研究报告

金针菇栽培基质组分的降解及相关酶活的变化

傅国平[1]　袁　生[2]　虞光华[2]

(南京经济学院食品科学与工程系　南京　210003)[1]

(南京师范大学生物系　南京 210024)[2]

摘　要　研究了金针菇三明 1 号、16 号、杂交 19 号在棉籽壳-麦麸基质上生长期间基质中主要化学组分及相关酶活的变化，以及低温刺激对子实体形成生长阶段胞外酶活性、菇的发生及菇外观的影响。结果表明：三明 1 号具有微弱的降解木质素的能力；基质组分降解速率的变化与胞外酶活性具有一定的对应关系；菇外观的优劣在一定程度上与菇蕾发生后菌的代谢活动能力的强弱有关；低温刺激增加了三明 1 号菇蕾发生后胞外酶活性、使之表现出良好的菇外观，而对杂交 19 号的菇外观无明显影响。

关键词　金针菇，化学组分，纤维素酶，半纤维毒酶，菇外观

分类号　Q935　**文献识别码**　A　**文章编号**　0253-2654(1999)-04-0237-05

THE DECOMPOSITION OF MAIN CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE MEDIA OF *FLAMMULINA VELUTIPES* AND THE CHANGE OF ENZYME ACTIVITIES RELETED TO THEM

Fu Guoping

(*The Department of Food Science and Engincering of Nanjing Economie Institute. Nanjing* 210003)

Yuan Sheng Yu Guanghua

(*The Biology Department of Nanjing Normals University, Nanjing* 210024)

Abstract　Strains of Sanming, 16 and the hybrid 19 of *Flammulina velutipes* were separately cultivated on the media which consisted of cotton seed hull mainly. The change of the contents of main chemical constituents and the activities of some enzymes ralated to the degradation of the substractes in the media were determined at different stages during the fungal growth. The influence of the stimulation of low temperature on the extracellular enzyme activities, the emergence of primodia and the appearances of fruiting body at the stage of fructification was also studied. Strain 1 of Sanming attacked lignin slightly. In some extent, there existed the positive correlation between the degradation rates of the constituents in the media and the extracellular enzyme activities. Generally, the appearances of fruiting body were related to the metabolic ability of *Flammulina velutipes* after the emergence of the primordia. The stimulation of low temperature increased the extracellular enzyme activities of the strain 1 of Sanming after the emergence of primordia and made the appearances of its fruiting body look better, but had no obvious influence on the appearances of the fruiting body of the hybrid strain 19.

Key words　*Flammulina velutipes*, Chemical Constituents, Cellulase, Hermi-cellulase, Appearances of fruiting body

1998-05-18收稿，1998-10-20修回

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn

迄今为止，有关金针菇栽培的生理生化学研究，几乎是一项空白，只有 Zadrazil [1] 曾经报道过金针菇不能分解利用本质素。作者在定量的基础上，重点研究了金针菇栽培过程中，基质主要组分的降解特点和相关酶活的变化以及低温刺激对子实体形成生长阶段培养基中酶活性、菇的发生和菇外观的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种：金针菇（*Flammulina velutipes*）三明 1 号、16 号、杂交 19 号。

1.1.2 培养基：种用培养基：马铃薯蔗糖培养基（PSA）。

栽培培养基：棉籽壳 5100g，麸皮 720g，蔗糖 60g，石膏 60g，加水至 4.35L。

1.2 方法

1.2.1 菌种的复壮：15 × 180mm 的试管制成 10mLPSA 斜面。接种（切取相似母种小块），23～24℃培养，选择优良菌种待用。

1.2.2 平皿菌种的制作：9cm 培养皿制成 20mLPSA 平板。切取相似的斜面菌种小块移入平板中央，23℃～24℃培养，选择长势基本一致的平板备用。

1.2.3 栽培管理：采用 30 × 230mm 的大试管栽培。每管 80g 湿料（相当于 35.2g 干料），尽量保持松紧度一致。直径 1cm 的打孔器取平皿菌种块移人大试管并处于圆心位置。20℃～22℃培养，播菌后，一部分栽培管直接在 14℃～16℃（自然温度）、相对湿度 85% 左右出菇（对照组）；其余栽培管先于 7℃～8℃低温培养一周，再置于对照组同样条件下出菇。

