

# 不同培养料对真姬菇胞外酶活性的影响

吴周斌<sup>1,2</sup>, 张 健<sup>2,3</sup>, 王佳敏<sup>3</sup>, 苏德伟<sup>2,3</sup>, 林兴生<sup>2,3</sup>, 林占熲<sup>2,3</sup>

(1. 福建农林大学 园艺学院,福建 福州 350002;2. 国家菌草工程技术研究中心,福建 福州 350002;  
3. 福建农林大学 生命科学学院,福建 福州 350002)

**摘要:**以真姬菇(*Hypsizygus marmoreus*)为试材,以五节芒(*Miscanthus floridulus*)和芒萁(*Dicranopteris dichotoma*)2种菌草、木屑和棉籽壳为主要原料栽培真姬菇,研究真姬菇菌丝胞外纤维素酶、半纤维素酶、β-葡萄糖苷酶、淀粉酶、漆酶和锰过氧化物酶在其生长发育阶段的活性变化。结果表明:无论在何种培养料中,真姬菇菌丝分泌的木质素酶类(漆酶、锰过氧化物酶)活性最大值都在菌丝后熟阶段,而非木质素酶活性最大值则都在菌丝生殖阶段;不同培养料中真姬菇菌丝分泌的同种胞外酶,其活性在各生长发育阶段不同。在变化趋势上,木质素酶类的活性趋势差异在菌丝体后熟阶段,非木质素酶类基本相似。由此说明真姬菇胞外酶活性与生长发育阶段密切相关,并且呈现阶段性变化;真姬菇胞外木质素酶类的活性及变化趋势,与其菌丝生长阶段和培养料的组成有关,非木质素酶类活性的变化趋势由真姬菇生长阶段决定,培养料的不同仅对其活性大小有影响。

**关键词:**真姬菇;菌草;胞外酶;纤维素酶;漆酶

**中图分类号:**S 646.8   **文献标识码:**A   **文章编号:**1001—0009(2015)08—0145—05

真姬菇(*Hypsizygus marmoreus* (Peck) H. E. Bigelow)属伞菌目(Agaricales)白蘑科(*Tricholomataceae*)玉蕈属(*Hypsizigus*),又名白玉菇、蟹味菇、海

**第一作者简介:**吴周斌(1988-),男,硕士研究生,现主要从事菌草工厂化栽培真姬菇与真姬菇富硒特性等研究工作。E-mail:linximudi@163.com

**责任作者:**林占熲(1943-),男,研究员,博士生导师,现主要从事菌草栽培食用菌以及菌草生态治理等研究工作。

**基金项目:**福建省科技重大资助项目(2012NZ0002);国家菌草工程技术研究中心组建资助项目(2011FU125X11)。

**收稿日期:**2015—01—22

鲜菇,是一种极具发展前景的木质腐型珍稀食用菌<sup>[1]</sup>。真姬菇风味独特,口感极佳,因赖氨酸含量较高,而具有独特的蟹香味<sup>[2-3]</sup>。真姬菇也是一种低热量、低脂肪的保健食品,具有较高的药用价值<sup>[4]</sup>,其子实体热水和有机溶剂浸提物,均有清除人体内自由基的作用,因此经常食用有抗癌、防癌、提高免疫力、预防衰老、延长寿命的功效<sup>[5-7]</sup>。

目前,关于真姬菇配方筛选、工厂化栽培以及液体菌种等<sup>[8-10]</sup>方面的研究多见报道,而与真姬菇生长发育密切相关的胞外酶活性的研究鲜有报道。菌草(JUNCAO),指可以作为栽培食用菌、药用菌培养基的草本植物的统

## Study on Substitute Cultivation *Auricularia auricular* with Straw

WANG Wei<sup>1</sup>, LIU Ying<sup>1</sup>, HAN Guang<sup>1</sup>, ZHANG Ming-yi<sup>1</sup>, LIANG Yan-hai<sup>2</sup>

(1. Soil, Fertilizer and Environment Resource Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Science, Harbin, Heilongjiang 150086; 2. Daxing'anling Academy of Agricultural and Forestry Science, Daxing'anling, Heilongjiang 165000)

**Abstract:** Taking *Auricularia auricular* as test material, and corncob, soybean straw as raw materials, substitute cultivation *Auricularia auricular* was used in place of broadleaf sawdust. The method for cultivating *Auricularia auricular* was investigated, the optimal formulation and technological in substitute cultivation *Auricularia auricular* was chose out. The results showed that with straw as raw material was feasibility, when straw in substitute materiel was reached 60%, the growth of plantain was not significantly influenced.

