

文章编号: 1000-5471(2008)01-0040-03

不同培养料对鸡腿菇胞外酶活性影响的研究^①

刘朝贵, 邵坤, 聂和平, 周贤达, 强志强, 谷春花

西南大学 园艺园林学院 重庆市蔬菜学重点实验室, 重庆 400716

摘要: 实验设计了6个不同鸡腿菇培养基配方, 分别提取其在菌丝半袋、菌丝满袋、原基、幼菇、成熟5个生长阶段粗酶液, 通过测定纤维素酶、漆酶和淀粉酶活性, 初步揭示出不同培养基对鸡腿菇纤维素酶、漆酶、淀粉酶活力的影响及规律. 结果表明: 不同培养基配方对各种酶的活力大小有影响, 但各种酶活性在不同基质中变化规律一致, 基质成分对酶活性的变化规律无影响.

关键词: 鸡腿菇; 培养料; 纤维素酶; 漆酶; 淀粉酶

中图分类号: S646.1⁺9

文献标识码: A

鸡腿菇[*Coprinus comatus* (Mull. : Fr.) S. F. Gray]隶属于伞菌目鬼伞科鬼伞属, 英文名为 Shaggy Mane, 又称毛头鬼伞、毛鬼伞、鸡腿蘑、白鸡腿蘑、刺蘑菇, 属大型真菌^[1]. 菇体白色, 单生或丛生, 未开伞前状如鸡腿, 菌盖具有反卷鳞片, 所以有些地方又称其为“刺蘑菇”. 因其形如鸡腿, 肉质肉味似鸡丝而得名, 是近年来人工开发的具有商业潜力的珍稀菌品, 被誉为“菌中之秀”^[2].

本实验用6组不同的培养基配方来研究鸡腿菇在菌丝半袋、菌丝满袋、原基、幼菇、成熟5个生长阶段纤维素酶、漆酶和淀粉酶的活性, 了解其在各个发育阶段酶活性的变化规律以及不同培养基对3种酶活力的影响规律, 有助于阐明培养基组分降解的特点, 为生产中选择最适培养料配方提供一定的理论依据.

1 材料与方法

1.1 试验材料

鸡腿菇菌种由西南大学食用菌研究室提供.

1.2 试验方法

1.2.1 培养料配方

- ①玉米粉12%、棉籽壳86%、石膏1%、磷酸二氢钾1%;
- ②麦麸12%、棉籽壳86%、石膏1%、磷酸二氢钾1%;
- ③玉米粉12%、锯末86%、石膏1%、磷酸二氢钾1%;
- ④麦麸12%、锯末86%、石膏1%、磷酸二氢钾1%;
- ⑤玉米粉12%、稻草粉86%、石膏1%、磷酸二氢钾1%;
- ⑥麦麸12%、稻草粉86%、石膏1%、磷酸二氢钾1%.

1.2.2 培养及管理

鸡腿菇采用袋栽法, 平均每袋料装干料为200g, 按配方将栽培料装袋, 每种配方装料50袋, 封口后, 用121℃高温灭菌25min, 冷却后以5%的比例接入原种, 进行发菌及出菇管理.

1.2.3 取样和粗酶液制备

分5个阶段取样: 菌丝长至半袋, 菌丝满袋, 原基, 幼菇, 子实体成熟. 每一阶段每一配方取菌包10袋, 分别取3g栽培料打碎, 混匀, 四分法取3g加30mL蒸馏水, 25℃浸提4h, 过滤后, 以3500r/min

① 收稿日期: 2007-10-09

基金项目: 西南大学科技创新基金资助项目 (sz2006005).

作者简介: 刘朝贵(1955-), 男, 重庆江北人, 副教授, 主要从事蔬菜和食用菌研究.

离心 10 min, 上清液即为粗酶液, 4 °C 冰箱中保存备用.

1.3 酶活性测定与分析

1.3.1 羧甲基纤维素酶(CMCase)活的测定

参考王玉万(1989)的方法进行. CMC 酶活性单位为: 1 u=1 mg 葡萄糖/10 min · g 干培养物^[3].

1.3.2 α -淀粉酶活性测定

参照朱广廉等的方法测定. 酶活性定义为 40 °C 下: 10 min 内催化底物生成 1 mg 还原糖为 1 个酶活性单位(U). 淀粉酶活性单位为: 1 u=1 mg 葡萄糖/10 min · g 干培养物^[4].

1.3.3 漆酶活性的测定

参考张凤芹的方法测定. 酶活力以样品与底物反应 30 min 后光密度表示^[5].

