

势有关<sup>[3]</sup>。

5. 三种平菇子实体的酯酶同工酶用聚丙烯酰胺薄层电聚焦电泳法分析,其结果(图版I-3)和垂直平板电泳法相同,该法可清楚观察到互补酶带 E21 和 E22,它们的等电点较高,偏碱性。还可看到三种平菇子实体的酯酶同工酶有较宽广的等电点。

### (三) 子实体发育阶段的酶谱

子实体的发育阶段可按菌盖大小分为: 菇芽期( $\phi \leq 0.5$  cm), 幼菇期( $\phi = 4.5$  cm), 成菇期( $\phi = 9.0$  cm), 从三个发育阶段的子实体酯酶同工酶酶谱(图版I-2)来看说明: 三种平菇子实体的酯酶同工酶酶谱基本相同, 但有一些酶带的活性变化较大, 杂交种和姬菇的酯酶活性随着子实体的成熟(从菇芽期、幼菇期到成菇期)逐步上升, 而佛罗里达侧耳的酯酶活性则略

有下降。酯酶同工酶在平菇的生理代谢中主要水解非生理性酯类, 具有分解代谢残留酯类和解毒的作用, 酯酶同工酶的变化也反映了平菇子实体各发育阶段的生理代谢变化。

### 参 考 文 献

1. 陈都珍等: 真菌学报, 6(1): 34—41, 1987。
2. 陈应山等: 食用菌, 1: 11, 1987。
3. 龚克强等: 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 科学出版社, 北京, P. 94—111, 1975。
4. Anthony TA: In Electrophoresis Theory: Oxford Univ. Press, P182, 1981。
5. 陈巧云等: 昆虫学报, 23(4): 350—358, 1980。
6. Baraliev P et al.: Gemes Sel, 15(1): 30—41, 1982。
7. 杨太兴等: 遗传, 3(6): 31—33, 1981。
8. Toyomasa T et al.: Agric Biol Chem, 50(1): 223—226, 1986。
9. 曾孟潜等: 遗传学报, 10(1): 43—50, 1983。

## 黑木耳栽培期两种培养基主要组分的降解和有关酶活的变化

牛福文 印桂玲 刘宝增

(河北省科学院微生物所, 保定)

**摘要** 用棉籽壳、玉米秸粉各加少量麦麸栽培黑木耳(*Auricularia auricula*), 在栽培的不同阶段分析测定基物的主要化学组成成分、有关酶活的变化和基物变化与子实体产量的主要关系。

供试的两组基物因主要有机组分和物理结构的差异, 使基物降解出现明显差别, 但在栽培的不同阶段, 其变化规律有相似特点。

纤维素酶活(C<sub>1</sub>酶、C<sub>x</sub>酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶)、半纤维素酶活与基物的降解速率、子实体产量的多少有关。试验还分析了基物中的过氧化物酶和多酚氧化酶的活性。

**关键词** 黑木耳; 降解; 纤维素酶; 半纤维素酶; 多酚氧化酶; 过氧化物酶

本实验采用棉籽壳和玉米秸粉各加部分辅料做基物栽培黑木耳, 栽培中定期分析基物的主要化学组分、有关酶活的变化, 以及对子实体产量的影响等, 为选择适宜高产栽培的基物提供一定依据。现将初试结果报告如下。

## 材 料 与 方 法

### (一) 菌种

黑木耳(*Auricularia auricula*)系我室选育的6号菌株。

### (二) 栽培

采用袋栽法。培养基(%): A组, 棉籽壳93、麦麸5、蔗糖1、石膏1, 料水比1:1.4; B组, 粗粉碎的玉米秸85、麦麸10、饼粉3、蔗糖1、石膏1, 料水比1:2。每袋装干料250g。菌丝生长期测生长速度, 待菌丝长满袋后, 均匀开5条长形出耳孔, 置18—23℃、控制空气相对湿度85—

中科院微生物所张树政教授对本试验给予了热忱帮助和指导, 特此致谢。

95%。耳片成熟后,用刀将耳片和原基整条切下。风干后计算袋产干耳量及产 1g 干耳需消耗干基物重。

### (三) 组分分析

在不同栽培阶段抽样分析,每批各 3 袋,按基物组混匀后取样。纤维素用酸碱洗涤法<sup>[1]</sup>;木质素用酸处理法<sup>[2]</sup>;半纤维素按稀酸水解法<sup>[3]</sup>;全碳、全氮及部分矿质金属元素均用常规法测定。

### (四) 酶活性测定

固培养基物加 5 倍水,室温下抽提 1 小时,过滤除残渣,清液用以测酶活。C<sub>1</sub> 酶用滤纸崩溃定糖法<sup>[4]</sup>;C<sub>2</sub> 酶用 CMC 法,半纤维素酶以玉米

芯半纤维素为底物用地衣酚法测定<sup>[5]</sup>;β-葡萄糖苷酶以纤维二糖为底物用 DNS 法测还原糖<sup>[6]</sup>;过氧化物酶和多酚氧化酶按文献[7]。测定仪器采用 Beckman DU-7 型紫外可见分光光度仪。

## 结果与讨论

### (一) 基物失重和主要有机组分的降解

每袋均装干料 250g,但因基物组分不同,基物 A 组料高 11cm, B 组 14cm。菌丝日生长速度均为 0.4cm,而菌丝长满全袋的日数则 A 组 32 天, B 组为 40 天。因此,基物降解出现明显差异(表 1)。

表 1 栽培期基物主要有机组分含量的变化

项目	基物组	接种前	菌长满袋	采一次耳	采二次耳
基物干重(g)	A	229.16	199.4	132.1	118.6
	B	228.00	184.0	108.5	102.6
基物失重(%)	A		12.98	42.2	47.7
	B		19.29	52.4	54.8
纤维素含量(g)	A	88.60	81.22	50.46	44.15
	B	65.80	52.59	24.26	21.05
纤维素减少(%)	A		8.32	43.04	50.16
	B		20.07	63.13	68.00
半纤维素含量(g)	A	43.93	37.00	18.09	14.92
	B	52.32	31.03	16.78	13.76
半纤维素减少(%)	A		15.69	58.80	66.03
	B		40.69	67.80	73.68
木质素含量(g)	A	60.75	46.64	32.02	31.99
	B	44.14	36.25	17.94	15.59
木质素减少(%)	A		23.22	47.26	47.33
	B		17.87	59.35	65.38

试验表明,基物失重和主要有机组分的降解呈阶段性变化,即子实体生长期比菌丝生长期降解速率快。由此可以说明合成子实体营养物质的来源与基物的降解有直接关系。但供试的两组基物在不同的栽培阶段其降解速率并不完全一致, A 组基物在菌丝长满袋后三种有机组分的降解是:木质素>半纤维素>纤维素。采一次耳后是:半纤维素>木质素和纤维素。采二次耳后是:半纤维素>纤维素和木质素。B 组基物在菌丝长满袋后则是半纤维素>木质

素和纤维素,采耳一次和二次后都是半纤维素>纤维素和木质素。这一结果与基物 A 组,以及与黄克服等报道的菌丝生长期消耗木质素多的试验结果略有不同<sup>[8]</sup>,出现这种差别与基物组分不同有关,可能是 B 组基物含木质素相对偏少,测定时已错过木质素降解高峰期。其详细原因有待进一步研究。

### (二) 酶活性变化

测定酶活有助于阐明基物组分降解的特点,也可为选择适于高产栽培的基物、合理的栽

培管理以及选育优良菌种提供一定依据。测试结果表明(表 2), 酶活性变化与前述三种有机组分的降解规律是一致的, 具有子实体生育期

酶活性高峰比菌丝长满袋期高的特点, 但栽培后期受其它因素的影响酶活出现波动, 表明菌体生长环境不适。

表 2 酶活性测定结果

基物组	栽培阶段	酶活					
		C <sub>1</sub> 酶	C <sub>2</sub> 酶	$\beta$ -葡萄糖苷酶	半纤维素酶	过氧化物酶	多酚氧化酶
A	菌丝长满袋	0.003	0.072	8.89	1.061	0.104	0.037
	采耳一次	0.141	0.320	13.85	1.458	*	0.029
	采耳二次	0.136	0.404	4.15	3.416	*	0.014
B	菌丝长满袋	0.035	0.115	14.58	0.245	0.051	0.021
	采耳一次	0.420	0.490	16.70	2.930	*	0.018
	采耳二次	0.307	0.351	3.09	2.906	*	0.004

\* 未测出

C<sub>1</sub> 酶、C<sub>2</sub> 酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶的酶活单位为: 1u = 1mg 葡萄糖/1 分钟 · 1g 干基物; 半纤维素酶活单位为 1u = 1mg 木糖/1 分钟 · 1g 干基物。过氧化物酶和多酚氧化酶, 以每毫升抽提液 1 分钟增加的 OD 值表示酶活。

1. 纤维素酶: 两组基物在栽培过程中都有纤维素酶, 即 C<sub>1</sub> 酶、C<sub>2</sub> 酶和  $\beta$ -葡萄糖苷酶。通常高等担子菌纤维素酶活以 C<sub>2</sub> 酶为主, C<sub>1</sub> 酶活性较低。而供试的 B 组基物 C<sub>1</sub> 酶和 C<sub>2</sub> 酶活都高, 说明这些诱导酶的活性在一定条件下受基物组分影响。 $\beta$ -葡萄糖苷酶在纤维素酶中活性最高, 对充分降解纤维素, 为菌体生育不断提供能源起到重要作用。

2. 半纤维素酶: 两组基物都存在较高的半纤维素酶。酶活的阶段性变化与纤维素酶活的变化趋势有所不同, 其酶活高峰一直持续到栽培后期, 致使栽培后期半纤维素的降解大于纤维素和木质素。本试验基物 A 组第一次采耳期酶活和子实体产量低于 B 组, 而第二次采耳期均高于 B 组(表 3), 说明保持和提高半纤维素酶活能提高生物效率。

3. 过氧化物酶和多酚氧化酶: 在栽培期两组基物都存有过氧化物酶和多酚氧化酶, 其中过氧化物酶仅在菌丝长满袋期检测出; 多酚氧化酶始终处于酶活较低水平。这两种酶是降解木质素的主酶, 通常在菌丝生长期酶活最高。黑木耳属木腐菌, 菌丝生长初期以利用木质素为主, 因本试验是在菌丝长满袋后测定的, 此时有可能已经随菌丝生长和木质素的逐步分解酶活

下降, 故所测得值偏低。但从(表 1)子实体生育期木质素降解速率比菌丝长满袋期高的情况看, 此时木质素的降解则不完全是这两种酶的作用, 因此需进一步研究木质素降解的机理。

### (三) 基物降解后的转化

栽培过程中, 基物经过多种酶的降解, 为菌体生长不断提供各种营养物质, 同时也改变了基物组分的结构和菌体在基料内的生境条件。栽培后期基物中的全碳有近 40% 残留在基料内, 转换到子实体的碳仅占 7.9—10.7%, 其余 34.1—48.7%。主要是菌体在生长过程中以呼吸形式消耗掉的, 其中包括部分碳源是以碳水化合物形式排到子实体外面, 随管理中浇水而淋失。大部氮素残留在基物内, 转换到子实体内的氮仅占 16.9—22.4%。

若用产 1 克干耳消耗多少克干基物衡量, 可显示出适于高产栽培的基物质量。基物 A 组每产 1 克干耳消耗基物 4.59g, 而 B 组为 6.66g, 后者比前者多耗基料 45%, 由此说明基物 A 组的质量优于 B 组。试验(表 3)还说明, 采二次产量低的原因, 除基物营养减少, pH 变化, 代谢物的积累等因素外, 可能与基料内的碳氮变化有一定关系。因为碳源的过量消耗和氮化合物的积累, 使基料内的 C:N 比值在栽培

表 3 栽培期基物碳氮变化及转化

项目	基物组	接种前	菌丝长满袋	采耳一次	采耳二次
全碳含量(%)	A	38.32	35.12	40.33	39.70
	B	40.90	40.63	40.38	38.87
全氮含量(%)	A	1.126	1.101	1.340	1.472
	B	0.904	1.072	1.422	1.450
基物 C:N	A	34.2:1	31.89:1	30.09:1	26.90:1
	B	45.2:1	37.90:1	28.40:1	26.80:1
袋产干耳(g)	A	(共产干耳 24.05)		16.1	7.95
	B	(共产干耳 18.83)		16.6	2.23
产 1g 干耳 耗基物(g)	A	(平均 4.59)		6.00	1.70
	B	(平均 6.66)		7.19	2.65