**Keywords:** straw; broadleaf sawdust; *Auricularia auricular*; substitute cultivation; formula

称,如芒萁(*Dicranopteris dichotoma* (Thunb.) Bernh.)、五节芒(*Miscanthus floridulus* (Labill.) Warb. ex Schum. et Laut)、类芦(*Neyraudia reynaudiana* (Kunth) Keng)等<sup>[11]</sup>。该试验研究了真姬菇在2种菌草栽培配方和2种常规原料配方中几种主要胞外酶在各生长发育阶段活性的变化,旨在阐明真姬菇降解利用栽培基质的规律,分析其对不同培养料的利用能力,为筛选出适宜真姬菇栽培的菌草配方提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试真姬菇菌株品种为“白玉10号”,由福建农林大学微生物工程实验室提供。供试配方如表1所示,表中各配方含水量控制在65%左右。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 栽培方法 选用17 cm×33 cm×0.05 cm的聚

表 1

真姬菇栽培配方

Table 1

Formulae cultivation of *H. marmoreus*

配方 Formula/(w·w <sup>-1</sup> )	五节芒 <i>M. floridulus</i> /%	芒萁 <i>D. dichotoma</i> /%	木屑 Sawdust/%	棉籽壳 Cotton seedhull/%	麸皮 Wheat bran/%	玉米 Corn meal/%	轻质钙 CaCO <sub>3</sub> /%	石灰 Line/%
菌草 Juncao	1 2	73.0 36.5	36.5		20.0 20.0	5.0 5.0	1 1	1 1
常规原料 Conventional formula	1 2		43.0	30.0 73.0	20.0 20.0	5.0 5.0	1 1	1 1

1.2.3 粗酶液的制备 准确称取菌质2份,每份2 g:一份适当研磨后移入具塞三角瓶中,加水20 mL,于37℃水浴锅中浸提2 h后,4层纱布过滤,取滤液,定容至25 mL,于8 000 r/min、4℃、冷冻离心10 min,上清液即为粗酶液,5 mL离心管分装,于-80℃保存备用;另一份样品置于80℃下烘至恒重,称重,测定菌质含水量。

### 1.3 项目测定

1.3.1 羧甲基纤维素酶活性测定 参照蒋立科等<sup>[12]</sup>方法测定,羧甲基纤维素酶活性单位定义:每克干培养物中的酶量与底物作用30 min释放出1 mg葡萄糖为1个酶活力单位。

1.3.2 半纤维素酶活性测定 参照李江华等<sup>[13]</sup>方法测定,半纤维素酶活性单位定义:每克干培养物中的酶量与底物作用10 min催化底物生成1 mg木糖所需的酶量为1个酶活力单位。

1.3.3 β-葡萄糖苷酶活性测定 参照蒋立科等<sup>[12]</sup>方法测定。β-葡萄糖苷酶活力单位定义:每克干培养物中的酶量与底物作用30 min释放出1 mg葡萄糖为1个酶活力单位。

1.3.4 淀粉酶活性测定 参照蒋立科等<sup>[12]</sup>方法测定。淀粉酶活力单位定义:每克干培养物中的酶量与底物作用30 min释放出1 mg葡萄糖为1个酶活力单位。

1.3.5 木质素酶活性测定 漆酶和锰过氧化物酶测定参照池玉杰等<sup>[14]</sup>方法,在上述条件下,酶活性单位定义为:每克干培养物中的酶量,每分钟氧化1 μmol ABTS

丙烯塑料袋装料,每袋装干料450 g左右,125℃高压灭菌3 h,冷却后接种。接种后置于培养室培养,培养温度23~25℃,湿度60%~75%,待菌丝后熟完成后移入出菇房,进行出菇管理。出菇温度14~15℃,湿度90%~95%、光照强度400 lx。

1.2.2 样品采集 各配方分别在以下9个不同时期取样:①菌丝长至菌袋1/2(接种后25 d),②菌丝满袋(接种后40 d),③满袋后熟15 d(接种后55 d),④满袋后熟30 d(接种后70 d),⑤满袋后熟45 d(后熟结束,接种后85 d),⑥开袋后15 d(菌芽期、接种后100 d),⑦开袋后23 d(伸长期、接种后108 d),⑧开袋后30 d(成熟期、接种后115 d),⑨采后第3天(接种后118 d)。样品取自料面下5 cm处的培养料,每种配方每次随机选3袋,取样20 g/袋,混匀。

或2,6-DMP所需的酶量为1个酶活力单位。420 nm的消光系数 $\epsilon=3.6\times10^4\text{((mol/L)}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ,470 nm的消光系数 $\epsilon=4.96\times10^4\text{((mol/L)}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 。木质素酶的计算公式如下:Lac=(ΔOD×n×1 mL 10<sup>6</sup> μmol/mol)/(0.1 mL×m×ε);n为酶液的稀释倍数,m为反应时间(min)。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同培养料对真姬菇羧甲基纤维素酶活性的影响

从图1可以看出,在菌丝长至菌袋的1/2时,菌草2号培养料配方中胞外羧甲基纤维素酶活性最高达到了6.18 U,其后依次是菌草1号配方、木屑与棉籽壳配方,棉籽壳配方最小。在子实体成熟期,不同培养料中的胞外羧甲基纤维素酶活性均处于峰值,活性大小依次为:菌草1号>棉籽壳>菌草2号>木屑与棉籽壳混合,分别为34.20、33.87、27.58、25.65 U。真姬菇处在菌丝生长阶段和后熟阶段时,不同培养料中的胞外羧甲基纤维素酶,其活性均较低、变化幅度小,在生殖阶段则有不同程度的增加,成熟期达到最大值,子实体采摘后呈下降趋势。

### 2.2 不同培养料对真姬菇半纤维素酶活性的影响

从图2可以看出,在真姬菇菌丝长至菌袋的1/2时,菌草1号培养料胞外半纤维素酶活性最高,其后依次为菌草2号配方、棉籽壳配方,活性最低的为木屑与棉籽壳混合配方,分别为4.93、4.17、3.33、2.85 U。子实

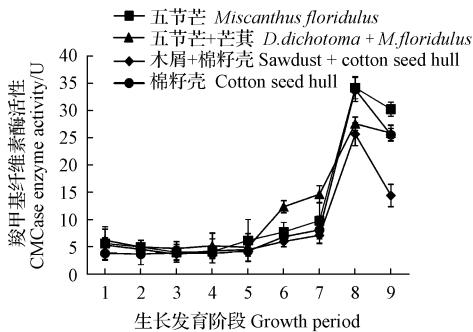


图 1 不同培养料中真姬菇羧甲基纤维素酶活性变化比较

Fig. 1 Comparison of cultivation substrate on *Hypsizygus marmoreus* CMCCase activity

体成熟期,不同配方胞外半纤维素酶的活性均达到最大,其中活性最高的是菌草 2 号配方,为 38.78 U,其余由大到小依次为菌草 1 号配方、木屑与棉籽壳混合配方和棉籽壳配方,最大值分别为 31.52, 25.70, 24.87 U。从整个周期来看,真姬菇胞外半纤维素酶在菌丝生长阶段活性较小,后熟阶段前期小幅度下降后维持稳定,转人生殖阶段小幅增加,子实体成熟前大幅提高,成熟期达到最大,子实体采摘后降低。

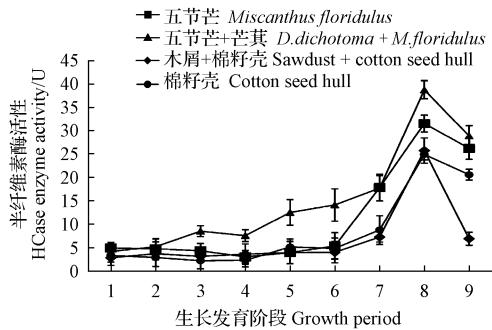


图 2 不同培养料中真姬菇半纤维素酶活性变化比较

Fig. 2 Comparison of cultivation substrate on *Hypsizygus marmoreus* HCase activity