1.2.4 组分分析与酶活测定：在不同的栽培时期每菌株取三管培养物，搅碎混匀，105℃烘干至恒重后测定干物质中主要组分含量。

灰分测定：干灰化恒重法[2]。

纤维素、半纤维素、木质素的测定：按系统定量分析程序[3]。

粗酶液制备[4～5]：取样方法同组分分析。

羧甲基纤维素酶（CMC 酶）活及滤纸纤维素酶（FP 酶）活测定：参考 Mandels 等的定糖法[6]。CMC 酶活力单位为 1u = 1mg 葡萄糖 / 30min · g 干培养物[4～5]。FP 酶活力单位为 1u = 1mg 葡萄糖 / 60min · g 干培养物[4～5]。

β-葡萄糖苷酶活性测定：以水杨酸为底物[7]，产物还原糖依 DNS 法测定。日产纤维素酶“ONOZUKA”R－10 作对照，相对酶活力单位为 1u = 1mg 蛋白质 / g 干培养物。

半纤维素酶活力测定[2]：酶活力单位为 1u = 1μg 木糖 / min · g 干培养物。

2 结果与讨论

2.1 栽培基质主要组分的降解

表 1 括号外数据是对基质主要组分直接分析测定值，只能说明各栽培阶段基质化学组成的特点，而不能充分反映栽培基质的降解动态及实际降解程度等信息。为此，按照 Rajarathnam 等（1979）[8] 在分析扇形侧耳（*Pleurotus flabellatus*）于稻草培养基上生长期间基质主要组分的降解特点时所采取的办法，即对转移到子实体的灰分以及有机物不断被利用后可能增加的灰分忽略不计，将栽培基质的灰分作为恒量（6.89%）处理，所得的结果见表 1 括号内所列数据，并由此可知三菌株对纤维素和半纤维素的降解率和降解程度（列于表 2）。

由表 1 和表 2 可知，16 号在子实体形成生长阶段对纤维素和半纤维素的降解程度非常低，代谢活动微弱；就栽培基质组分最终利用率而言，三明 1 号对纤维素与半纤维素的总利用率比 16 号高。杂交 19 号则优先利用纤维素。

由表 1 还可看出，在恒定灰分的基础上，栽培期三明 1 号基质中木质素被降解掉 1.49%，相当于灭菌后培养基质中木质素含量的 8.37%，经单因素多组群的方差分析表明，各栽培阶段的测定结果具有显著性差异，说明三明 1 号有微弱的降解木质素的能力。Zadrazil[1] 报道“金针菇不能分解利用木质素”，本研究结果则表明菌株间具有细微的差异。

2.2 酶活变化、低温刺激对子实体时期胞外酶活及菇外观的影响

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

表1　金针菇不同生长阶段棉籽壳培养基主要组分变化 (%)

菌株	干物质主要组分	栽培阶段：菌丝生长 接种前	第22d		第50d		菇蕾生长 第63d		子实体成熟 第75d	
三明1号	灰　分	6.89	7.06		7.63		7.95		9.63	
	纤维素	30.42	29.52	(28.81)	24.12	(21.78)	23.98	(20.78)	23.53	(16.84)
	木质素	18.54	17.67	(17.24)	15.29	(13.81)	14.77	(12.80)	14.22	(10.17)
	半纤维素	17.80	18.12	(17.68)	19.55	(17.65)	19.64	(17.02)	22.80	(16.31)
16号*	灰　分	6.89	7.69		7.76		8.47		8.74	
	纤维素	30.42	30.37	(27.21)	23.69	(21.03)	23.21	(18.88)	22.77	(17.95)
	木质素	18.54	18.09	(16.21)	14.80	(13.14)	14.20	(11.55)	13.86	(10.93)
	半纤维素	17.80	19.14	(17.15)	19.96	(17.72)	20.20	(16.43)	22.63	(17.84)
杂交19号	灰　分	6.89	7.41		7.56		7.93		8.87	
	纤维素	30.42	29.65	(27.57)	24.15	(22.01)	23.78	(20.66)	18.95	(14.72)
	木质素	18.54	17.79	(16.54)	16.95	(15.45)	16.40	(14.25)	15.16	(11.78)
	半纤维素	17.80	18.34	(17.05)	19.05	(17.36)	19.76	(17.17)	22.78	(17.69)

注：括号中数值为以恒定灰分6.89%为基准的推算值(即各次灰份测定值均看作6.89%). *16号第69d长出菇蕾.

