

熊雪,李鹏,王莹,等.不同栽培辅料诱导对3个香菇菌株液体发酵产漆酶活力的影响[J].江苏农业科学,2021,49(19):172-179.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.19.031

不同栽培辅料诱导对3个香菇菌株 液体发酵产漆酶活力的影响

熊雪¹,李鹏¹,王莹¹,向准¹,和耀威¹,万诚¹,王成考²

(1.贵州省生物研究所,贵州贵阳 550009; 2.贵州师范学院,贵州贵阳 550018)

摘要:以南方香菇产业主栽品种香菇 808、庆科 R20 以及贵州省特有香菇马桑香菇为研究对象,通过拮抗反应、系统发育树及温度试验,对香菇菌株进行了区别性鉴定,并利用碱性木质素(纯品)及 4 种食用菌栽培中常用的栽培辅料为诱导物,研究 3 种不同香菇菌株液体发酵产漆酶活力连续 12 d 的变化规律。研究结果表明,马桑香菇、香菇 808、庆科 R20 虽均同为有机香菇的下属分支,但菌株间是有区别的,马桑香菇同香菇 808 和庆科 R20 间的亲缘性也较远,且两两间均有拮抗反应,3 种菌株菌丝生长对适宜温度的选择也有较小差异,存在一定种源差异。此外,香菇液体产漆酶活力受菌株遗传差异和 5 种不同诱导培养基的影响差异均为极显著($P < 0.001$),但各处理漆酶整体变化规律均呈现先升后降的趋势。对香菇 808 产漆酶诱导力最强的是玉米芯,其次为麦麸,最高漆酶活力分别为 464.06、205.44 U/L;对庆科 R20 产漆酶诱导力最强的是麦麸,其次为玉米芯,最高漆酶活力分别为 265.07、237.15 U/L;对马桑香菇产漆酶诱导力最强的是米糠,其次为麦麸,最高漆酶活力分别为 178.34、161.83 U/L。从诱导漆酶活力强度出发,香菇 808、庆科 R20 和马桑香菇培养的最佳辅料分别为玉米芯、麦麸和米糠。

关键词:栽培辅料;香菇;液体发酵;漆酶活力

中图分类号:S646.1+20.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)19-0172-08

木质纤维素作为自然界中储量巨大的潜在绿色资源,广泛存在于各种农林废弃物中,在自然界中主要靠微生物进行降解,主要包含纤维素、半纤维素、木质素和少量果胶^[1]。其中木质素是一种以 1 个或多个苯酚丙烷为单位组成的复杂聚合物,这类物质在自然界中主要被真菌代谢产生的胞外酶——多酚氧化酶降解^[2-3]。这类酶主要包括漆酶(Laccase)、多酚氧化酶(Polyphenolase)、过氧化物酶(Peroxidase)3 类^[4]。其中,漆酶是分解木质素最具代表性的酶类^[5],也是目前被广大学者研究最多的酶类。漆酶是一种含铜的多酚氧化酶,主要存在

于植物和真菌中,其中植物漆酶主要参与形成木质素,而真菌漆酶的作用则是降解木质素^[6]。早在 1988 年,Bollag 等就曾指出,漆酶分解木质素的同时会产生一些有毒物质,主要是酚类或醌类化合物,这些物质可抑制杂菌的生长,是很好的杀菌剂^[7]。严培兰等在对黑木耳(*Auricularia auricula*)的研究中也指出,漆酶活性高的黑木耳菌株,栽培产量也较高,其抗霉能力也高^[8]。任鹏飞等提出,菌丝的生物降解能力会受酶活大小的影响,通常来说产漆酶能力强的菌株其菌丝生长速度较快^[9-10]。唐菊等研究表明,漆酶在食用菌生长发育过程中除了参与培养料中木质素的降解,对原基分化、子实体的形态建成和发育还具有调控作用^[11]。众多研究表明,漆酶在食用菌生产中是一种可以间接反映食用菌菌丝活力、产量和品质,直接反映木质素降解情况的酶类。

食用菌产业的大力发展作为脱贫攻坚胜利的助力之一,也继续成为乡村振兴的重要抓手,其栽培规模广、用料大,给生态环境带来了一定压力。近年来,在贵州食用菌的栽培规模不断加大,品种主要是以香菇(*Lentinula edodes*)、木耳等木腐菌,在产量与产值喜人的同时不可避免地增大了木材用

收稿日期:2021-07-12

基金项目:贵州科学院青年基金(编号:黔科院J字[2021]18号);贵州省科技计划(编号:黔科合重大专项字[2019]3004-4号、黔科合支撑[2019]2451-8-11号、黔科合重大专项字ZWCQ[2019]号3013-3、黔科合支撑[2019]2332号、黔科合支撑[2021]一般196);贵州省食用菌产业体系项目野生菌保护抚育与驯化功能实验室建设专项。

作者简介:熊雪(1992—),女,贵州贵阳人,硕士,研究实习员,主要从事菌物生态及食用菌栽培相关研究。E-mail:604051569@qq.com。

通信作者:向准,硕士,副研究员,主要从事食用菌品种选育与栽培研究。E-mail:Xiangzhun@163.com。

量的压力,其菌棒主要原料为木屑、棉籽壳、玉米芯、麦麸、秸秆、米糠等农林废弃物是常见的栽培辅料。本试验以南方香菇产业主栽品种香菇 808、庆科 R20 以及贵州省特有香菇马桑香菇为研究对象,研究香菇菌株间的区别性差异,并利用碱性木质素(纯品)及棉籽壳、玉米芯、麦麸和米糠 4 种辅料为诱导物,探索 3 种香菇菌株在不同诱导培养基中液体发酵产漆酶活力变化,旨在为贵州省本土香菇生产中辅料的添加提供一定科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

马桑香菇、香菇 808 及庆科 R20 菌株由贵州省食用菌工程技术研究中心提供,保存于贵州省生物研究所。

1.2 培养基

1.2.1 PDA 培养基 马铃薯(去皮)200 g,葡萄糖 20 g,琼脂粉 20 g,去离子水 1 000 mL,pH 值自然,121 ℃ 灭菌 30 min。

1.2.2 PDA 综合培养基 马铃薯(去皮)200 g,葡萄糖 20 g,磷酸二氢钾 3 g,硫酸镁 1.5 g,维生素 B₁ 10 mg,琼脂粉 20 g,去离子水 1 000 mL,pH 值自然,121 ℃ 灭菌 30 min。

1.2.3 种子液培养基 马铃薯(去皮)200 g,葡萄糖 20 g、酵母膏 10 g,定容至 1 L,121 ℃ 灭菌 30 min。

1.2.4 基础培养基(basic medium, BM) 葡萄糖 10 g、蛋白胨 2 g、七水硫酸镁 0.5 g、三水磷酸氢二钾 1 g、磷酸二氢钾 0.46 g,定容至 1 L,121 ℃ 灭菌 30 min。

1.2.5 诱导培养基 在“1.2.4”节中基础培养基配方基础上分别加入 3 g 孔径粒度为 20~60 目的碱性木质素(CK, BM + MZS)、棉籽壳(BM + MZK)、玉米芯(BM + YMX)、麦麸(BM + MF)、米糠(BM + MK),定容至 1 L,121 ℃ 灭菌 30 min。

1.3 香菇菌株间的区别性鉴定

2021 年 3 月,于贵州省生物研究所微生物实验室,将保存的马桑香菇、香菇 808、庆科 R20 分别接种于 PDA 综合培养基平板上,25 ℃ 恒温活化培养 8 d。

1.3.1 拮抗试验 接种组合为 2 组。第 1 组:同种供检菌种,于同一 PDA 平板上各接种 1 个接种块;第 2 组:供检菌株两两接种于同一 PDA 平板上。25 ℃ 对峙培养。

1.3.2 建立香菇系统发育树 采用购买的生工生物工程(上海)股份有限公司 Ezup 柱式真菌基因组 DNA 抽提试剂盒提取分离纯化 3 种香菇菌株基因组 DNA,提取之后的 DNA 选用真菌通用引物(ITS1:TCCGTAGGTGAACCTGCGG;ITS4:TCCTCCGCTTATTGATATGC)进行 PCR 扩增。采用 25 μL 的 PCR 反应体系:Template(基因组 20~50 ng/μL) 0.5 μL;10×Buffer(和 Mg²⁺) ;dNTP(各 2.5 mmol/L) 1 μL;Taq 0.2 μL;前向引物(10 μmol/L)0.5 μL;后向引物(10 μmol/L)0.5 μL;加双蒸水至 25 μL。反应程序为 94 ℃ 预变性 4 min;94 ℃ 变性 45 个循环,55 ℃ 退火 45 个循环,72 ℃ 延伸 1 min,30 个循环;72 ℃ 延伸 8 min,4 ℃ 终止反应保存。扩增得到的 PCR 产物经 1.0% 琼脂糖电泳检测扩增结果后,送生工生物工程(上海)股份有限公司测序,测序后登录 GenBank 对比,通过 BLAST 对测序结果进行比对分析,下载最相近菌株的 ITS rDNA 序列,并构建系统发育树。

1.3.3 不同温度生长速度测定 取 3 种香菇备用活化平板,使用打孔器打取直径 5 mm 接种物,接种于 PDA 平板上,分别置于 10、15、20、25、30 ℃ 下培养,观察菌丝生长情况。菌丝生长速度测定采用“十”字交叉法,从菌丝萌发开始,每 2 h 测量 1 次,同时记录菌丝萌发时间,菌丝日均生长速度以吃料后菌落平均每日直径增长量统计。菌丝铺满平板时,观察记录菌落的菌丝形态、色泽、菌落形状、菌丝长势和边缘特征等,用“+”“-”表示菌丝的长势,“+”越多表示菌丝生长得越好、越健壮、均匀,“-”表示菌丝不生长。

1.4 漆酶活力测定

1.4.1 发酵培养 使用打孔器打取直径 5 mm 接种物,每 100 mL 完全培养基中无菌条件下放入 5 个接种物,25 ℃、150 r/min 摇床避光培养。8 d 后取匀浆机将三角瓶内的菌丝球搅拌 30 s 使其成均质体。分别向 100 mL 含不同基质培养料的诱导培养基(BM + MZS、BM + MZK、BM + YMX、BM + MF、BM + MK)中加入 3 mL 搅拌均匀的香菇均质体,于 25 ℃、150 r/min 摇床避光培养,每个处理 4 个重复。

1.4.2 漆酶活力的测定 参照韩美玲等的研究^[12]测定漆酶活力。从培养后 2 d 开始测定其漆酶活力,连续测至培养 12 d。

1.5 数据处理

利用 EXCLE 进行图表整理,SPSS Statistic 18.0

对菌丝日均生长速度、漆酶活力数据分别进行显著性分析和双因素方差检验(two - way ANOVA)。

2 结果与分析

2.1 香菇菌株间的区别性鉴定

2.1.1 拮抗试验 从图 1 可以看出,马桑香菇、香

菇 808、庆科 R20 菌株自身均无拮抗反应,但马桑香菇同香菇 808 之间有轻微的隆起,庆科 R20 之间有明显的拮抗带,而香菇 808 同庆科 R20 间也有明显的拮抗带。综上说明,3 种香菇菌株彼此间皆有拮抗反应,说明 3 种香菇菌株种源存在一定差异性。

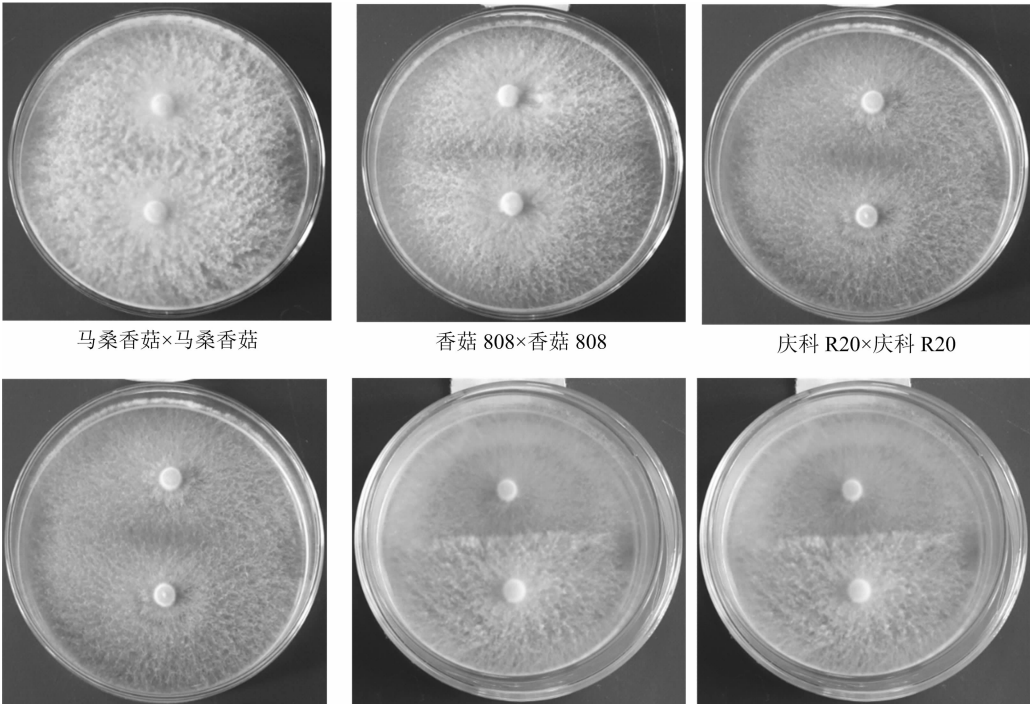


图1 3 种香菇拮抗反应

2.1.2 建立香菇系统发育树 3 种香菇菌株的 DNA 提取结果见图 2,香菇菌株 DNA 条带清晰, DNA 的浓度、纯度以及产率均比较高,可用于 PCR 扩增。

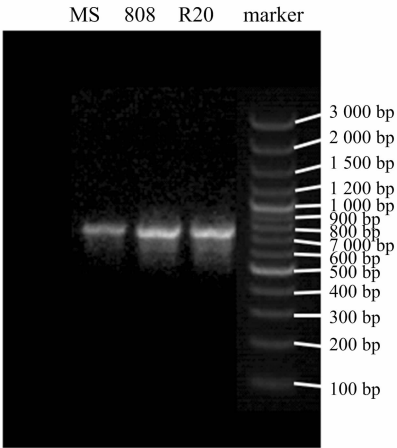


图2 3 种香菇菌株 rDNA ITS 区段的 PCR 产物

经 PCR 扩增和序列测定,结果显示 3 种香菇菌株 rDNA ITS 区段长度在 700 ~ 800 bp 之间,且所得

序列经 Blast 搜索,击中结果均为 *Lentinula edodes*, 下载其相近序列 15 条,并结合香菇属其他种 rDNA 序列: *Lentinula aciculospora*、*Lentinula boryana*、*Lentinula lateritia*、*Lentinula madagasikarensis*、*Lentinula novaezelandiae*、*Lentinula raphanica*、*Lentinula reticeps*(每种随机挑选 3 条),共同构建系统发育树(图 3)。系统发育树表明,同 3 种供试菌株 rDNA 序列亲缘性较高的香菇属种有 *Lentanus edodes*、*Lentinula lateritia*、*Lentinula novaezelandiae*,且 3 种菌株集中于 *Lentanus edodes* 同一分支上,菌株间庆科 R20 和香菇 808 分支较近,相似系数较高,亲缘性较近,同马桑香菇的分支较远,相似系数低,亲缘性较远。说明 3 种香菇菌株虽同为香菇属下有机香菇,但仍存在一定差异。

2.1.3 不同温度条件对 3 种香菇生长的影响 从表 1 可以看出,在所选供试温度条件下,马桑香菇菌落为绒毛状白色圆形菌落,日均生长速度随温度的升高呈现先增后降的趋势,并于温度 25 ℃ 条件下达

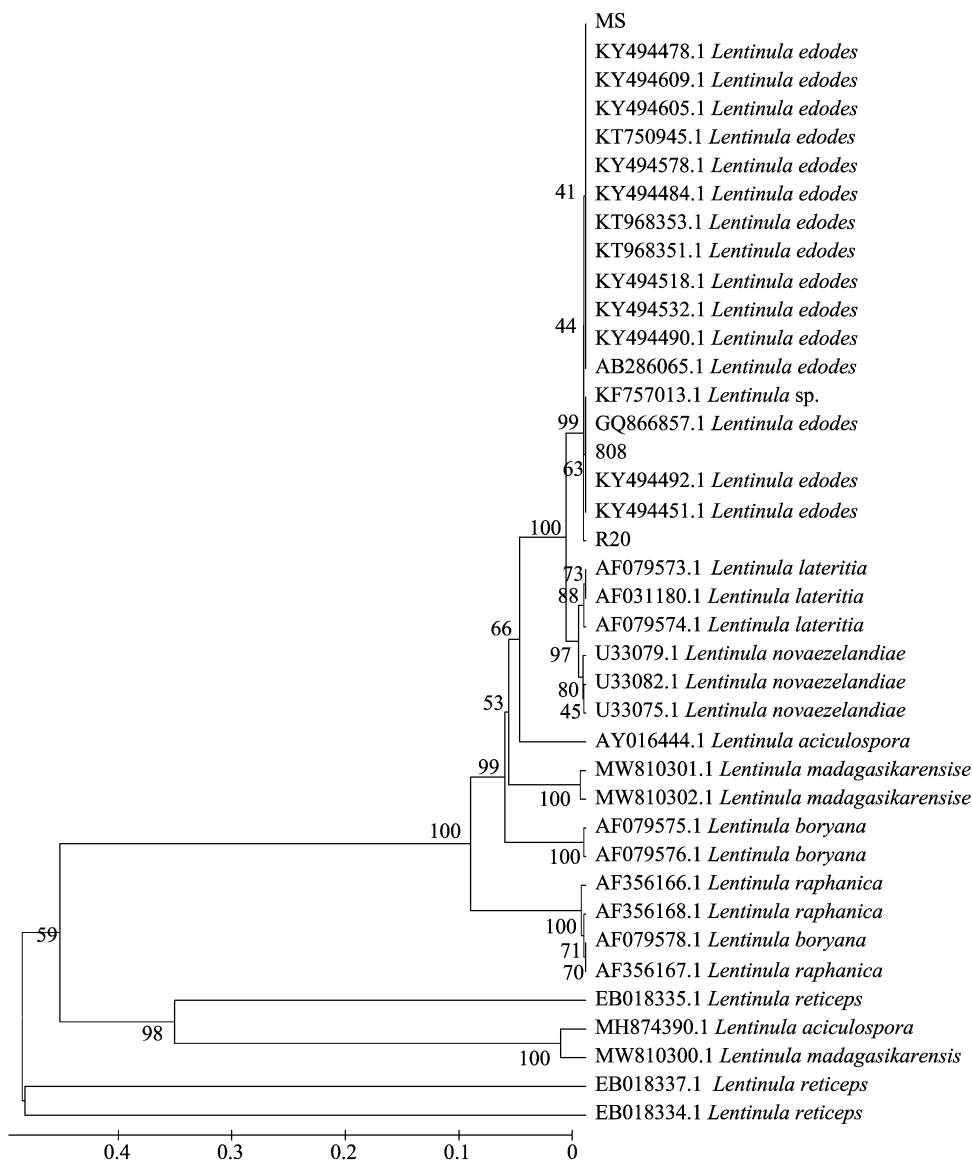


图3 基于 ITS 序列构建的香菇系统发育树

到峰值 0.89 cm/d, 且显著高于其他温度处理 ($P < 0.05$), 其次依次为 20 °C (0.49 cm/d)、30 °C (0.40 cm/d), 且在 20 ~ 30 °C, 菌丝长势最佳, 其次为 15 °C。说明马桑香菇菌丝生长适宜温度范围为 15 ~ 30 °C, 最佳生长温度为 25 °C。

在供试温度范围内, 香菇 808 菌丝呈绒毛状白色圆形菌落, 其日均生长速度随温度升高先增加后减少, 并于 25 °C 达到最大值 0.85 cm/d。日均生长速度整体呈现出 25 °C > 20 °C (0.44 cm/d) > 30 °C (0.31 cm/d) > 15 °C (0.28 cm/d) 的趋势, 且在 25、30 °C 条件下菌丝长势最佳。说明香菇 808 菌丝的适宜生长温度为 20 ~ 30 °C, 最佳温度为 25 °C。

庆科 R20 在所设温度范围内, 日均生长速度也随温度升高先增加后减少, 峰值出现在 25 °C 条件

下, 达 0.89 cm/d, 且长势最佳。日均生长速度其次依次为 20 °C (0.50 cm/d)、15 °C (0.29 cm/d), 长势也仅次于 25 °C。说明庆科 R20 的适宜生长温度范围为 15 ~ 25 °C, 最佳温度为 25 °C。

综上可知, 3 种香菇菌株在所设温度范围下菌落形态受温度影响较小, 菌丝生长随温度变化趋势大致相同, 且菌丝生长速度在高温和低温下受胁迫明显, 最适温度均为 25 °C, 但 3 种菌株对中高温和中低温有不同的倾向性选择。

2.2 不同菌株对漆酶活力的影响

双因素方差检验结果显示, 香菇不同菌株在不同培养基中的产漆酶能力各不相同, 且在整个培养过程中, 除培养 3 d 外, 菌株和培养基交互影响为显著 ($P < 0.01$) 外, 香菇液体产漆酶活力受菌株遗传