### 2.3 不同培养料对真姬菇胞外 $\beta$ -葡萄糖苷酶活性的影响

从图 3 可知,在真姬菇菌丝长至菌袋的 1/2 时,木屑与棉籽壳混合配方的胞外  $\beta$ -葡萄糖苷酶活性最高,为 5.67 U,然后依次为菌草 1 号、菌草 2 号、棉籽壳配方。子实体成熟前,菌草 1、2 号以及棉籽壳配方的胞外  $\beta$ -葡萄糖苷酶活性都达到最大,分别为 6.16, 5.92, 5.70 U。木屑与棉籽壳混合配方则是菌丝长至菌袋 1/2 时活性最高,为 5.67 U。在真姬菇整个生长过程中,其胞外  $\beta$ -葡萄糖苷酶活性呈现先降后升再降的变化趋势。各配方之间的胞外  $\beta$ -葡萄糖苷酶活性相差较大,但变化趋势基本保持一致。

### 2.4 不同培养料对真姬菇胞外淀粉酶活性的影响

由图 4 可知,在真姬菇菌丝长至菌袋 1/2 时,各培养料中真姬菇胞外淀粉酶活性由大到小依次为:木屑与

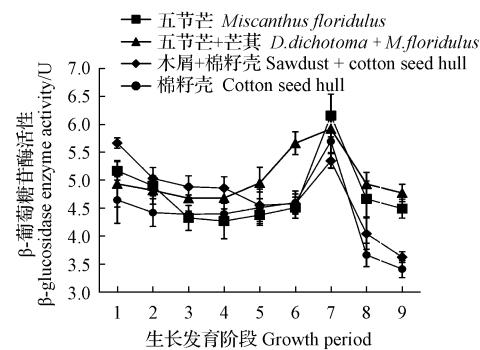
图 3 不同培养料中真姬菇  $\beta$ -葡萄糖苷酶活性变化比较

Fig. 3 Comparison of cultivation substrate on *Hypsizygus marmoreus*  $\beta$ -glucosidase activity

棉籽壳混合配方、菌草 1 号配方、菌草 2 号配方、棉籽壳配方,分别为 6.05, 5.20, 4.90, 4.60 U。子实体成熟期各配方中菌丝胞外淀粉酶活性均达到最大,其中棉籽壳配方活性最大值为 8.59 U,其后分别为木屑与棉籽壳混合、菌草 2 号、菌草 1 号等配方。总体而言,真姬菇菌丝胞外淀粉酶活性在菌丝生长阶段逐步减小,后熟阶段较稳定,在子实体成熟前迅速上升,子实体成熟期达到最大值,采摘子实体后开始逐渐下降。不同培养料中的真姬菇胞外淀粉酶活性变化规律总体相近。

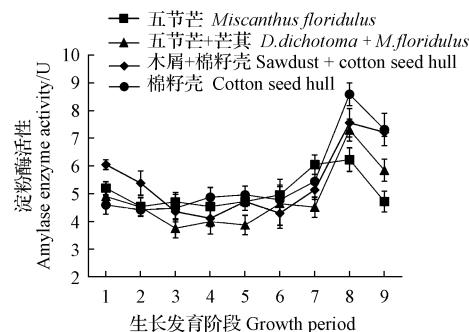


图 4 不同培养料中真姬菇淀粉酶活性变化比较

Fig. 4 Comparison of cultivation substrate on *Hypsizygus marmoreus* Amylase activity

### 2.5 不同培养料对真姬菇胞外漆酶的影响

由图 5 可以看出,木屑与棉籽壳混合配方和棉籽壳配方真姬菇胞外漆酶活性最大值出现在菌丝后熟 30 d 时期,数值分别是 68.80, 57.53 U, 菌草 1、2 号配方最大值则都出现在菌丝后熟 15 d 时期,分别为 67.22, 59.83 U。在真姬菇菌丝生长阶段,胞外漆酶活性持续增加,在菌丝后熟期达到最高峰,进入生殖阶段开始急剧下降。不同培养料中真姬菇胞外漆酶在各时期活性大小不同,且高峰出现时间和持续时间也有差异。

### 2.6 不同培养料对真姬菇胞外锰过氧化物酶活性的影响

由图 6 可以看出,棉籽壳配方中真姬菇胞外锰过氧化物酶活性达到最大值,是在菌丝后熟 15 d 时期,为 7.57 U,而木屑与棉籽壳混合配方和菌草 1 号配方在菌