表2　金针菇对基质纤维素和半纤维素的降解率和降解程度

组分	菌株	降解率(%) (0～63) d (菌丝阶段)	降解率(%) (63～75) d (子实体阶段)	降解程度(%) (0～75) d
纤维素	三明1号	9.64	3.94	44.64
	16号	11.54	0.93	40.99
	杂交19号	9.76	5.94	51.61
半纤维素	三明1号	5.74	2.63	45.15
	16号	6.99	0.62	41.05
	杂交19号	4.29	2.47	36.46

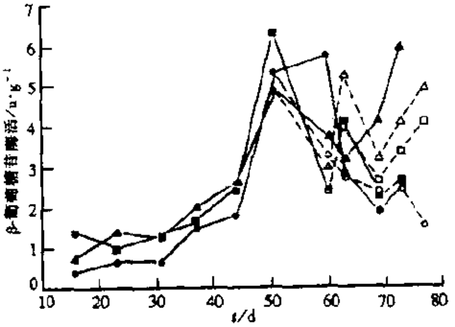

图1　β-葡萄糖苷酶活的变化趋势

■□：三明1号，●○：16号，▲△：杂交19号，
——：对照组，……：低温刺激组

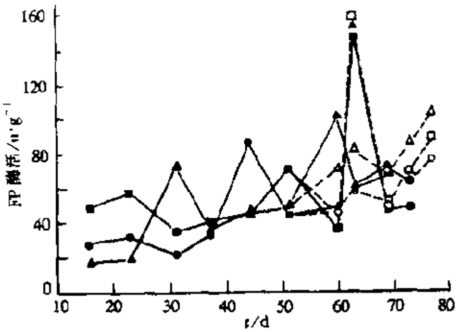

图2　FP酶活的变化趋势

■□：三明1号，●○：16号，▲△：杂交19号，
——：对照组，……：低温刺激组

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn

栽培期培养基质中酶活的变化趋势如图1～4。

由图可见，在菌丝生长后期及菇蕾长成期有酶活性峰出现(如β-葡萄糖苷酶)，或酶活性

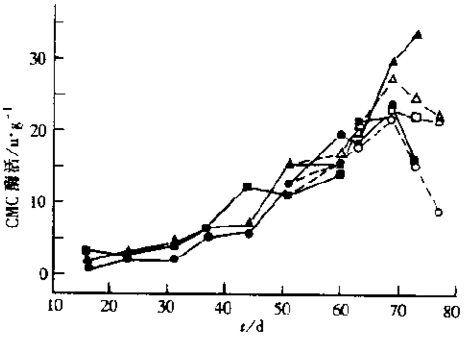

图3 CMC酶活的变化趋势

■□：三明1号，●○：16号，▲△：杂交19号，

——：对照组，……：低温刺激组

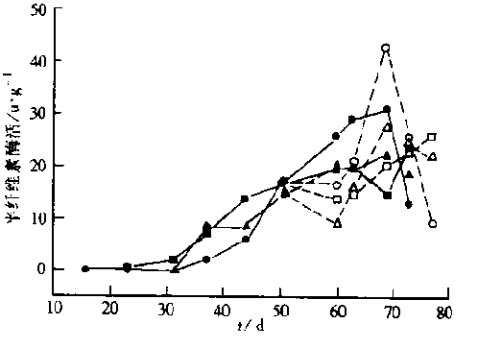

图4 半纤维素酶活的变化趋势

■□：三明1号，●○：16号，▲△：杂交19号，

——：对照组，……：低温刺激组

有明显上升(如CMC酶)，这对金针菇的发育结实是十分有利的。酶活变化与基质纤维素和半纤维素的降解速率的变化有一定的对应关系，在子实体形成生长阶段三明1号与杂交19号对纤维素和半纤维素的降解利用率仍较高，与此相对应，两组分酶活能在一段时间内持续地保持比较高的水平；16号的酶活在达到活性高峰后迅速降低，减弱了对基质组分的降解转化利用，因此在子实体形成生长时期代谢活动微弱，其子实体数量少、细弱，这也表明金针菇在整个生长过程中对纤维素物质利用率的变化与Kandaswamy等(1976)的报道具有截然不同的意义：虽然金针菇在菌丝生长时期对纤维素、半纤维素的降解率比子实体形成生长时期的降解率高，但是纤维素、半纤维素的降解产物主要是用于菌丝的生长，而没有足够的积累供子实体形成生长利用。

播菌后，对照组及低温刺激组的出菇情况见表3。

结果表明：菇外观的优劣不仅取决于菌丝生长时期对栽培基质组分的利用程度，还取决于子实体形成生长阶段代谢活动的旺盛与否。

表3 金针菇三明1号、16号、杂交19号的出菇情况

菌 种	菇 蕾 形 成	菇 外 观
三明1号	a：第63d，菇蕾健壮	第69d子实体长大。数量较少，菇柄粗短，菇盖大。
	b：第69d，菇蕾健壮	第77d子实体长大。数量多，菇柄长，菇盖仍较大。