2 结果与分析

2.1 不同培养基对鸡腿菇纤维素酶活性的影响

由图 1 可以看出, 在整个培养过程中, 6 种培养基的酶活力变化总体趋势是基本一致的. 纤维素酶的活性在培养初期较低, 呈逐渐升高趋势, 幼菇到成熟阶段出现了明显的上升, 从而达到了高峰. 这种现象的出现可能是由于从培养基出现原基开始有新的物质由菌丝体产生, 从而促进了纤维素酶的产生. 其中, 6 号培养基的纤维素酶活性在各培养阶段都强于其它培养基. 同时, 在配方中利用了麦麸的配方比之使用玉米粉的配方晚到达峰点, 可能是由于玉米粉的纤维素酶是相对较短的纤维, 利用难度较麦麸更加容易.

2.2 不同培养基对淀粉酶活性的影响

根据图 2 中反映, 鸡腿菇菌株在 6 种不同基质中淀粉酶活性变化规律一致: 在培养初期淀粉酶活性逐渐上升, 到满袋阶段出现活性高峰, 而后不断下降, 整个营养生长阶段普遍高于生殖生长阶段的酶活力, 当第一潮菇成熟时, 淀粉酶活力又有一上升趋势. 在 6 种基质中 5 号培养基中的淀粉酶活性最高. 这说明, 在培养初期培养料内有很丰富的淀粉类物质, 鸡腿菇优先大量分解基质中的这类物质以供菌丝体生长所需碳源和能量.

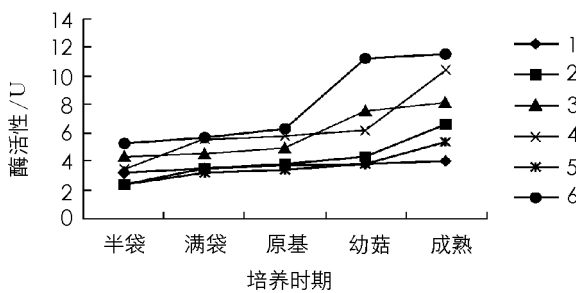


图 1 鸡腿菇在不同培养阶段的纤维素酶活性

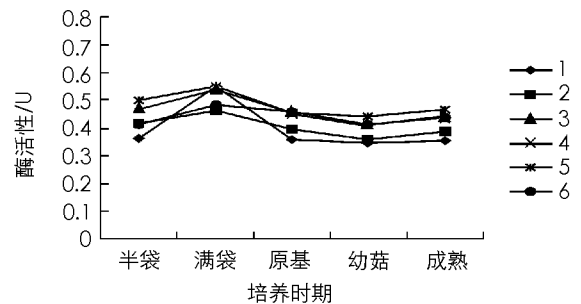


图 2 鸡腿菇在不同培养阶段中淀粉酶活性变化

2.3 不同培养基对漆酶活性的影响

图 3 反映了鸡腿菇漆酶在 6 组不同基质中的变化规律. 6 组不同配方基质中酶活性变化规律一致. 漆酶在鸡腿菇培养初期活性较低, 逐渐升高, 在原基形成时达到高峰, 其后又下降. 6 组配方中 3 号、4 号培养基的漆酶活性均强于其他培养基. 漆酶是与木质素降解相关的酶活性变化规律说明, 木质素成分在菌丝营养生长期利用较少, 生殖生长期鸡腿菇对木质素的降解利用较多.

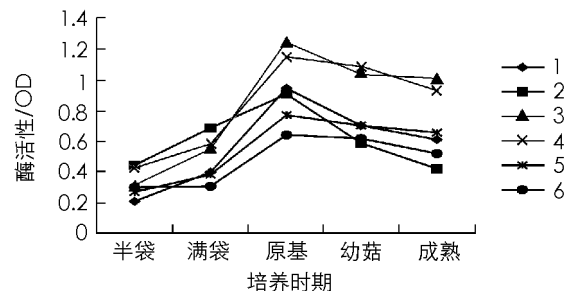


图 3 鸡腿菇在不同培养阶段中漆酶活性变化

3 结论与讨论

对鸡腿菇 3 种胞外酶的研究发现: 酶活性在 6 组不同配方基质中的变化规律一致, 基质成分对酶活性的变化规律无影响.

纤维素酶在子实体成熟时达到高峰. 这一现象与前人对双孢蘑菇^[6-7]、侧耳^[8]、四孢蘑菇^[9]等的研究结

果似。据 ; E 测, & 实体生长发育 | 的大型真菌 u 大 具有 一 。用 菇 的方法 菇^[10]、玉 ^[11]e & 实体的发育, u 以 纤维素酶 U 在基 O 平, 明纤维素酶的变化 O & 实体的 生长发育有 。

淀粉酶活性在菌丝 养生长阶段 | 高, ! 入生 生长 6, 淀粉酶活性降 } | } O 平。淀粉酶是一种 酶, 的产生不但 菌 基因 , k O 基质中淀粉 j ' 的 有 。因 在生产栽培 = 栽培料 的过 x 中, - 适 的 淀粉成分的' 质, - 菌丝的活力, 菌 的 。在 6 种基质中 5 培养基中的淀粉酶活性最高, 明 - 玉米粉 于麦麸。

漆酶活性在菌丝生长前 6 高, 在原基形成阶段 高 , 之后 降 } 一规律 O 前人对 菇^[12]和 ^[13]的研究发 一致。高 7 ^[14]在对 7 菇的研究中发 , 漆酶活性在发菌初 6 酶活性最高, 降 }, 在菌 生 生长 6, 酶活性降 % } , % 酶活。 O 本实验发 的漆酶活性规律 反。 u 是由于鸡腿菇、 菇、 是白 菌, 而 7 菇是 菌, 白 菌菌 O 菌 比漆酶活性高 出 | , 对于 一 测 k ! 一步研究。

参考文献:

[1] 明 . 食用菌栽培学 [M]. F : 中 业出 , 2003: 270 - 271.
 [2] 文. 鸡腿菇 养 高开发前 c [J]. < 开发 O 用, 2000, 4: 11 - 12.
 [3] A , 玉 , 明理, e. 纤维素酶酶活的测定方法 [J]. 中 料, 2002, 17: 27 - 28.
 [4] , Z n, . 白酶和淀粉酶活性 测方法 [J]. 东 料, 2002, 5: 22 - 23.
 [5] l m n. 不同_ 对鸡腿菇 酶活性及 _分泌的影响 [J]. 食用菌, 1999, 21(4): 5 - 6.
 [6] Turner E M, Wright M, Ward T, etal. Production of ethylene and other votatiles and changes in cellulose and laccase and lac- case during the life cycle of the cultivated mushroom Agaricus bisporus [J]. J Gen Microbiol, 1975, 91: 167 - 176.
 [7] Wood D A, Goodenough P W. Fruiting of Agaricus bisporus change inextracellular enzyme activites during growth and fruiting [J]. Arch Microbiol, 1977, 144: 161 - 165.
 [8] 李春田, Z 玉 [, Z 云. 糙皮 对玉米秸秆的降解 用 [J]. 中 食用菌, 1992, 11(2): 8 - 10.
 [9] 郭 倩, 庆邦. , 蘑菇生长过 x 中, 种 酶活性和 质纤维降解的变化规律 [J]. 食用菌学报, 1998, 5(2): 13 - 17.
 [10] Z 玉 [, Z 云. 菇 养生理研究 [J]. 微生' 通报, 1990, 17(6): 321 - 323.
 [11] Z 玉 [, 潘贞 , 李秀玉, e. 玉 降解 质纤维素的生理生化基 [J]. 真菌学报, 1993, 12(3): 219 - 225.
 [12] ; E, 潘迎捷, 冯志勇, e. 菇生长过 x 中几种 酶活性的变化 [J]. 食用菌学报, 1995, 2(4): 22 - 27.
 [13] ; E, 丁立 Y, 潘迎捷, e. 在两种培养基 P 生长 6 间九种 酶活性变化 [J]. 菌' 系统, 2001, 20(2): 222 - 227.
 [14] 高 7 , ABC, 李成琼. 稻草秸秆栽培 7 菇基质降解特性研究 [J]. 中 学通报, 2005, 12(21).

Study on the Effects of Different Culture Media on Extracellular Enzyme Activity in *Coprinus comaus*

LIU Chao-gui, SHAO Kun, NIE He-ping, ZHOU Xian-da, QIANG Zhi-qiang, GU Chun-hua

Chongqing Key Laboratory of Olericulture, School of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: *Coprinus comaus* was cultured on media with six different formulae, crude enzyme liquids were extracted at its five growth stages, and the activities of cellulose , laccase and amylase were analyzed. The results showed that the different culture media had effect on the activities of the three extracellular enzymes, but the change patterns of each enzyme in its activity were consistent on different culture media.

Key words: *Coprinus comaus*; culture medium; cellulose; laccase; amylase