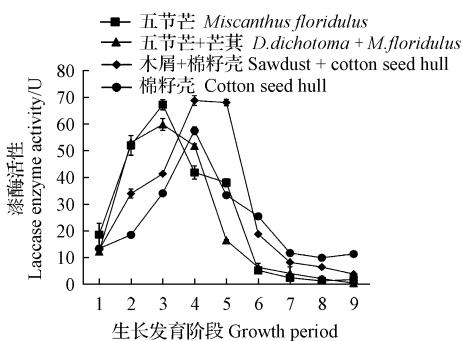


图 5 不同培养料中真姬菇漆酶活性变化比较

Fig. 5 Comparison of cultivation substrate on *Hypsizygus marmoreus* laccase activity

丝后熟 30 d 时期出现活性最大值, 分别为 9.42、8.09 U, 菌草 2 号配方最大值则出现在菌丝后熟完成阶段, 大小为 7.46 U。在真姬菇生长周期中, 其菌丝体分泌的胞外锰过氧化物酶活性变化整体呈“单峰型”, 活性峰值在菌丝后熟期。各配方锰过氧化物酶活性高峰出现的时期和持续时间不一, 木屑和棉籽壳混合配方的胞外锰过氧化物酶活性要明显高于其它 3 种配方。

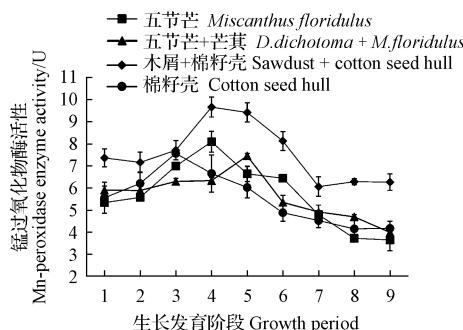


图 6 不同培养料中真姬菇锰过氧化物酶活性变化比较

Fig. 6 Comparison of cultivation substrate on *Hypsizygus marmoreus* Mn-peroxidase enzyme acvicity

### 3 讨论

食用菌胞外酶活性的变化趋势, 反映了其对培养料成分降解利用先后的情况。前人对金顶侧耳 (*Pleurotus citrinipileatus* Sing.)、杏鲍菇 (*Pleurotus eryngii* Quel.) 以及金针菇 (*Flammulina velutipes* (Fr.) Sing.) 等<sup>[15-17]</sup> 的胞外酶研究均发现, 纤维素酶类、半纤维素酶及淀粉酶的活性高峰值在生殖生长阶段, 而木质素分解酶的活性高峰值在真姬菇营养生长阶段, 胞外酶活性变化呈现阶段性, 各胞外酶之间的活性峰值交替出现, 并与其生长发育时期有着密切的关联。然而真姬菇胞外酶也有这样的变化规律, 另外真姬菇、金针菇、金顶侧耳以及杏鲍菇同属白腐菌, 均为伞菌目, 因此该研究中各胞外酶的变化趋势, 是否为伞菌目白腐性真菌各种的胞外酶变化的共性, 还有待进一步研究验证。

胞外酶活性峰值的交替变化, 可能与木质素和纤维

素在植物组织中存在的结构形式有关。植物组织中, 纤维素周围的基质由木质素与半纤维素构成, 木质素与纤维素以共价键形式紧密结合, 并将纤维素分子包埋其中, 使植物细胞壁加固<sup>[18]</sup>, 因此木质素的降解是纤维素和半纤维素被大量降解的前提。该研究中发现真姬菇中的漆酶在后熟期活性最高, 可以大量分解木质素, 使纤维素和半纤维素充分暴露, 为生殖阶段纤维素和半纤维素大量降解创造了条件。真姬菇菌丝处于生殖阶段时, 由于在菌丝后熟阶段, 漆酶分解木质素产物的积累, 以及培养基中 C/N 比减小, 这些都抑制了漆酶活性, 导致其活力迅速下降<sup>[19]</sup>。子实体生长过程中需要充足的养料, 因而大量的纤维素酶、半纤维素酶以及淀粉酶等被诱导出来, 用于降解培养料获取营养。