杂交19号	a：第63d，菇蕾健壮	第69d子实体长大。数量多，菇柄长，菇盖小。
	b：第69d，菇蕾健壮	第77d子实体长大。数量多，菇柄长，菇盖小。
16号	a：第69d，菇蕾丛数少，细弱	第73d子实体长大。数量少，细弱。
	b：第73d，菇蕾丛数少，细弱	相同栽培管理条件下，因自然气温升高，难以形成子实体。

a：对照组的出菇情况，b：低温刺激组的出菇情况

就三菌株在菌丝生长阶段对纤维素和半纤维素的降解率而言，都已经具有了形成优质菇的基础，但是16号的子实体数量少、细弱；杂交19号的CMC酶活与β-葡萄糖苷酶活在菇蕾长成后持续上升至子实体采收时仍保持很高的水平，而三明1号在菇蕾长成后一段时间内CMC酶活性略有上升，至采菇时便开始下降，因而在子实体形成生长阶段杂交19号较三明1号利用更多的纤维素，菇的外观也表现出明显差异。

低温刺激导致培养基表面的菌丝愈合缓慢、菇蕾形成晚，但是低温刺激了三明1号在菇蕾长成后纤维素酶活性和半纤维素酶活性的大

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

幅度升高，从而能降解更多的纤维素物质供子实体形成生长利用，使之表现出良好的菇外观，这就进一步证实了菇外观的优劣在一定程度上取决于子实体形成生长阶段代谢能力的强弱状况。

参 考 文 献

[1] Zadrazil F, Pflanzenerm Z. Eur. J. Appl Microbiol Biotechnol, 1980, 9:37～44.
[2] 中山大学生物系生化微生物教研室编. 生化技术导论. 北京：人民教育出版社. 1978. 10:63～64
[3] 王玉万，徐文玉. 微生物学通报，1987，**14**(2):81～84.
[4] 王玉万，王云. 微生物学通报，1991，**18**(1):9～11.
[5] 黄克服，刘月英，郑忠辉等. 中国食用菌. 1988，**6**:5～9.
[6] Mandels M, Andreotti R, Roche C. Biotechnol. Bioeng. Symp., 1976, **6**:21～33.
[7] 汪大受，张静娟，那安等. 生物化学与生物物理学报，1980，**12**(3)：293～299.
[8] Rajarathnam S. Wankhede DB, Patwardhan MV. Eur. J. Appl Microbiol Biotechnol, 1979, **8**:125～134.
[9] Kandaswamy TK, Ramaswamy K. Proceedings of the 1st symposium on survey and Cultivation of edibe mushrooms in India, 1976, **II**:81～85.

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn