

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

张洪生¹, 梁军锋¹, 张克强¹, 陈秀为², 赵 润¹, 张金凤¹

(1.农业部环境保护科研监测所, 天津 300191 2.天津市农业生物技术研究中心, 天津 300192)

摘 要 小麦秸秆木质素含量高, 蛋白质等营养物质含量低, 作为反刍家畜的粗饲料营养价值低, 饲料化利用受到限制。通过室内小麦秸秆固态发酵试验, 研究了两株侧耳属真菌 Tf1(*Pleurotus sajor-caju*)和 JG1(*Pleurotus Cornucopiae* Roll)对小麦秸秆细胞壁化学组分的降解、瘤胃消化率和粗蛋白含量的影响。结果表明, 经菌株 JG1、Tf1 和两菌复合发酵 21 d 的小麦秸秆, 木质素降解率分别为 28.20%、30.78%和 38.41%, 纤维素降解率分别为 19.26%、19.28%和 26.65%, 48 h 干物质瘤胃消化率分别比未发酵秸秆提高了 38.62%、44.81%和 55.89%, 中性洗涤纤维(NDF)消化率分别提高了 38.91%、49.00%和 63.08%, 粗蛋白含量分别比未发酵秸秆提高了 58.60%、69.53%和 72.22%。表明菌株 JG1 和 Tf1 在选择性降解木质素, 改善瘤胃消化率, 提高粗蛋白含量方面的优势, 而且两菌株复合发酵具有协同作用, 与单菌发酵相比, 木质素降解率、瘤胃消化率和粗蛋白含量都明显提高。

关键词 侧耳属, 固态发酵, 小麦秸秆, 细胞壁化学组分, 粗蛋白, 瘤胃消化率

中图分类号: X172 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2009)10-2185-04

Effects of Two Species of *Pleurotus* on Chemical Composition and Rumen Digestibility of Wheat Straw

ZHANG Hong-sheng¹, LIANG Jun-feng¹, ZHANG Ke-qiang¹, CHEN Xiu-wei², ZHAO Run¹, ZHANG Jin-feng¹

(1. Institute of Agro-Environmental Protection, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China 2. Tianjin Agro-Biotechnology Research Center, Tianjin 300192, China)

Abstract Wheat straw is characterized by its contents of high lignin and low crude proteins, suggesting that the straw limit its utilization as animal feedstuff. The present study was conducted to investigate effects of two fungal strains, JG1(*Pleurotus Cornucopiae* Roll) and Tf1(*Pleurotus sajor-caju*), on cell wall constituent, rumen digestibility and crude protein contents of the wheat straw after the substrate had been treated by solid state fermentation. The fermentation of the straw was carried out for 21 days in the presence of either JG1, Tf1 solely, or combination of Tf1+JG1. It has been discovered that the degradation rates of lignin increased by 28.20%, 30.78% and 38.41%, respectively, while the degradation rates of cellulose enhanced by 19.26%, 19.28% and 26.65%, respectively, for the 3 treatments, as compared with the controls. In addition, the 48 h rumen dry matter digestibilities were found to be 38.62%, 44.81% and 55.89% greater than the controls; the rumen neutral detergent fiber digestibilities were discovered to be 38.91%, 49.00% and 63.08% higher than the controls, while the crude protein contents were 58.60%, 69.53% and 72.22% more than the controls, respectively, for the three corresponding treatments. The results mentioned above showed that both species of *Pleurotus*, JG1, and Tf1 are capable of degradating selectively lignin, improving rumen digestibility and increasing crude protein contents in the wheat straw studied. Due to the fact that treatment 3 with a mixture of two species of *Pleurotus* was obviously characterized by its stronger degradation rates of lignin, higher rumen digestibility and contents of crude proteins than other two treatments, it was likely concluded that there was a synergistic effect on lignin degradation, rumen digestibility and crude protein for the treatment with a combination of JG1+Tf1.