漆酶和锰过氧化物酶, 都是分解木质素的酶类<sup>[20]</sup>, 该研究表明, 培养料中真姬菇菌丝分泌的漆酶活性最大值是锰过氧化物酶活性最大值的 6~8 倍, 这说明漆酶主导着真姬菇菌丝对培养中木质素的降解。真姬菇胞外淀粉酶活性在菌丝生长阶段相对较高, 在子实体成熟阶段出现峰值, 推测淀粉是真姬菇菌丝生长初期以及子实体成熟期重要的养分, 根据这一变化规律, 在栽培真姬菇的养料中适当添加一些玉米粉等富含淀粉的物质, 可能会达到缩短菌丝生长时间、增加真姬菇产量的效果。

从 4 种培养料中的胞外酶变化来看, 不同培养料中真姬菇菌丝分泌的同种胞外纤维素酶类、半纤维酶以及淀粉酶的活性不同, 但在各时期变化趋势基本相同, 这与叶云霞等<sup>[20]</sup>的元蘑 (*Hohenbuehelia serotina* (Schard. ex Fr.) Sing.) 研究结果相似, 说明培养料成分的不同只对真姬菇菌丝胞外纤维酶类、半纤维酶以及淀粉酶活性大小有影响, 而对变化趋势并无影响, 这些酶活性的变化趋势由真姬菇菌丝的生长阶段决定。此外, 不同培养料中真姬菇菌丝分泌的同种胞外木质素酶, 不仅活性不同, 而且酶活性变化的趋势也有差异, 这表明培养料成分的不同, 对真姬菇木质素酶的活性大小以及变化趋势有影响。由于不同培养料的组合培养基会优于单一培养料的培养基, 因此在选择真姬菇栽培的培养料时应以组合培养基为主。

漆酶对真姬菇菌丝分解培养料中的木质素占主导作用, 其活性的变化反映了培养料中木质素的降解情况, 菌草培养料中的胞外漆酶峰值出现较常规培养料要早, 且高活性时期持续的时间短。菌草培养基中漆酶较早出现活性高峰, 这可能与草本植物和木本植物中木质素的存在形式和构造不同有关。草本植物中的木质素含量较木本植物的少<sup>[21]</sup>, 因此菌草培养料中木质素酶峰值持续的时间较短。真姬菇菌丝后熟阶段, 大量木质素被降解, 后熟完成时培养料质变的地松软, 菌丝颜色由洁白色转为土黄色<sup>[22-23]</sup>。菌草培养料中漆酶活性高峰