注: 1. 碳共耗损: A组 34.19%; B组 48.73%, 2. 转化子实体碳氮: A组碳 10.7%, 氮 22.48%; B组碳 7.92%, 氮 16.98%, 3. 100kg 干料产干耳 kg: A组 9.6; B组 7.52。

的不同阶段有了明显变化, 并表明适宜于实体生长的碳氮比为 31—37:1, 当碳氮比低于 28:1 之后产量明显减少。采二次耳后达到 26.9—26.8:1, 子实体生长受到抑制。鉴于菌丝生长适宜较低的碳氮比, 子实体生长需较高碳氮比的特点, 所以栽培时应选择比重较大, 且保水透气性好的基料, 并把碳氮比调至 40:1 左右, 以兼顾不同生育阶段对碳氮的需要。

此外, 两组基物所产子实体含磷、钾、钙、镁量, A组和 B组分别各占基物中总含量的 21.63—7.78%、17.06—9.98%、19.39—13.31%、19.91—7.63%, 这些元素的总含量与子实体产

量多少成正相关。

### 参 考 文 献

1. 刘铭山: 谷物及油料品质分析法, 农业出版社, 北京, 第80—83页, 1987。
2. Horwitz W(Ed): Official methods of Analysis of the AOAC wash, 138, 1975.
3. 北京农业大学畜牧系饲料教研组: 饲料分析, 农业出版社, 北京, 第40—42页, 1961。
4. 张树政主编: 酶制剂工业, 科学出版社, 北京, 第608页, 1984。
5. 中山大学生物系生化微生物学教研室: 生化技术导论, 人民教育出版社, 北京, 第61—64页, 1979。
6. 崔福绵等: 真菌学报, 3(1): 59—64, 1984。
7. 吴绵文摘译: 食用菌, 3: 34, 1984。
8. 黄克服等: 中国食用菌, 6: 59, 1988。

(上接封三)

- 于一民等: 抗牛生长激素单克隆抗体及其免疫亲和吸附柱的制备。生物工程学报, 5(2): 103, 1989。
- 赵景联: 固定化大肠杆菌细胞生产  $\gamma$ -氨基丁酸的研究。生物工程学报, 5(2): 124, 1989。
- 刘延清等: 编码霍乱弧菌脂多糖 O-抗原的基因克隆及其保护作用的研究。生物工程学报, 5(2): 164, 1989。
- 郑强等: 细胞融合技术的新进展。生物工程学报, 5(3): 185, 1989。
- 韩素文等: 重组痘苗病毒表达乙型肝炎核心抗原基因的研究。生物工程学报, 5(3): 201, 1989。
- 赵杨等: 草生欧文氏菌 CSH1065Fib 基因定位、克隆及酶切分析。生物工程学报, 5(3): 214, 1989。
- 吕幼仪等: DNA 顺序有序测定中特定亚克隆的简便检出。生物工程学报, 5(3): 232, 1989。
- 施源等: pH 和溶解氧浓度对重组酵母表达乙型肝炎

- 炎表面抗原的影响。生物工程学报, 5(4): 284, 1989。
- 贺敏霞等: 诺卡氏菌原生质体融合重组研究。生物工程学报, 5(4): 303, 1989。
- 施邑屏等: 微生物脂多糖的产生、分离及乳化性能。生物工程学报, 5(4): 309, 1989。
- 谭思元等: 牛凝乳酶原 cDNA 的序列及其缺失机制的分析。生物工程学报, 5(4): 328, 1989。
- 宋后燕等: 人组织型纤溶酶原激活剂 (tPA) 基因的分离与表达。生物工程学报, 5(4): 333, 1989。
- 樊代明等: 人鼠种间骨髓瘤细胞系 FMC-1 的建立及其在人单克隆抗体制备中的应用。中国免疫学杂志, 5(1): 10, 1989。
- 马爱红等: 抗 SRBC 杂交瘤细胞株的建立及其在细胞毒 T 细胞功能测定中的应用。中国免疫学杂志, 5(1): 17, 1989。
- 马志章等: 用  $^3\text{H}$ -TdR 掺入法检测小鼠 LAK 细胞活

(下转第 217 页)