 固态发酵21 d 对小麦秸秆木质素的降解率为38.41%^[6]。但目前对于该复合菌株生长的不同阶段所产生的木质素降解酶及其活性并不十分清楚,如何通过营养调控提高产酶能力,进一步提高木质素降解率,仍需进行深入研究。目前国内外还较少见有关固体发酵条件下白腐真菌复合菌株产酶规律的研究报道。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

Tf1(*P. pulmonarius*)、JG1(*P. cornucopiae*),购自天津食用菌研究中心,经本实验室定向筛选并保藏的木质素选择性降解菌株。

1.2 培养基

1.2.1 CPDA 培养基

马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, KH_2PO_4 3 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.5 g, VB_1 100 mg, 琼脂 18 g, 自来水 1 000 mL, 121 °C 下湿热灭菌 30 min。

1.2.2 固态发酵培养基

取粉碎后过40目的小麦秸秆15.00 g 装入三角烧瓶中,碳源5%,氮源1%,以1:3的料液比加入营养液^[7],拌匀,于121 °C 湿热灭菌30 min。

1.3 菌塞的制作

将斜面菌株接入灭菌后的CPDA平板上,放入培养箱中28 °C 恒温培养,待菌丝布满整个平皿后用直径为10 mm 无菌打孔器打出均一菌塞,在灭菌后的固体发酵培养基中分别接入Tf1和JG1菌塞各10块。

1.4 固态发酵

小麦秸秆15.00 g,碳源0.75 g,氮源0.15 g,微量元素溶液45 mL,放入三角瓶中,用6层纱布封口,121 °C 灭菌30 min。分别接入Tf1和JG1菌塞各10块,不同处理各设3个重复,28 °C 恒温培养9 d。考察的碳

源分别为葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、可溶性淀粉和玉米粉,氮源分别为酒石酸铵、硫酸铵、蛋白胨、豆粕和麸皮。玉米粉、豆粕和麸皮为饲料原料,其他为分析纯。

1.5 粗酶液的提取方法

将培养9 d 的样品用无菌竹签搅拌均匀后,称取5.00 g 样品加入pH为4.5、 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸-醋酸钠缓冲溶液30.00 mL,4 °C、 $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 浸提4 h 后经4层纱布过滤,4 °C、 $3\,500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min,取上清液即为粗酶液。

1.6 酶活的检测方法^[8]

1.6.1 漆酶(Lac)活力测定

室温下 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的ABTS溶液2 mL,加入2 mL 酶液启动反应,测定波长在420 nm 处最初3 min 内吸光值的增加。每克样品中每分钟引起0.001 个吸光度增加所需酶量定义为1个活力单位(U)。

1.6.2 木质素过氧化物酶(LiP)活力测定

反应体系中含 $0.125 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、pH 3.0 酒石酸钠缓冲溶液3.2 mL, $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 藜芦醇0.1 mL 和0.6 mL 酶液,加入 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2O_2 0.1 mL,启动反应,室温下进行反应,测定波长在310 nm 处吸光值在最初3 min 内的增加。每克样品中每分钟引起0.001 个吸光度增加所需酶量定义为1个活力单位(U)。

1.6.3 锰过氧化物酶(MnP)活力测定

室温下反应体系中含 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、pH4.5 乳酸钠缓冲溶液3.4 mL, $1.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MnSO_4 水溶液0.1 mL 和酶液0.4 mL,加入 $1.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2O_2 0.1 mL,启动反应,测定反应最初3 min 内波长在240 nm 处吸光值的增加。每克样品中每分钟引起0.001 个吸光度增加所需酶量定义为1个活力单位(U)。

1.7 干物质失重率的测定方法^[9]

采用恒重差减法。将发酵前后秸秆物料置于65 °C 烘箱中烘至恒重。称量后粉碎过40目筛,作为分析测试样品。样品失重(%)=(发酵前物料干重-发酵后物料干重)/发酵前物料干重 $\times 100$

1.8 木质素含量的测定方法

参见杨胜主编《饲料分析及饲料质量检测技术》(第1版)第四章 纤维素的分析测定。

木质素降解率计算按Tsang等^[10]的方法:木质素降解率(%)= $100\% - [(100\% - \text{干物质失重率}) \times \text{发酵后木质素含量}] / \text{发酵前木质素含量}$ 。

1.9 粗蛋白的测定方法

参见中华人民共和国国家标准:饲料中粗蛋白测定方法(GB/T 6432—1994)。

1.10 数据统计处理与分析

试验数据用 SAS 软件进行单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 碳源对木质素降解酶系活力的影响

本试验在含有 1%酒石酸铵的基础培养基中添加不同碳源(葡萄糖、蔗糖、玉米粉、麦芽糖、淀粉),考察不同碳源对木质素降解酶系合成的影响。分析结果表明(表 1),不同的碳源影响复合白腐真菌 Tf1+JG1 的 Lip、MnP、Lac 酶的产量,其中 Lip 的活性以淀粉为最高,葡萄糖次之,蔗糖为最低,分别为 691.08、629.11 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 384.23 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ ($P<0.05$);MnP 的酶活在以玉米粉为碳源时最高,淀粉次之,蔗糖为最低,分别是 761.44、697.80 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 297.22 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ ($P<0.05$);Lac 的酶活在以蔗糖为碳源时最高,麦芽糖次之,葡萄糖为最低,分别为 143.26、39.40 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 11.83 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ ($P<0.05$)。本研究表明 Lip 和 MnP 是参与复合木质素降解菌 Tf1+JG1 降解小麦秸秆重要的酶系。

2.2 氮源对木质素降解酶系活力的影响

在自然条件下,大多数白腐真菌合成的酶量很低。国内外曾利用多种不同有机、无机或复合碳、氮源来研究它们对白腐真菌产酶能力、关键酶系构成及酶

活性的影响。结果表明,碳源和氮源是微生物降解木质素和产酶的一个极为重要的影响因素。在采用含有 5%葡萄糖的基础培养基中添加不同的氮源(酒石酸铵、豆粕、硫酸铵、蛋白胨、麸皮),试验发现不同的氮源对复合木质素降解菌产木质素降解酶系的活性高低是有差异的(结果见表 2)。

麸皮为 Lip 活力产生的最佳氮源,酒石酸铵是 MnP 活力产生的最佳氮源。除酒石酸铵以外,无机类氮源培养 Tf1+JG1 所得的木质素降解酶系活力普遍较低,这与某些白腐真菌的产酶特征相符^[1]。其中硫酸铵的产酶效果最差,Lip 和 MnP 酶活力分别仅为 401.32 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 309.91 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 。采用有机类氮源所得的酶活性均较高,其中麸皮的 Lip 酶活力最高可达 1 026.44 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 。MnP 中麸皮和豆粕的酶活力分别为 572.99 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 616.94 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$,均可达到酒石酸铵的产酶水平的 92%以上。总的来说,有机氮源优于无机氮源。

2.3 不同的碳、氮源对小麦秸秆的失重率、木质素含量和木质素降解率的影响

对复合白腐真菌 Tf1+JG1 在不同碳、氮源培养基中 28 $^{\circ}\text{C}$,培养 9 d 的小麦秸的失重率、木质素含量和木质素降解率进行了测定(表 3、表 4)。经过 9 d 的培

表 1 不同碳源对复合木质素降解菌 Lip、MnP、Lac 活力的影响($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)

Table 1 Effect of different carbon sources on Lip, MnP, Lac activity of combined lignin-degrading fungus($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)

项目	葡萄糖	蔗糖	玉米粉	麦芽糖	淀粉
Lip	629.11±50.40b	384.23±35.32c	575.22±21.37b	399.22±8.34c	691.08±26.21a
MnP	622.22±57.11bc	297.22±26.36d	761.44±82.64a	580.52±51.75c	697.80±45.36ab
Lac	11.83±0.65c	143.26±21.00a	34.45±3.80b	39.40±4.58b	30.13±3.81b

注:同一行数值标注不同字母(a,b,c,d)表示差异显著 $P<0.05$ 。下同。

Note: Values in a row with different superscript letters(a, b, c, d) differ at $P<0.05$. The same below.