Keywords *Pleurotus*; solid state fermentation; wheat straw; cell wall constituent; crude proteins; rumen digestibility

农作物秸秆是反刍家畜日粮的重要组成部分,

但秸秆的消化率低, 粗蛋白含量低, 采食率低, 不能满足动物生长的营养需要。作物秸秆中蕴藏大量的纤维素等能量物质, 由于木质素的屏蔽作用而不能被反刍家畜充分利用。因此去除木质素, 提高秸秆瘤胃消化率成为改善秸秆饲料饲用价值的关键^[1]。

收稿日期: 2009-03-23

基金项目: 农业部农业结构调整重大技术研究专项项目(D-07-02B)

作者简介: 张洪生(1950—), 男, 天津人, 硕士, 研究员, 主要从事环境生物学及资源再生利用研究。E-mail: hshzhang22@126.com

利用白腐真菌降解木质素,提高秸秆瘤胃消化率,国外学者已进行了广泛的研究^[1],并提出侧耳属(*Pleurotus*)菌株能选择性降解秸秆木质素,保留更多的可供反刍家畜消化利用的纤维素等能量物质^[2-3]。国内学者针对木质素降解菌的筛选,木质素降解酶系及降解效果也进行了许多实验室研究^[4-7],但结合反刍动物瘤胃消化率这一关键指标的研究还不多见,而且国内研究大都集中在玉米、水稻等作物秸秆的生物降解,对资源丰富,饲料利用价值更低的小麦秸秆研究还比较少见。因此利用侧耳属菌株选择性降解木质素的特性,研究提高小麦秸秆瘤胃消化率的生物处理方法,使小麦秸秆得以饲料化高效利用,对于解决我国北方小麦主产区的秸秆处置难题,减轻环境污染压力,以及弥补我国北方养畜业日趋短缺的饲草资源有着重要意义。

本研究以小麦秸秆为基质,采用固态发酵方式,以小麦秸秆细胞壁各化学组分降解率、瘤胃消化率和粗蛋白提高率为指标,评价侧耳属内单菌和复合菌发酵小麦秸秆对改善其饲用价值的作用,以期小麦秸秆资源的饲料化开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 菌株

侧耳属真菌 Tf1(*Pleurotus sajor-caju*)、JG1(*Pleurotus Cornucopiae* Roll) 购自天津农业科学院,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 小麦秸秆

天津西青区辛口乡 2007 年 6 月收获,晾晒风干,堆垛保存,发酵前粉碎长度为 2~3 cm。

1.3 麦粒菌剂

取 100 g 麦粒,洗净后浸泡过夜,煮沸 15 min,沥干,添加葡萄糖 5 g,碳酸钙 3 g,拌匀,三角瓶分装,121 °C 灭菌 20 min,取供试菌株在马铃薯琼脂培养基(PDA)平板培养 7 d 的菌饼(直径 7 mm)3 块接种,于 28 °C 恒温培养至麦粒被菌丝完全覆盖(需 10~12 d)。

1.4 固态发酵

小麦秸秆 25 g,玉米粉 2.5 g,豆粕粉 0.5 g,微量元素溶液 75 mL,放入广口瓶中,用六层纱布封口,121 °C 灭菌 20 min。按 10% 接入制备好的麦粒菌剂。共设 3 个处理:Tf1、JG1 和 Tf1+JG1(按 1:1 混合接种)。不同处理各设 3 个重复。28 °C 恒温培养 21 d 后,于 65 °C 烘干至恒重,称量后粉碎过 40 目筛,作为分析测试样品。

1.5 分析方法

干物质失重率的测定^[2]:将发酵前后秸秆物料分别置于 65 °C 烘箱中烘至恒重,失重率(%)=(发酵前物料干重-发酵后物料干重)/发酵前物料干重×100

粗蛋白的测定采用凯氏定氮法(GB/T 6432-94)。中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)和木质素含量的测定,采用中国农业大学薛红枫等^[8]纤维滤袋法。

细胞壁组分降解率按 Tsang 等^[9]的计算方法:降解率(%)=100%-[100%-(100%-干物质失重率)×发酵后组分含量/发酵前组分含量]。

瘤胃消化率的测定参考冯仰廉^[10]瘤胃尼龙袋法,选用 3 只 1.5 岁体重(20.46±0.49)kg 无显著差异辽宁绒山羊,安装永久性瘤胃瘘管进行试验。试验羊单笼全舍饲养,预试期 15 d,每日 6:00 和 18:00 2 次饲喂。试验基础日粮为玉米-豆粕-青干草型,日粮配制参照 NRC(1981)山羊饲养标准,代谢能供给量为 1.2 倍的维持需要。测定瘤胃 48 h 干物质和 NDF 消化率。

瘤胃消化率(%)=(试样养分质量-某时间点残留物养分质量)/试样养分质量×100

试验数据用 SAS 软件进行单因素方差分析。

2 结果与讨论

2.1 小麦秸秆细胞壁化学组分的降解

以未经发酵处理的小麦秸秆为对照(CK),经菌株 Tf1、JG1 和 Tf1+JG1 分别发酵 21 d,小麦秸秆细胞壁化学组分含量的变化及降解率见表 1。

供试菌株的 3 种处理对小麦秸秆细胞壁化学组分均具有较强的降解能力,各组分的降解率最低为 19.3%,最高为 55.8%,其中木质素降解率分别为 30.8%(Tf1)、28.2%(JG1)和 38.4%(Tf1+JG1)。3 种处理对各组分降解率的统计学分析表明,Tf1+JG1 复合处理对 NDF、ADF、纤维素、半纤维素和木质素的降解率显著高于其他两种单菌处理($P<0.05$)。国外学者的研究^[11-12]也表明,由于白腐真菌不同菌种的生理差异,具有不同的木质素降解酶系,复合菌株发酵由于菌株间的协同作用,对小麦秸秆木质素的降解能力较单一菌株更强,可以加速木质素降解,缩短发酵周期。因此利用复合菌发酵替代单菌发酵,更具生产应用价值。

表 1 还表明细胞壁组分的降解程度各有不同,半纤维素的降解率最高,3 种处理的降解率为 44.5%~55.8%;其次为木质素,降解率为 28.2%~38.4%;纤维素降解率最低为 19.3%~26.7%。表明 3 种处理均以降

表 1 小麦秸秆细胞壁化学组分含量及降解率(%)

Table 1 The content and degradation rate of cell wall constituents of wheat straw(%)

处理	CK	Tf1	JG1	Tf1+JG1
NDF	71.73 ±0.07	61.28 ±0.23	63.49 ±0.26	60.47 ±0.77
ADF	47.15 ±0.24	46.39 ±0.78	46.44 ±0.28	45.42 ±0.77
木质素	10.54 ±0.26	9.19 ±0.34	9.37 ±0.34	8.51 ±0.33
纤维素	36.60 ±0.43	37.20 ±0.63	36.60 ±0.61	35.21 ±0.65
半纤维素	24.59 ±0.30	14.88 ±0.39	16.91 ±0.16	14.26 ±0.36
干物质损失率	—	20.59 ±1.68	19.24 ±1.89	23.76±2.12
NDF 降解率	—	32.16 ±0.25 ^b	28.51 ±0.29 ^c	35.73 ±0.82 ^a
ADF 降解率	—	21.87 ±1.64 ^b	20.45 ±0.48 ^b	26.55±1.24 ^a
木质素降解率	—	30.78 ±2.60 ^b	28.20 ±2.20 ^b	38.41 ±2.28 ^a
纤维素降解率	—	19.28 ±1.38 ^b	19.26 ±2.00 ^b	26.65 ±2.18 ^a
半纤维素降解率	—	51.93 ±1.55 ^{ab}	44.47 ±0.52 ^b	55.82 ±1.12 ^a

注:同一行数值标注不同字母(a、b、c、d)表示差异显著 $P<0.05$ 。对照为小麦秸秆+营养物+麦粒菌剂,与 3 种处理相同,未经发酵处理。

Note: Values in a row with different superscript letters(a、b、c、d) differ at $P<0.05$. CK was wheat straw plus spawn mixture, same as treatment, without fermentation.

解半纤维素和木质素为主,保留了更多的纤维素。许多学者的研究^[1,13-14]都表明,实现生物处理提高秸秆饲用价值的理想菌株,必须能够选择性地降解木质素而又不致造成纤维素大量消耗,才能使秸秆提供尽可能多的可消化的碳水化合物,进而提高秸秆的瘤胃消化率。

2.2 对反刍家畜瘤胃消化率的影响

采用尼龙袋法分别测定了经 Tf1、JG1 和 Tf1+JG1 发酵处理以及未经发酵处理(CK)的小麦秸秆干物质和 NDF 48 h 瘤胃消化率,结果见表 2。

与未经处理的小麦秸秆相比,Tf1、JG1 和 Tf1+JG1 3 种处理的干物质瘤胃消化率分别提高了 44.81%、38.62%和 55.89%,NDF 瘤胃消化率分别提高了 49.00%、38.91%和 63.08%,而且差异均达显著水平($P<0.05$)。3 种处理之间相比,无论是干物质消化率,还是 NDF 消化率,Tf1+JG1 复合处理均高于其他 2 种单菌处理,而且与 JG1 单菌处理的差异达显著性水平($P<0.05$)。小麦秸秆作为反刍动物的日粮粗饲料,营养价值极低,提高瘤胃消化率是改善其饲用价值的关键指标。目前生产应用较多的秸秆青贮、微贮和化学处理,可改善秸秆粗饲料的适口性,提高采食率,但对提高瘤胃消化率的作用有限,而白腐真菌生物处理是最有开发前景的处理方式^[14]。Zadrazil 等^[15]研究发现一些菌种或菌株能显著提高小麦秸秆消化率,而另一些虽能降解木质素,但同时消耗了更多的纤维

表 2 小麦秸秆瘤胃消化率的变化(%)

Table 2 The change of rumen digestibility of wheat straw(%)

处理	CK	Tf1	JG1	Tf1+JG1
干物质消化率	37.12 ±3.52 ^c	53.75 ±1.75 ^{ab}	51.46 ±1.27 ^b	57.87 ±1.54 ^a
提高 %	—	44.81	38.62	55.89
NDF 消化率	28.93 ±3.90 ^c	43.11 ±0.88 ^{ab}	40.19 ±1.94 ^b	47.18 ±2.61 ^a
提高 %	—	49.00	38.91	63.08

注:同一行数值标注不同字母(a、b、c、d)表示差异显著 $P<0.05$ 。对照为小麦秸秆+营养物+麦粒菌剂,与 3 种处理相同,未经发酵处理。

Note: Values in a row with different superscript letters(a、b、c、d) differ at $P<0.05$. CK was wheat straw plus spawn mixture, same as treatment, without fermentation.

素等能量物质,导致消化率不能提高甚至降低。因此白腐菌的筛选,在以秸秆饲料化利用为目的时,必须以瘤胃消化率的提高作为重要指标。

2.3 发酵前后的粗蛋白含量变化

以发酵前物料(0 d 发酵)粗蛋白含量为对照(CK),经菌株 Tf1、JG1 和 Tf1+JG1 发酵 21 d 后,粗蛋白含量的变化见表 3。

表 3 小麦秸秆粗蛋白含量的变化(%)

Table 3 The change of crude protein content of wheat straw(%)

处理	CK	Tf1	JG1	Tf1+JG1
粗蛋白含量	5.58 ±0.13 ^c	9.46 ±0.03 ^a	8.85 ±0.03 ^b	9.61 ±0.15 ^a
提高 %	—	69.53	58.60	72.22

注:同一行数值标注不同字母(a、b、c、d)表示差异显著 $P<0.05$ 。对照为小麦秸秆+营养物+麦粒菌剂,与 3 种处理相同,未经发酵处理。

Note: Values in a row with different superscript letters(a、b、c、d) differ at $P<0.05$. CK was wheat straw plus spawn mixture, same as treatment, without fermentation.