较早出现,这使得菌草配方中的木质素较棉籽壳配方的降解要快,菌袋更早出现转色和松软,这可能会使菌草配方较常规配方提前完成后熟,转入生殖生长阶段,从而缩短真姬菇栽培周期。据此推测,漆酶可能与真姬菇后熟完成有关,并在推动真姬菇菌丝由营养生长转入生殖生长的过程中起着某种调控作用,具体的调控机制有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] Kirkp M,Cannon P F,Minter D W,et al. Ainsworth and baby's dictionary of fungi[M]. 10th ed. Wallingford:CAB international,2008:1-771.
- [2] 王琦,章勤学.蟹味菇的营养价值及生物活性成分研究[J].食品研究与开发,2010(1):173-174.
- [3] 林群英,叶运寿,宋斌,等.真姬菇与白玉菇子实体部分成分比较[J].广东农业科学,2012(10):53-55.
- [4] Lee Y L,Jian S Y,Mau J L. Composition and non-volatile taste components of *Hypsizygus marmoreus*[J]. LWT-Food Sci Technol, 2009, 42(2): 594-598.
- [5] 李顺峰,张丽华,付娟妮,等.真姬菇子实体多糖体外抗氧化特性研究[J].西北农业学报,2008(4):302-305.
- [6] Chang J S,Son J K,Li G,et al. Inhibition of cell cycle progression on HepG2 cells by hypsiziprenol A9, isolated from *Hypsizygus marmoreus*[J]. Cancer Letters,2004,212:7-14.
- [7] Ukawa Y,Ito H,Hisamatsu M. Antitumor effects of (1→3)- $\beta$ -glucan and (1→6)- $\beta$ -glucan purified from newly cultivated mushroom, Hatakeshiméji (*Lyophillum decastes* Sing.)[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2000,90(1):98-104.
- [8] 石健林,林中麟,林雷通,等.烟秆替代部分棉籽壳作培养基栽培真姬菇的效果[J].中国烟草学报,2011(2):59-62.
- [9] 同培生,朱国振,高秀君,等.真姬菇液体种子制备条件的优化研究[C].第九届全国食用菌学术研讨会摘要集,2010.
- [10] 许占伍,张引芳,朱爱莲,等.真姬菇工厂化生产液体菌种制备工艺研究[J].食用菌,2011(6):22-24.
- [11] 林占熺,林辉.菌草学[M].2版.北京:中国农业科学技术出版社,2003.
- [12] 蒋立科,罗曼.生物化学实验设计与实践[M].北京:高等教育出版社,2007:201-212.
- [13] 李江华,房峻.半纤维素酶高产菌种的选育及产酶条件[J].无锡轻工大学学报,2004(5):48-52.
- [14] 池玉杰,同洪波.红平菇木质素降解酶系统漆酶、锰过氧化物酶及木质素过氧化物酶的检测[J].林业科学,2009(12):154-158.
- [15] 李娟,倪新江,樊守金,等.金顶侧耳不同生长期几种胞外酶活性变化[J].吉林农业大学学报,2006(6):619-622.
- [16] 倪滔滔,谭琦,Buswell J A.杏鲍菇栽培周期木质素酶变化规律的研究[J].上海农业学报,2011(2):14-17.
- [17] 冯伟林,蔡为明,金群力,等.金针菇生长发育期间相关胞外酶的活性变化研究[J].浙江农业学报,2012(3):430-433.
- [18] 林志伟.白腐菌降解菌草及其降解酶系的特性研究[D].福州:福建农林大学,2008.
- [19] 胡雪竹.木质素降解酶的研究进展[J].安徽农业科学,2011,39(11):6326-6328,6363.
- [20] 叶云霞,金宁,杨杰,等.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(2):172-175.
- [21] 陈慧泉,龚运淮,方舟.天然高分子物质的利用现状和前景(I)——纤维素、木质素和淀粉[J].云南化工,1996(1):41-46.
- [22] 黄年来,林志彬,陈国良,等.中国食药用菌学[M].上海:上海科学技术文献出版社,2010.
- [23] 赵荣艳,段毅.蟹味菇栽培技术[M].北京:金盾出版社,2009.

## Effect of Different Cultivation Substrates on Extracellular Enzyme Activities of *Hypsizygus marmoreus*

WU Zhou-bin<sup>1,2</sup>,ZHANG Jian<sup>2,3</sup>,WANG Jia-min<sup>3</sup>,SU De-wei<sup>2,3</sup>,LIN Xing-sheng<sup>2,3</sup>,LIN Zhan-xi<sup>2,3</sup>

(1. College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002; 2. National Engineering Research Center of Juncao, Fuzhou, Fujian 350002; 3. College of Life Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002)

**Abstract:** Taking *Hypsizygus marmoreus* as materials, the extracellular enzyme activities of carboxymethylcellulase hemicellulase,  $\beta$ -glucosidase, amylase, laccase and manganese peroxidase at different growth stages of *Hypsizygus marmoreus* were studied, with two kinds of JUNCAO formula (*Miscanthus floridulus*, *Dicranopteris pedata*), and two conventional formula (sawdust and cotton seed hull). The results showed that the activity of *H. marmoreus* mycelium secretion of lignin enzymes (laccase, Mn-peroxidase) reached the maximum at the ripening stage of mycelium in each culture material, and the activity of non-ligninolytic enzyme reached the maximum at the mycelial reproductive stage. The activity of the same extracellular enzymes, secreted by *H. marmoreus* at different culture medium, were disparate in different growth period, the changing trends of lignin enzymes activity were imparity, the trend of Non-lignin enzyme activity were essentially same. The results indicated that the change of the activity of *H. marmoreus* mycelium secreted enzyme was closely related to growth period and periodical. The activities and changing tendency of lignin enzymes were related to the mycelial growth stage of *H. marmoreus* and the components of formula, meanwhile, the changing tendency of non-lignin enzymes activities of *H. marmoreus* were determined by the mycelium growth stage of *H. marmoreus* and could be affected by different formula.

**Keywords:** *Hypsizygus marmoreus*; JUNCAO; extracellular enzymes; carboxymethylcellulase (CMCase); laccase