表 2 不同氮源对复合木质素降解菌 Lip、MnP、Lac 活力的影响($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)

Table 2 Effect of different nitrogen sources on Lip, MnP, Lac activity of combined lignin-degrading fungus($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)

项目	酒石酸铵	豆粕	硫酸铵	蛋白胨	麸皮
Lip	629.11±50.40b	527.70±28.94c	401.32±65.38d	485.29±37.47c	1 026.44±14.62a
MnP	622.22±57.11a	616.94±51.23a	309.91±37.64b	321.75±36.28b	572.99±41.65a
Lac	11.83±0.65d	27.73±1.54c	59.76±2.80a	50.76±4.74b	27.21±1.79c

表 3 不同碳源对小麦秸秆的失重率、木质素含量和木质素降解率的影响(%)

Table 3 Effects of different carbon sources on weight loss rate, lignin content, lignin degradation rate of wheat straw(%)

项目	CK	葡萄糖	蔗糖	玉米粉	麦芽糖	淀粉
失重率	—	14.87±0.58a	6.37±0.63b	4.73±0.58c	7.12±0.36b	4.26±0.68c
木质素含量	9.59±0.46a	8.68±0.52bc	8.31±0.26c	8.58±0.59bc	9.44±0.58ab	9.37±0.14ab
木质素降解率	—	22.95±0.52a	18.83±0.41b	14.57±0.97c	8.70±0.94d	6.47±0.77e

表 4 不同氮源对小麦秸秆的失重率、木质素含量和木质素降解率的影响(%)

Table 4 Effects of different nitrogen sources on weight loss rate, lignin content, lignin degradation rate of wheat straw (%)						
项目	CK	酒石酸铵	豆粕	硫酸铵	蛋白胨	麸皮
失重率	—	14.87±0.58a	0.75±0.01c	3.33±0.39b	3.61±0.85b	2.52±0.78b
木质素含量	9.59±0.46a	8.68±0.52b	8.33±0.05bc	8.98±0.33ab	7.74±0.33c	7.88±0.47c
木质素降解率	—	22.95±0.52a	13.79±1.04c	9.49±0.98d	22.23±0.63a	19.99±0.82b

养,复合木质素降解菌 JG1+Tf1 在不同的碳、氮源条件下失重率都有不同程度的变化,碳源以葡萄糖为最高 14.87%,淀粉为最低 4.26%($P<0.05$)。氮源以酒石酸铵为最高14.87%,豆粕为最低 0.75%($P<0.05$)。

同时,木质素也均有大幅度降解,碳源以葡萄糖为最高,由接种前小麦秸秆中木质素含量为 9.59%,发酵 9 d 后降解到 8.68%,木质素降解率为 22.95%;氮源以酒石酸铵为最高,表明以葡萄糖为碳源,酒石酸铵为氮源能提高 JG1+Tf1 对木质素的降解能力。

2.4 不同的碳、氮源对小麦秸秆粗蛋白含量的影响

研究不同的碳、氮源对复合白腐真菌 Tf1+JG1 粗蛋白含量的影响(表 5~6),发现培养前小麦秸秆的粗蛋白含量为 5.32%,经过 9 d 的培养后,碳源以玉米粉为最高,达 7.62%,提高了 43.23%($P<0.05$);麦芽糖最低,为 6.46%,提高了 21.43%($P<0.05$)。统计学分析显示,不同碳源之间发酵物料的粗蛋白含量基本相当,不存在显著差异,说明复合木质素降解菌可以利用培养基中不同的碳源供自身的菌体蛋白的合成。氮源研究结果以酒石酸铵为最高,达 7.28%,提高了 36.84%($P<0.05$);蛋白胨最低,为 6.29%,提高了 18.23%($P<0.05$)。但不同的氮源之间 9 d 发酵后物料粗蛋白含量差异也不显著。

3 讨论

由表 1~表 2 可知,同一种酶在不同的碳、氮源作用下,木质素降解酶系的活力也是不同的,而且同一

菌株不同酶表达所需的营养条件也是各不相同的。国外学者的研究表明微生物对木质素的降解是依靠其分泌的木质素降解酶系,由于白腐真菌不同菌种的生理差异,不同的菌种可能具有不同的降解酶系统^[12-13]。有研究证实,营养条件是真菌生长代谢的物质基础,白腐真菌不能利用木质素作为唯一碳源提供自身生长所需的碳源和能源,所以合理配比的营养条件对白腐真菌生长和木质素降解酶系的分泌有决定的影响^[14]。研究还表明这些损失的木质素有的变成小分子的木质素碎片,有的将可能进一步通过芳香环的断裂生成脂肪酸,随后进一步完全代谢为二氧化碳和水^[2]。

由表 5~6 可以看出,不同的碳、氮源对在复合白腐真菌发酵 9 d 麦秸的粗蛋白含量影响差异不显著,可能与发酵时间短有关。但 Hadar 等^[15]研究表明侧耳属白腐菌能够利用秸秆中的非蛋白氮,合成菌体蛋白,使得发酵物料中的蛋白含量得到提高。因此,利用侧耳属白腐菌发酵是提高小麦秸秆蛋白质含量的有效途径。

4 结论

白腐真菌产酶活力的高低决定了降解能力的大小,本试验以检测 Lip, MnP 及 Lac 的酶活性大小为参考,比较不同碳氮源对复合木质素降解菌 Tf1+JG1 降解小麦秸秆能力的影响。结果表明不同碳、氮源对产木质素过氧化物酶(LiP)、锰过氧化物酶(MnP)和漆酶(Lac)的效果各异,同一碳、氮源对 LiP、MnP 和 Lac 的作用效果也不同。Lip 和 MnP 是参与复合木质素降

表 5 不同碳源对小麦秸秆粗蛋白含量的影响

Table 5 Effects of different carbon sources on crude protein content of wheat straw						
碳源	CK	葡萄糖	蔗糖	玉米粉	麦芽糖	淀粉
粗蛋白含量/%	5.32±0.69b	7.28±1.04a	8.15±0.43a	7.62±1.67a	6.46±0.40ab	7.50±0.88a

表 6 不同氮源对小麦秸秆粗蛋白含量的影响

Table 6 Effects of different nitrogen sources on crude protein content of wheat straw						
氮源	CK	酒石酸铵	豆粕	硫酸铵	蛋白胨	麸皮
粗蛋白含量/%	5.32±0.69b	7.28±1.04a	6.51±0.30a	7.09±0.38a	6.29±0.30ab	6.44±0.39a

解菌 Tf1+JG1 降解小麦秸秆重要的酶系。以葡萄糖为碳源,酒石酸铵为氮源能显著提高复合木质素降解菌对木质素的降解能力,发酵 9 d 后小麦秸秆的失重率为 14.87%,木质素含量为 8.68%,木质素降解率为 22.95%;粗蛋白含量为 7.28%,比未发酵麦秸提高了 36.84% ($P < 0.05$);Lip 和 MnP 活力分别为 $629.11 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $622.22 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

参考文献:

- [1] 范 寰,梁军峰,赵 润,等.白腐真菌在木质素微生物降解中的作用[J].天津农业科学,2009,15(5):19-22.
FAN Huan, LIANG Jun-feng, ZHAO Run, et al. Role of white rot fungi in microbial degradation of lignin[J]. *Tianjin Agricultural Sciences*, 2009, 15(5):19-22.
- [2] Singh D, Chen S L. The white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*: Conditions for the production of lignin-degrading enzymes[J]. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2008, 81(3):399-417.
- [3] Zmitrovich I V, Psurtsevan V, Belova N V. Evolutionary and taxonomical aspects of search and study of lignin-degrading fungi-Active producers of oxidative enzymes[J]. *Mikologiya i Fitopatologiya*, 2007, 41(1):57-58.
- [4] AA Leontievsky, NM Myasoedova, LA Golovleva. Production of lignolytic enzymes of the white rot fungus *panus tigrinus*[J]. *J Biotechnol*, 1994, 32:299-307.
- [5] 唐振兴,石陆娥,单剑锋.黄孢原毛平革菌降解机制研究进展 [J].微生物学杂志,2004,24(4):46-48.
TANG Zhen-xing, SHI Lu-e, SHAN Jian-feng. Study on degradation mechanism of *phanerochaete chrysosporium*[J]. *Journal of Microbiology*, 2004, 24(4):46-48.
- [6] 张洪生,梁军峰,张克强,等.两株侧耳属真菌对小麦秸秆化学组分及瘤胃消化率的影响[J].农业环境科学学报,2009,28(10):2185-2188.
ZHANG Hong-sheng, LIANG Jun-feng, ZHANG Ke-qiang, et al. Effects of two species of *pleurotus* on chemical composition and rumen digestibility of wheat straw [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(10):2185-2188.
- [7] 王宏勋,杜甫佑,张晓昱,白腐真菌选择性降解秸秆木质纤维素研究[J].华中科技大学学报(自然科学版),2006,34(3):97-100.
WANG Hong-xun, DU Fu-you, ZHANG Xiao-yu. Selective degradation of corn straw lignocellulose by white-rot fungi[J]. *J Huangzhong Univ of Sci & Tech(Nature Science Edition)*, 2006, 34(3):97-100.
- [8] 王海磊,郭伟云,于广丽,等.金针菇降解木质素的能力及相关酶活研究[J].河南师范大学学报(自然科学版),2004,32(4):96-99.
WANG Hai-lei, GUO Wei-yun, YU Guang-li, et al. Study on the enzyme activities and ability of *Flammulina velutipes* to degrading lignin[J]. *Journal of Henan Normal University(Natural Science)*, 2004, 32(4):96-99.
- [9] Jalc D, Siroka P, Fejes J, et al. Effect of three strains of *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Sing. on chemical composition and rumen fermentation of wheat straw[J]. *J Gen Appl Microbiol*, 1999, 45:277-282.
- [10] Tsang L J, Reid I D, Coxworth E C. Delignification of wheat straw by *Pleurotus* spp. under mushroom growing conditions[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1987, 53:1304-1306.
- [11] Feen P, Choi S, Kirk Tk. Ligninolytic activity of *phanerochaete chrysosporium*: Physiology of suppression by NH_4 and L-Glutamate[J]. *Arch Microbiol*, 2001, 130(2):66-71.
- [12] Asiegbu F O, Paterson A, Smith J E. The effects of co-fungal cultures and supplementation with carbohydrate adjuncts on lignin biodegradation and substrate digestibility[J]. *World Journal of Biotechnology*, 1996, 12:273-279.
- [13] Arora D S. Biodelignification of wheat straw by different fungal associations[J]. *Biodegradation*, 1995, 6:57-60.
- [14] 张晓昱,杜甫佑,王宏勋,等.不同木质纤维素基上白腐菌降解特性的研究[J].微生物学杂志,2004,24(6):4-7.
ZHANG Xiao-yu, DU Fu-you, WANG Hong-xun, et al. Degradation characteristics of white rot fungi in different lignocellulose[J]. *Journal of Microbiology*, 2004, 24(6):4-7.
- [15] Hadar Y, Kerem Z, Gorodecki B, et al. Utilization of lignocellulosic waste by the edible mushroom, *Pleurotus*[J]. *Biodegradation*, 1992, (3):189-205.