

# 三个黄伞菌株不同生长发育期几种胞外酶活性变化

倪新江, 初 洋, 赵 美, 严 慧, 陈玉环, 李 松

(烟台大学 生命科学院, 山东 烟台 264005)

**摘 要:**以3个黄伞菌株为试材,以棉籽壳为主料,采用瓶栽方法对其不同生长发育期的几种胞外酶活性进行了测定,以期揭示同种食用真菌不同菌株间的相同胞外酶活性变化特点。结果表明:3个黄伞菌株均具有完整的胞外纤维素酶系;3个黄伞菌株的胞外羧甲基纤维素酶(CMC酶)、滤纸纤维素酶(FP酶)、半纤维素酶(CH酶)、淀粉酶和果胶酶活性高峰均对应于子实体生长发育期;在整个栽培期,3个黄伞菌株的胞外 $\beta$ -葡萄糖苷酶均无活性高峰出现;3个黄伞菌株的漆酶在菌丝满瓶期和潮菇间期均有活性高峰出现,在头潮菇和2潮菇子实体成熟期,漆酶活性均处于较低水平;3个黄伞菌株的胞外过氧化物酶在菌丝生长期均具有较高活性,头潮菇原基期后,过氧化物酶活性均显著下降。可见3个黄伞菌株的相同胞外酶的活性变化趋势大致相同。

**关键词:**黄伞菌株;胞外酶;活性比较

**中图分类号:**S 646.1<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)21-0153-04

黄伞(*Pholiota adiposa* (Fr.) Quel.)是一种低、中温型木腐性食用菌,菌盖滑嫩爽口,菌柄清脆、幼嫩,含有丰富的营养价值和药用价值,在国内已成为都市酒楼时尚佳肴,深受消费者青睐;在国外,特别是在日本市场很受欢迎<sup>[1]</sup>,是一种极具开发价值的珍稀食药真菌。近年来,黄伞在国内已有小规模栽培。目前,有关黄伞培养基的筛选、生产工艺、营养价值等方面报道较多<sup>[2-4]</sup>,有关黄伞的胞外酶方面也有报道<sup>[5]</sup>,但比较3个黄伞菌株在2潮菇栽培期间与栽培基质中纤维素、半纤维素、木质素、淀粉和果胶等大分子物质降解有关的8种胞外酶活性变化尚鲜见报道。该试验旨在为揭示同种食用菌不同菌株间的相同胞外酶活性变化特点提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试菌株为黄伞1、2、3号菌株,均为引自山东省单县高港食用菌有限公司的商品化菌种。

羧甲基纤维素钠、木聚糖、果胶和半乳糖醛酸为Sigma公司产品,其它为国产分析纯。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 栽培方法

用140 mL水将78 g棉籽壳、20 g麦

麸、1 g葡萄糖(溶于水中)和1 g石膏拌匀,装入500 mL罐头瓶中,121℃灭菌2 h后,接入花生米大小的棉籽壳原种,25℃恒温培养,满瓶后继续培养7 d,然后置18~20℃温度下进行出菇管理。

**1.2.2 生长发育期表示方法** 1.菌丝长至1/3瓶(菌丝平均吃料约2.9 cm);2.菌丝长至2/3瓶(菌丝平均吃料约5.8 cm);3.菌丝长满瓶(瓶底至瓶肩高8.7 cm);4.头潮菇原基期;5.头潮菇幼菇期;6.头潮菇开伞期;7.头潮菇间期;8.2潮菇原基期;9.2潮菇幼菇期;10.2潮菇开伞期;11.2潮菇间期。

**1.2.3 粗酶液的制备** 在不同生长发育期,分别取3个菌瓶,将培养物取出后,每瓶多点取样2份,每份湿重7 g,然后把从3瓶中取出的样品(21 g)混匀,共得2份样品。1份样品加100 mL超纯水,20℃浸提4 h,4层纱布过滤后,4 000 r/min离心10 min,上清液即为粗酶液。另一份样品在80℃恒温箱中烘至恒重,用于计算酶活力。