Tf1、JG1 和 Tf1+JG1 3 种处理的蛋白质含量分别为 9.46%、8.85%和 9.61%,与对照相比,分别增加了 69.53%($P<0.01$)、58.60%($P<0.05$)和 72.22%($P<0.01$),其中 Tf1+JG1 复合菌株处理后粗蛋白的增加幅度最高,优于其他两种单菌处理。国内学者^[4,6-7]对稻草的同类研究也得到了类似的结果。Hadar^[3]等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,随着发酵过程中菌体生物量的增加,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。

3 结论

经本实验室系统筛选的侧耳属白腐菌菌株 Tf1 和 JG1 均能选择性降解木质素,显著提高小麦秸秆

的瘤胃消化率和粗蛋白含量。两菌株复合发酵具有协同作用,与单菌发酵相比,木质素降解率、瘤胃消化率和粗蛋白含量都明显提高。而且两菌株都选自广泛栽培的食用真菌,适应性广,对动物饲用安全性有保障,值得深入研究发酵工艺,进一步开展动物饲喂试验,以期实现规模化的小麦秸秆生物处理,为畜牧业提供更为广泛的优质粗饲料来源。

参考文献:

- [1] Flachowsky G, Kamra D N, Zadrazil F. Cereal straws as animal feed—possibilities and limitations[J]. *Journal of Applied Animal Research*, 1999, 16 :105–118.
- [2] 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.
- [3] Hadar Y, Kerem Z, Gorodecki B, et al. Utilization of lignocellulosic waste by the edible mushroom, *Pleurotus*[J]. *Biodegradation*, 1992, 3 :189–205.
- [4] 陈 谊, 杭怡琼, 薛惠琴, 等. 白腐真菌降解稻草转化饲料的研究[J]. 上海交通大学学报, 2001, 19(2) :151–153.
- CHEN Yi, HANG Yi-qiong, XUE Hui-qin, et al. A study on conversion of rice straw to feed using a white rot fungus strain[J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University(Agricultural Science)*, 2001, 19(2) :151–153.
- [5] 杭怡琼, 薛惠琴, 郁怀丹, 等. 白腐真菌对稻草秸秆的降解及其有关酶活的变化[J]. 菌物系统, 2001, 20(3) :403–407.
- HANG Yi-qiong, XUE Hui-qin, YU Huai-dan, et al. Rice straw degradation by white rot fungi and variance of activities of related enzymes[J]. *Mycosystema*, 2001, 20(3) :403–407.
- [6] 刘 坤, 李会宣, 李 敬. 白腐真菌菌株共培养降解玉米秸秆的研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(4) :1327–1329.
- LIU Kun, LI Hui-xuan, LI Jing. Studies on the co-culture of white rot fungi for degrading corn stalk[J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2008, 36(4) :1327–1329.
- [7] 宋瑞清, 杨 谦, 邓 勋. 平菇菌株对稻草生物降解的能力 [J]. 东北林业大学学报, 2004, 32(1) :81–83.
- SONG Rui-qing, YANG Qian, DENG Xun. Degradation of *Pleurotus ostreatus*(Jeca ex Fr.)Quel. strain to straw[J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2004, 32(1) :81–83.
- [8] 薛红枫, 孟庆翔. 不同方法测定反刍动物饲料 NDF、ADF 和木质素含量的比较[J]. 中国畜牧杂志, 2006, 42(19) :41–45.
- XUE Hong-feng, MENG Qing-xiang. A comparison of various techniques for the determination of NDF, ADF and lignin in ruminant feed-stuffs[J]. *Journal of Chinese Animal Husbandry*, 2006, 42(19) :41–45.
- [9] 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.
- [10] 冯仰廉. 反刍动物营养学[M]. 北京: 科学出版社, 2004 :571–575.
- [11] Arora D S. Biodelignification of wheat straw by different fungal associations[J]. *Biodegradation*, 1995, 6 :57–60.
- [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] Platt M W, Hadar Y, Chet I. Fungal activities involved in lignocellulose degradation by *PLeurotus*[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1984, 20 :150–154.
- [14] Villas-Boas S G, Esposito E, Mitchell D A. Microbial conversion of lignocellulosic residues for production of animal feeds[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2002, 98 :1–12.
- [15] Zadrazil F. Screening of fungi for lignin decomposition and conversion of straw into feed by basidiomycetes[J]. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 1985, 59 :433–452.

致谢: 天津农科院饲料工程技术研究中心王文杰研究员、穆素琴研究员和潘振亮助理研究员为本文中瘤胃消化率的测定给予了指导和帮助, 对此深表谢意。