表 1 不同温度条件对 3 种香菇生长的影响

菌种	温度 (℃)	日均生长速度 (cm/d)	菌落长势	菌落描述
马桑香菇	10	0.11 + 0.009e	++	绒毛状白色圆形菌落,边缘整齐
	15	0.34 + 0.06d	+++	绒毛状白色圆形菌落,边缘整齐
	20	0.49 + 0.003b	++++	绒毛状白色圆形菌落,边缘整齐
	25	0.89 + 0.003a	++++	绒毛状白色圆形菌落,边缘整齐
	30	0.40 + 0.007c	++++	绒毛状白色圆形菌落,边缘整齐
香菇 808	10	0.15 + 0.003d	++	绒毛状白色圆形菌落,边缘整齐
	15	0.28 + 0.013c	++	绒毛状白色圆形菌落,边缘整齐
	20	0.44 + 0.012b	+++	绒毛状白色圆形菌落,边缘整齐
	25	0.85 + 0.007a	++++	绒毛状白色圆形菌落,边缘整齐
	30	0.31 + 0.024c	++++	绒毛状白色圆形菌落,边缘整齐
庆科 R20	10	0.10 + 0.010e	++	绒毛状白色圆形菌落,边缘整齐
	15	0.29 + 0.006c	+++	绒毛状白色圆形菌落,边缘整齐
	20	0.50 + 0.002b	+++	绒毛状白色圆形菌落,边缘整齐
	25	0.89 + 0.003a	++++	绒毛状白色圆形菌落,边缘整齐
	30	0.25 + 0.007d	++	绒毛状白色圆形菌落,边缘较整齐

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。萌发时间为 48 h。

差异和 5 种不同诱导培养基的影响均为极显著($P < 0.001$)。

从表 2、图 4 可知,连续 12 d 测试中,同一诱导培养基上 3 种香菇菌株液体产漆酶活力差距明显,且菌株对漆酶活力皆具有极显著的影响($P < 0.001$)。

表 2 5 种诱导培养基对不同香菇漆酶活性的影响(双因素方差检验)

培养时间 (d)	漆酶活性		
	菌株	培养基	菌株 × 培养基
1			
2	88.880 ***	63.635 ***	10.608 ***
3	23.219 ***	25.373 ***	3.656 **
4	31.223 ***	19.360 ***	23.444 ***
5	39.104 ***	23.837 ***	32.933 ***
6	42.554 ***	28.979 ***	41.885 ***
7	154.499 ***	81.798 ***	71.614 ***
8	287.272 ***	245.298 ***	145.123 ***
9	215.792 ***	172.771 ***	107.477 ***
10	186.489 ***	339.929 ***	135.708 ***
11	146.258 ***	338.355 ***	68.930 ***
12	40.733 ***	108.053 ***	22.840 ***

注:df:2,4,8; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

整个培养过程中,在仅含碱性木质素的诱导培养基(BM + MZS)中马桑香菇菌株较其他 2 种菌株表现出更高的漆酶活力,且最大漆酶活力为

62.77 U/L 出现在培养 9 d,香菇 808 最大漆酶活力为 44.86 U/L 出现在培养 8 d,庆科 R20 在培养 6 d 方检测出较弱的漆酶活性,在培养 11 d 后漆酶活力较大,达 30.97 U/L。在含棉籽壳(BM + MZK)、玉米芯(BM + YMX)的诱导培养基中,菌株香菇 808 分泌漆酶的能力明显高于其他菌株,最大漆酶活力均出现在培养 9 d,分别为 129.85、464.06 U/L;菌株马桑香菇和庆科 R20 最大漆酶活力值均在培养 11 d,且马桑香菇分泌漆酶的能力最低,在 BM + MZK 培养基中仅为 23.82 U/L,在 BM + YMX 培养基中为 117.81 U/L。在含麦麸的诱导培养基(BM + MF)中,菌株庆科 R20 具有较高的分泌漆酶的能力,并在培养 10 d 后达到最高,为 265.07 U/L;菌株马桑香菇漆酶活力在培养 8 d 最先达到顶峰,但值较低,为 161.83 U/L,且在达到极值后迅速下降;菌株香菇 808 在培养 9 d 出现极值,达 205.44 U/L。在含米糠的诱导培养基(BM + MK)中,庆科 R20 的产漆酶能力最低,且培养前期较不稳定,在培养 11 d 出现极值,为 45.07 U/L;而香菇 808 在培养培养 6 d 后漆酶活力急速上升,在培养 8 d 达到峰值为 124.64 U/L 后缓慢下降;马桑香菇在培养到 7 d 后漆酶活力上升较快,并在培养 11 d 出现峰值为 178.34 U/L,随后快速降低。

综上所述,在培养初期所有处理下,3 种香菇菌株产漆酶活力均较低,在培养中后期漆酶活力

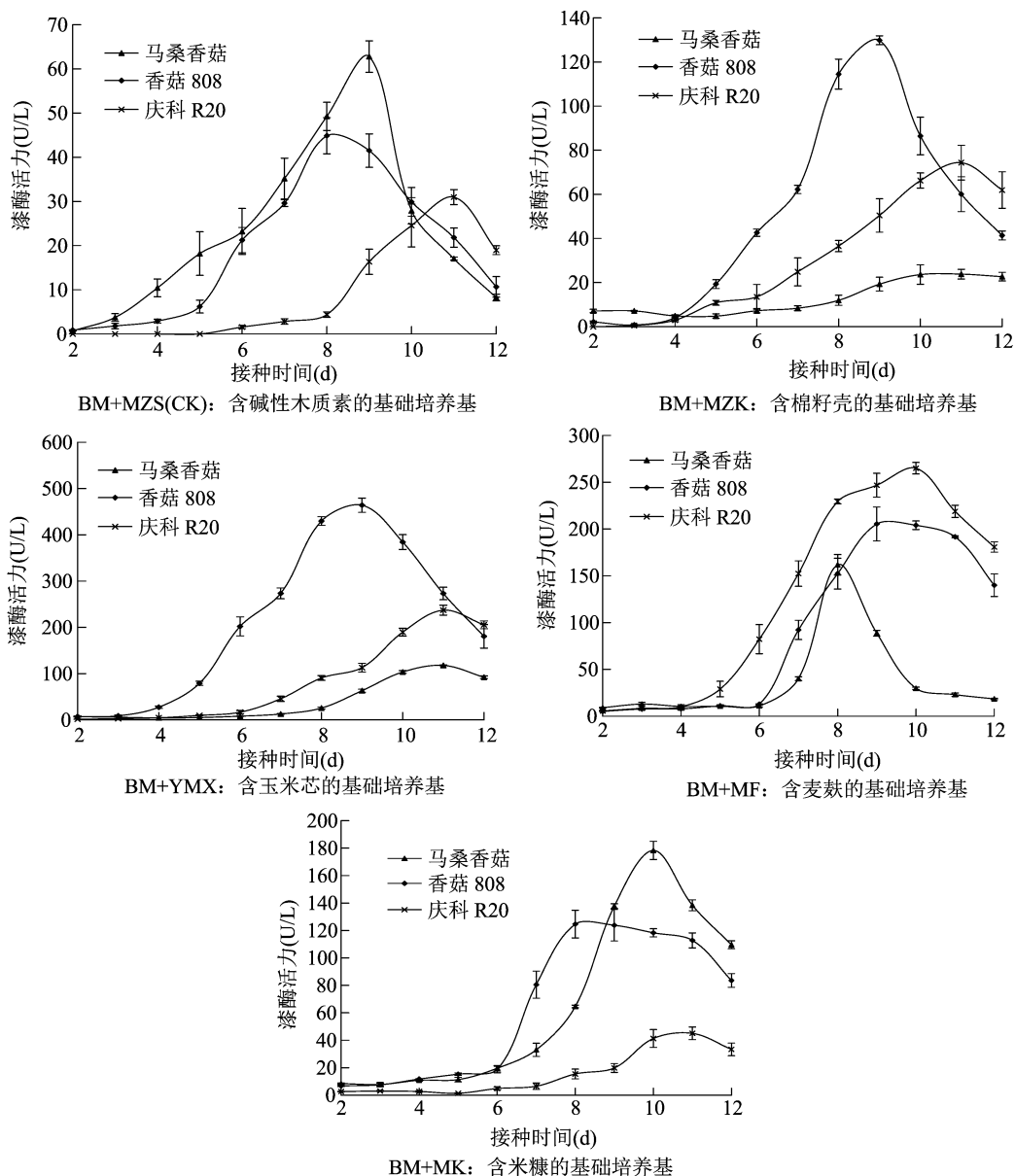


图4 3种香菇菌株液体产漆酶活力在不同诱导培养基上的响应

较为旺盛,峰值也主要集中在培养8~11 d内。故以培养期所有处理漆酶活力均较为旺盛的培养9 d数据为依据可知,在含碱性木质素(BM+MZS)、米糠(BM+MK)的诱导培养基中,马桑香菇产漆酶活力高于其他菌株,分别为62.77、178.34 U/L;在含棉籽壳(BM+MZK)、玉米芯(BM+YMX)的诱导培养基中,香菇808产漆酶活力高于其他菌株,分别为129.85、464.06 U/L;而在含麦麸(BM+MF)的诱导培养基中,庆科R20分泌漆酶的能力最强,达205.44 U/L。

2.3 不同诱导培养基对漆酶活力的影响

由表2、图5可知,连续12 d测试中,3种香菇菌株液体产漆酶活力在不同培养基上均有不同表

现,且5种诱导培养基对漆酶活力均具有极显著的影响($P < 0.001$)。

菌株马桑香菇、香菇808和庆科R20在5种不同诱导培养基发酵产漆酶活力均随培养时间呈现先增后降的趋势,达到峰值的时间有所差异,但主要集中在培养8~11 d。马桑香菇在5种不同诱导培养基上连续培养9 d时,在含米糠的诱导培养基(BM+MK)中分泌漆酶的能力最强,漆酶活力达137.76 U/L;其次为BM+MF培养基和BM+YMX培养基,分别达到88.67、63.13 U/L;而在含棉籽壳的诱导培养基(BM+MZK)中酶活仅为19.27 U/L。香菇808在连续培养9 d时,在含玉米芯的诱导培养基(BM+YMX)上分泌漆酶的能力明显强于其他培

培养基,且出现峰值,酶活达 464.06 U/L,同时在该天出现酶活峰值的还有 BM + MZK、BM + MF 培养基,酶活分别为 129.85、209.44 U/L;而在仅含碱性木质素的培养基(BM + MZS)中,香菇 808 产漆酶的能力最低,仅为 28.16 U/L,且该种培养基下,整个培养期日平均酶活力最高不超过 34.86 U/L。因此,玉米芯对香菇 808 分泌漆酶的诱导能力明显强于麦麸、米糠、棉籽壳和碱性木质素。而对于庆科 R20 在培养初期(培养 2 d),含麦麸的诱导培养基(BM + MF)中检测到的漆酶活力最强,达 5.58 U/L;含棉籽壳的

诱导培养基(BM + MZK)在培养 3 d 才检测到微弱的漆酶活力,仅为 0.51 U/L;酶活力最弱的是仅含碱性木质素的诱导培养基(BM + MZS),一直到培养 6 d 方才检测出较低的漆酶活力,仅为 1.56 U/L;而在培养 9 d 时,BM + MF 诱导培养基依旧保持最高的漆酶活力,达 246.88 U/L,其次为 BM + YMX 诱导培养基,5 种不同诱导培养基的漆酶活力趋势大致表现为 BM + MF > BM + YMX > BM + MZK > BM + MK > BM + MZS;因此,庆科 R20 在含麦麸的诱导培养基中分泌漆酶的能力是最强的。

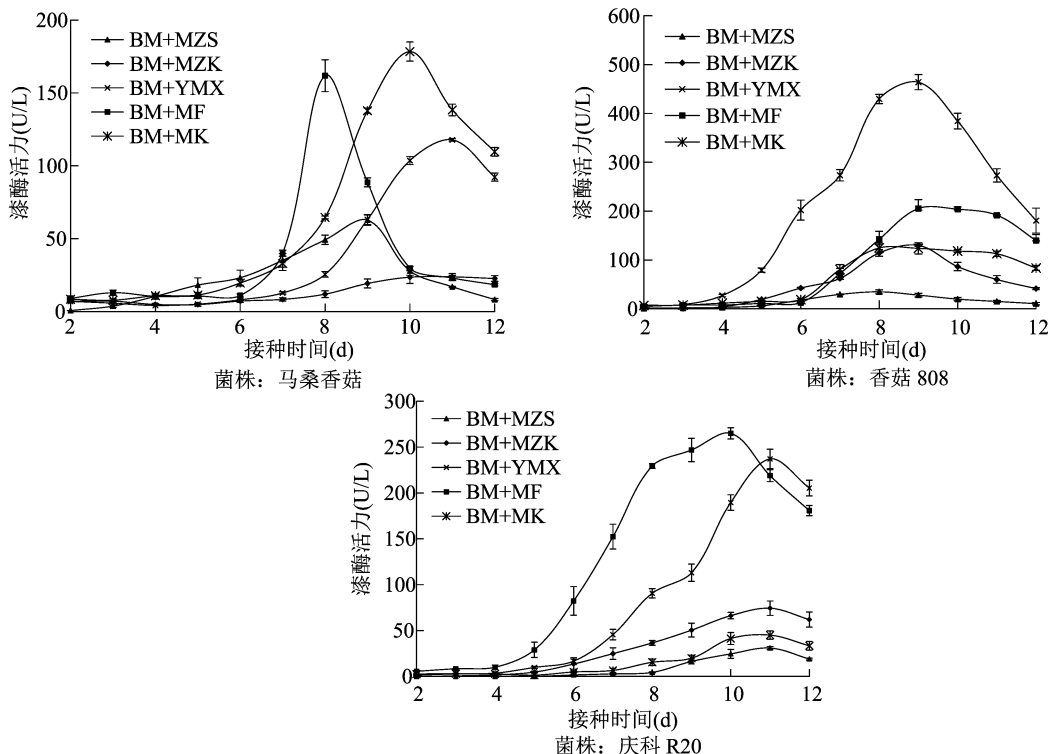


图5 不同诱导培养基对香菇液体发酵产漆酶活力的影响

3 讨论与结论

漆酶作为主要的木质素降解酶,参与香菇生长发育的每一个阶段^[13-14]。本试验以南方香菇产业主栽品种香菇 808、庆科 R20 以及贵州省特有香菇马桑香菇为研究对象,研究香菇菌株间的区别性差异,并利用碱性木质素(纯品)及 4 种食用菌栽培中常用的基质培养料为诱导物,研究 3 种不同香菇菌株液体发酵产漆酶活力。研究结果表明,马桑香菇、香菇 808 和庆科 R20 虽均同为有机香菇的下属分支,但菌株间是有区别的,马桑香菇同香菇 808 和庆科 R20 间的亲缘性也较远,且两两间均有拮抗反应,3 种菌株菌丝生长对适宜温度的选择也有较小

差异,是存在一定种源差异的。此外,香菇液体产漆酶活力受菌株遗传差异和 5 种不同诱导培养基的影响均为极显著($P < 0.001$),但各处理漆酶整体变化规律均呈现先升后降的趋势。说明菌株和培养培养基的差异仅对漆酶活性大小有影响,但不影响漆酶的变化规律。本结果同 Mata 等对香菇的研究结果^[15]相似,且在韩美玲等对糙皮侧耳的研究中也有类似趋势存在^[12,16]。此外,本试验培养前期,3 种香菇菌株不同处理下产漆酶活力均较低,庆科 R20 菌株部分处理下甚至无法检测出漆酶活力,而在培养中后期漆酶活力较为旺盛,峰值也主要集中在培养 8~11 d 内,表明香菇对木质素降解吸收时间普遍较晚。张权等研究发现,香菇生长过程中对营养的

利用存在一定的先后顺序,在香菇液体发酵培养中发现淀粉优于纤维素和木质素被利用^[13,17]。杨舒贻等指出,香菇 808 液体培养中碳源淀粉较木质素更早被降解利用,且淀粉酶的最高活性出现在培养 4 d,漆酶活力出现在培养 13 d^[18]。本研究漆酶活力变化规律与之吻合。

此外,5 种诱导物中,除碱性木质素(纯品)外,其他 4 种较为复杂的木质纤维素基质均为常见食用菌栽培辅料,也是农林生产中常见的二次资源。在众多研究中,麦麸一致被认为是有利于漆酶分泌的基质^[19-21]。本研究同样发现基质麦麸对香菇表现出较强的产漆酶诱导力,它能促使马桑香菇、庆科 R20 产酶时间提前,酶活峰值分别于 8 d(马桑香菇, 161.83 U/L)、10 d(庆科 R20, 265.07 U/L)出现。并且在麦麸诱导下庆科 R20 产酶能力最高,其次为基质玉米芯,麦麸诱导马桑香菇和香菇 808 的产酶能力分别仅次于米糠和玉米芯,表明辅料麦麸对庆科 R20、马桑香菇和香菇 808 均有较强的漆酶诱导力。此外,玉米芯也表现出较高的产漆酶诱导力,香菇 808 在含玉米芯的诱导培养基下产漆酶能力最强,最高能达到 464.06 U/L;玉米芯诱导庆科 R20 产漆酶的能力仅次于麦麸,最高达 237.15 U/L;玉米芯对马桑香菇产漆酶的诱导能力相对米糠和麦麸较低,最高时能达 117.81 U/L。表明麦麸和玉米芯对香菇 808 和庆科 R20 均具有较强的产漆酶诱导力;而马桑香菇产漆酶活力受米糠和麦麸影响更大。这样的选择性差异可能是由于 3 种菌株遗传差异以及胞外蛋白质含量变化造成的。通过漆酶活性的对比研究,可初步得出香菇 808、庆科 R20 和马桑香菇最佳辅料分别为玉米芯、麦麸和米糠,且 3 种菌株共同的最佳辅料为麦麸。马桑香菇在实现生产以来,菌棒配方均有别于香菇 808 和庆科 R20,但生产中利用含米糠、麦麸和玉米芯的香菇栽培种配方生产马桑香菇在理论上是可行的,但更为具体的反应机制和降解过程还需结合其他几种胞外酶进行综合分析,而且能否保证马桑香菇的口感和丰富营养成分还需进一步研究。

参考文献:

- [1] Gnansounou E, Dauriat A. Ethanol fuel from biomass: a review[J]. Journal of Scientific & Industrial Research, 2005, 64(1): 809-821.
- [2] 陈小敏, 吴海冰, 向泉桔, 等. 不同温度培养对香菇漆酶活性及转录表达的影响[J]. 四川大学学报(自然科学版), 2019, 56(1): 155-160.
- [3] 贾素巧. 碳氮营养对猴头菌生长发育及胞外酶活性的影响[D]. 保定: 河北农业大学, 2006.
- [5] Shon Y H, Nam K S. Antimutagenicity and induction of anticarcinogenic phase II enzymes by basidiomycetes[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2001, 77(1): 103-109.
- [6] Thurston C F. The structure and function of fungal laccases[J]. Microbiology, 1994, 140(1): 19-26.
- [7] Bollag J M, Shuttleworth K L, Anderson D H. Laccase-mediated detoxification of phenolic compounds[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1988, 54(12): 3086-3091.
- [8] 严培兰, 高君辉. 黑木耳的抗霉能力、产量性状与不同胞外酶活的相关性[J]. 吉林农业大学学报, 1998, 20(增刊1): 155.
- [9] 任鹏飞, 任海霞, 曲玲, 等. 香菇胞外酶活性变化及其与农艺性状的相关性分析[J]. 山东农业科学, 2010, 42(12): 11-14.
- [10] 孙淑静, 郭艳艳, 吴晓华, 等. 不同食用菌品种产漆酶规律的研究[J]. 中国食用菌, 2014, 33(3): 38-40.
- [11] 唐菊, 段传人, 黄友莹, 等. 白腐菌木质素降解酶及其在木质素降解过程中的相互作用[J]. 生物技术通报, 2011(10): 32-36.
- [12] 韩美玲, 安琪, 吴雪君, 等. 不同木质纤维素诱导对糙皮侧耳液体发酵产漆酶活性的影响[J]. 菌物学报, 2017, 36(3): 349-357.
- [13] 张权. 香菇胞外酶活性变化规律和农艺性状研究[D]. 新乡: 河南科技学院, 2016: 4-77.
- [14] 李良敏. 基于漆酶活性测量的香菇育种早期筛选技术研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020: 4-71.
- [15] Mata G, Savoie J M. Extracellular enzyme activities in six *Lentinula edodes* strains during cultivation in wheat straw[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 1998, 14(4): 513-519.
- [16] 安琪, 吴雪君, 吴冰, 等. 不同碳源和氮源对金针菇降解木质纤维素酶活性的影响[J]. 菌物学报, 2015, 34(4): 761-771.
- [17] 王伟科, 陆娜, 周祖法, 等. 8 种胞外酶在香菇不同生长阶段的活性变化[J]. 浙江农业科学, 2014, 55(4): 498-501.
- [18] 杨舒贻, 杨晖, 闫琼妮, 等. 香菇液体培养过程中 3 种胞外酶活的变化[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(14): 3391-3393.
- [19] 王宜磊. 碳源和氮源对彩绒革盖菌 *Coriolus versicolor* 木质纤维素酶和木质素酶分泌的影响[J]. 微生物学杂志, 2000, 20(1): 29-31.
- [20] 赵林果, 陆叶, 谢惠芳, 等. 碳源和氮源对彩绒革盖菌液体发酵合成漆酶的影响[J]. 微生物学杂志, 2007, 27(5): 57-60.
- [21] 尚洁, 吴秋霞, 练小龙, 等. 碳源和氮源对木蹄层孔菌产漆酶的影响及酶学性质研究[J]. 中国生物工程杂志, 2013, 33(11): 32-37.