### 1.3 项目测定

羧甲基纤维素酶(CMC酶)、滤纸纤维素酶(FP酶)活性的测定参考刘靖宇等<sup>[6]</sup>的方法;淀粉酶和果胶酶的活性参考王玉万等<sup>[7]</sup>的方法; $\beta$ -葡萄糖苷酶、半纤维素酶(HC酶)、漆酶和过氧化物酶活性分别参考文献[8-11]的方法。FP酶活力单位为:1 U=1 mg葡萄糖·(60 min)<sup>-1</sup>·(1 g干培养物)<sup>-1</sup>;CMC酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶和淀粉酶活力单位均为:1 U=1 mg葡萄糖·(30 min)<sup>-1</sup>·(1 g干培养物)<sup>-1</sup>;果胶酶活力单位为:1 U=1 mg半乳糖醛酸·(30 min)<sup>-1</sup>·(1 g干培养物)<sup>-1</sup>;半纤维素酶活

**第一作者简介:**倪新江(1955-),男,硕士,教授,现主要从事食用菌营养生理等研究工作。E-mail:nxjzhen@sina.com。

**基金项目:**山东省自然科学基金资助项目(ZR2010CM022)。

**收稿日期:**2013-06-24

力单位为:1 U=1 mg 木糖·(30 min)<sup>-1</sup>·(1 g 干培养物)<sup>-1</sup>;漆酶活力单位为:1 g 干培养物中的酶量每分钟使 OD<sub>600</sub> 值改变 0.01 为 1 个活力单位;过氧化物酶活力单位为:1 g 干培养物中的酶量每分钟使 OD<sub>470</sub> 值改变 0.01 为 1 个活力单位。

## 2 结果与分析

### 2.1 3 个黄伞菌株的子实体成熟时间

3 个黄伞菌株在棉籽壳麦麸培养基中生长期间均收获 2 潮菇,1 号、2 号和 3 号菌株的 2 潮菇收获平均时间分别为第 65 天和第 94 天、第 63 天和第 92 天、第 66 天和第 95 天。

### 2.2 3 个黄伞菌株的胞外 CMC 酶活性变化

从图 1 可以看出,在棉籽壳麦麸培养基中生长发育过程中,3 个黄伞菌株的胞外 CMC 酶活性变化趋势大致相同,即原基期前活性较低,原基形成后酶活性开始上升,在头潮菇成熟期有酶活性高峰出现,然后酶活性开始下降,在 2 潮菇原基期后酶活性又开始上升,在 2 潮菇成熟期又有酶活性高峰出现,在 2 潮菇采收后酶活性迅速下降。

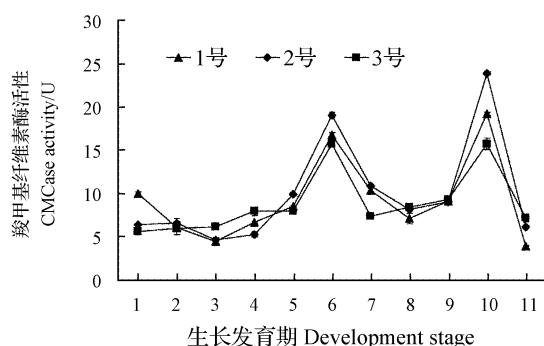


图 1 3 个黄伞菌株在不同生长发育期的胞外 CMC 酶活性

Fig. 1 Activities of extracellular CMCase from three *Pholiota adipose* strains at different stages of development

### 2.3 3 个黄伞菌株的胞外 FP 酶活性变化

从图 2 可以看出,在菌丝生长阶段和 2 潮菇的菇潮间期,3 个黄伞菌株的胞外 FP 酶活性均较低,在 2 潮菇的子实体生长发育期,3 个黄伞菌株均有活性高峰出现,从总体上看,3 个黄伞菌株的胞外 FP 酶活性变化趋势大致相同。

### 2.4 3 个黄伞菌株的胞外 β-葡萄糖苷酶活性变化

从图 3 可以看出,在整个生长发育过程中,3 个黄伞菌株的胞外 β-葡萄糖苷酶活性变化趋势大致相同,活性大小差异不大,并且 3 个菌株均无 β-葡萄糖苷酶活性高峰出现。

### 2.5 3 个黄伞菌株的胞外 HC 酶活性变化

从图 4 可以看出,在整个生长发育过程中,3 个黄伞

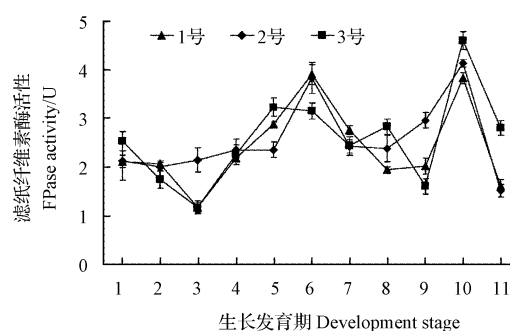


图 2 3 个黄伞菌株在不同生长发育期的胞外 FP 酶活性

Fig. 2 Activities of extracellular FPase from three *Pholiota adipose* strains at different stages of development

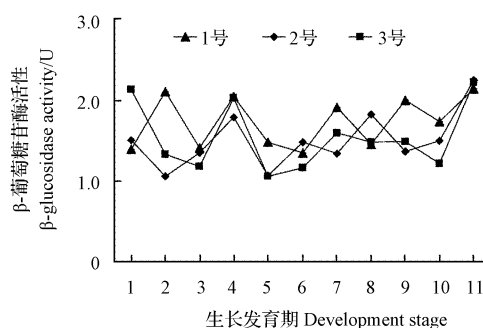


图 3 3 个黄伞菌株在不同生长发育期的胞外 β-葡萄糖苷酶活性

Fig. 3 Activities of extracellular β-glucosidase from three *Pholiota adipose* strains at different stages of development

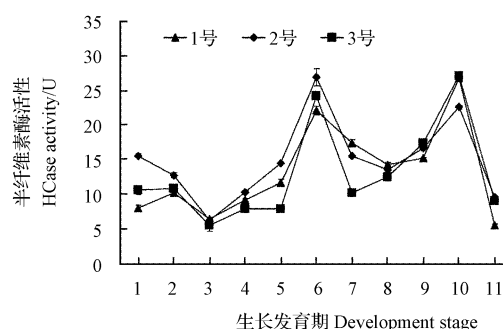


图 4 3 个黄伞菌株在不同生长发育期的胞外 HC 酶活性

Fig. 4 Activities of extracellular HCase from three *Pholiota adipose* strains at different stages of development

菌株的胞外 HC 酶活性变化趋势与胞外 CMC 酶大致相同。

### 2.6 3 个黄伞菌株的胞外果胶酶活性变化

从图 5 可以看出,在整个生长发育过程中,3 个黄伞

菌株胞外果胶酶活性变化趋势大致相同。在菌丝长至1/3瓶时活性较高,在头潮菇和2潮菇子实体生长发育期均有活性高峰出现。

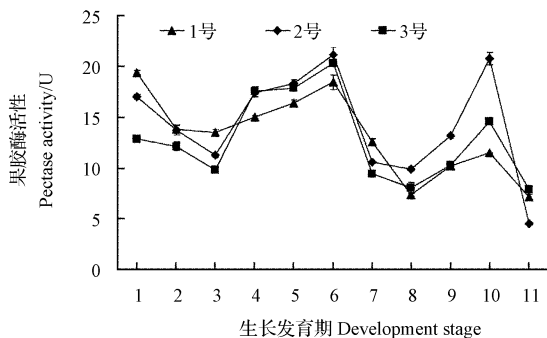


图5 3个黄伞菌株在不同生长发育期的胞外果胶酶活性

Fig. 5 Activities of extracellular pectase from three *Pholiota adiposa* strains at different stages of development

## 2.7 3个黄伞菌株的胞外淀粉酶活性变化

从图6可以看出,在2潮菇子实体生长发育期,3个黄伞菌株的胞外淀粉酶均有活性高峰出现,2潮菇活性高峰比头潮菇大,在整个生长发育过程中,3个黄伞菌株的胞外淀粉酶活性变化趋势大致相同。

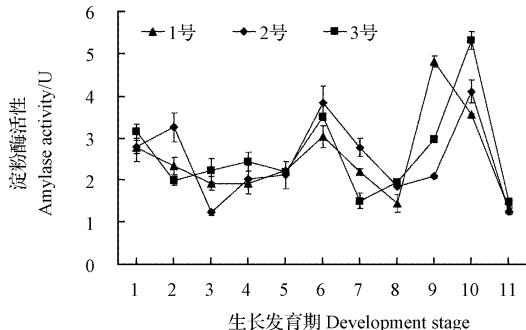


图6 3个黄伞菌株在不同生长发育期的胞外淀粉酶活性

Fig. 6 Activities of extracellular amylase from three *Pholiota adiposa* strains at different stages of development

## 2.8 3个黄伞菌株的胞外漆酶活性变化

从图7可以看出,在整个生长发育过程中,3个黄伞菌株胞外漆酶活性变化趋势大致相同,即酶的活性高峰出现在菌丝满瓶期和头潮菇间期,在头潮菇和2潮菇子实体成熟期,3个黄伞菌株的漆酶活性均处于较低水平。

## 2.9 3个黄伞菌株的胞外过氧化物酶活性变化

从图8可以看出,在整个生长发育过程中,3个黄伞菌株胞外过氧化物酶活性变化趋势大致相同,在菌丝长期,3个黄伞菌株的胞外过氧化物酶活性均较高,头潮菇原基期后,酶活性均处于较低水平。

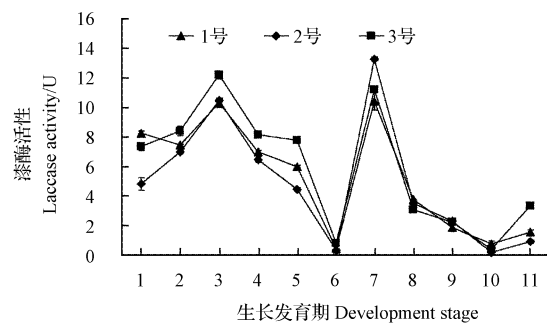


图7 3个黄伞菌株在不同生长发育期的胞外漆酶活性

Fig. 7 Activities of extracellular laccase from three *Pholiota adiposa* strains at different stages of development

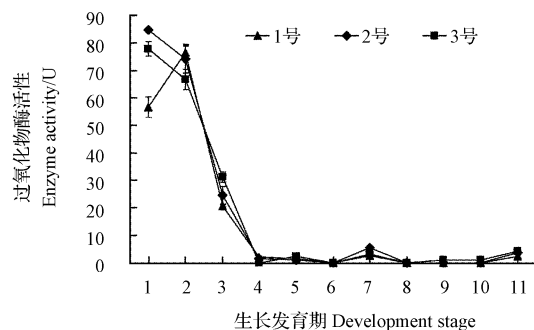


图8 3个黄伞菌株在不同生长发育期的过氧化物酶活性

Fig. 8 Activities of extracellular peroxidase from three *Pholiota adiposa* strains at different stages of development

## 3 结论与讨论

该试验结果表明,3个黄伞菌株的胞外CMC酶、FP酶、CH酶、淀粉酶和果胶酶活性高峰均对应于子实体生长发育期,这5种胞外酶与黄伞子实体的生长发育关系密切。3个黄伞菌株的胞外 $\beta$ -葡萄糖苷酶、漆酶和过氧化物酶在子实体生长发育期没有活性高峰出现,这表明,这3种胞外酶与黄伞子实体的生长发育的关系较小。

在整个栽培期间,3个黄伞菌株均能测出胞外CMC酶、FP酶和 $\beta$ -葡萄糖苷酶活性,表明3个黄伞菌株均具有完整的胞外纤维素酶系,这与姬菇和巴西蘑菇等研究相似<sup>[12-13]</sup>。黄伞属于木腐性食用菌,在自然界中,多生于柳树、杨树、桦树等阔叶树的树干枯枝基部和虫孔中及倒木上<sup>[1]</sup>,黄伞完整的胞外纤维素酶系是与其长期生长在纤维素含量较高的枯枝、倒木上有关,是对自然环境的一种适应。

在整个栽培期间,3个黄伞菌株的相同胞外酶均有相似的活性变化趋势,这与平菇、茶薪菇和黑木耳的研

究结果相似<sup>[14-16]</sup>。这表明,在整个生长发育期,黄伞的不同菌株对同一种胞外酶活性大小的调节具有近似一致性,这可能与同种食用菌不同菌株间的亲缘关系较近,所携带的遗传信息相似有关。

### 参考文献

- [1] 王立安,陈惠.滑菇与黄伞[M].北京:中国农业出版社,2009.
- [2] 田景花,杨旭,李明,等.黄伞菌种培养基配方筛选研究[J].北方园艺,2013(2):137-140.
- [3] 刘靖宇,梁志英,常明昌,等.珍稀食药食用菌黄伞生产工艺研究[J].食用菌学报,2006,13(2):81-84.
- [4] 姜华,黄清荣,臧丽丽,等.黄伞菌丝蛋白质营养价值评价[J].菌物学报,2005,24(3):441-445.
- [5] 刘靖宇,孟俊龙,张江萍,等.三种培养料对黄伞胞外酶活性的影响[J].食用菌学报,2006,13(1):41-43.
- [6] Mandels M, Hontz L, Nystrom J, et al. Enzymatic hydrolysis of waste cellulase[J]. Biotechnol Bioeng, 1974(16):1471-1493.
- [7] 王玉万,王云.构菌栽培过程中对木质纤维素的降解和几种多糖分解酶的活性变化[J].微生物学通报,1989,16(3):137-140.
- [8] Sengupta S, Sengupta S.  $\beta$ -Glucosidase production by the mycelial

culture of the mushroom *Termitomyces clypeatus* [J]. Enzyme Microb Technol, 1990(12):309-314.

- [9] Shamala T R, Sreekantiah K R. Production of cellulases and D-xylanase by some selected fungal isolates [J]. Enzyme Microb Technol, 1986, 8(3): 178-182.
- [10] 潘迎捷,陈明杰,郑海歌,等.香菇和平菇生长发育中漆酶、酪氨酸酶和纤维素酶活性的变化[J].上海农业学报,1991,7(2):21-26.
- [11] 张志良,瞿伟青.植物生理学实验指导[M].2版.北京:高等教育出版社,1990.
- [12] 初洋,倪新江,杨桂文,等.姬菇和鲍鱼菇生长期8种胞外酶活性变化比较[J].烟台大学学报(自然科学与工程版),2008,21(2):138-142.
- [13] 倪新江,丁立孝,潘迎捷,等.姬松茸在两种培养基上生长期九种胞外酶活性变化[J].菌物系统,2001,20(2):222-227.
- [14] 刘朝贵,高金权,李成琼.糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*)降解转化稻草秸秆研究[J].西南农业大学学报(自然科学版),2006,28(2):258-263.
- [15] 路等学,王龙,高静梅,等.茶薪菇不同生长期几种胞外酶活性的测定[J].华北农学报,2009,24(z1):275-277.
- [16] 王玉江,韩增华,戴肖东,等.黑木耳栽培过程中胞外酶活性变化[J].食用菌学报,2010,17(4):40-43.

## Activity Changes of Several Extracellular Enzymes from Three *Pholiota adiposa* Strains at Different Stages of Development

NI Xin-jiang, CHU Yang, ZHAO Mei, YAN Hui, CHEN Yu-huan, LI Song  
(College of Life Sciences, Yantai University, Yantai, Shandong 264005)

**Abstract:** Taking three *Pholiota adiposa* strain as materials, the activity changes of several extracellular enzymes were determined at different stages of development from three *Pholiota adiposa* strains cultivated on cotton seed hull in bottle to reveal the features of activity changes of the same extracellular enzymes from different strains of the same edible fungi. The results indicated that all of the three strains had complete set of extracellular cellulase; the activity peaks of extracellular carboxymethyl cellulase (CMCase), filter paper cellulase (FPase), hemicellulase (HCase), amylase and pectase from the three strains all appeared in the period between primordial formation and fruit-body maturity; there were no great changes in  $\beta$ -glucosidase activity from the three strains throughout its growth; the activity peaks of extracellular laccase from the three strains appeared in the period when substrates were fully colonized and in the period between first and second flush but their activities were low in the fruit-body maturity of both the first and second flush; and the extracellular peroxidase activities from the three strains remained high in the period of mycelial growth and then declined rapidly at the beginning of fruiting. It could be concluded that the activity changes of the same extracellular enzymes from the three strains were roughly the same.

**Key words:** *Pholiota adiposa* strain; extracellular enzyme; comparison of activity