

# 不同类型食用菌产木素 氧化酶系能力比较与分析

徐建中, 胡开辉\*, 孙淑静, 张俊兰, 肖雅敏, 林胤煌

(福建农林大学 生命科学学院, 福建 福州 350002)

**摘要:** 了解食用菌产木质素氧化酶系的特征及其与菌丝生长速度的关系, 采用 RB-PDA 脱色法、苯胺蓝平板脱色法等 4 种方法, 检测 32 种食用菌中漆酶(Lac)、木质素过氧化物酶(Lip)和锰过氧化物酶(MnP), 并且利用 PDA 平板实验测量其菌丝生长速度。结果表明: 12 个品种可同时分泌漆酶(Lac)、木质素过氧化物酶(Lip)和锰过氧化物酶(MnP), 2 个品种未检测到 Lac、Lip、MnP, 6 个品种只分泌 Lac, 2 个品种只分泌 MnP, 而未曾发现只分泌 Lip 的品种。说明食用菌对 Lac 和 MnP 的产生分泌具有独立性, 但是木质素过氧化物酶必需与锰过氧化物酶同时分泌。木质素氧化酶系丰富食用菌菌种, 菌丝生长速度快; Lac 活性高的菌种, 其生物转化率也高。

**关键词:** 食用菌; 木素氧化酶系; 生长速度; 漆酶活力

中图分类号: Q946.5 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2011)02-0375-06

## The Comparison and Analysis of the Producing Ability of the Ligninolytic Enzyme System in Different Types of Edible Fungi

XU Jian-zhong, HU Kai-hui\*, SUN Shu-jing,  
ZHANG Jun-lang, XIAO Ya-min, LIN Yin-huang

(College of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

**Abstract:** In order to understand relationship between the characteristics of the ligninolytic enzyme system produced by edible fungi and the the speed of hypha growth, the Lac, Lip and MnP of 32 species of edible funguses were analyzed by four methods including RB-PDA and Aniline blue decolonization in plate and so on. And the speed of hypha growth was measured by the plate of PDA. The result showed that 12 species had Lac, Lip and MnP, 2 species had no enzymes, 6 species only produced Lac, 2 species only produced Mnp. However, there was not a specie which only produced Lip. All this shows that edible fungi have their own unique characteristics in secreting Lac and MnP, but Lip and MnP must be secreted at the same time. And the edible fungi which are rich in ligninolytic enzyme systeml grow faster then others, and the edible fungi with high Lac-case activeness, their biological conversion rates are also high.

**Key words:** edible fungus; ligninolytic enzyme system; growth velocity; laccase activity

食用菌在培养过程中菌丝大量分泌分解粗纤维的酶类, 使食用菌菌糠的粗纤维含量大幅度降低<sup>[1]</sup>, 而分解粗纤维的酶类主要为木素氧化酶类。木素氧化酶系主要包括锰过氧化物酶(MnP)、木质

收稿日期: 2010-11-11 修回日期: 2011-02-18

基金项目: 福建省科技重点项目(2009N0010)

作者简介: 徐建中(1984—), 男, 硕士生, 主要从事食用菌育种与分子生物学研究, E-mail: xujz126@126.com; \* 通讯作者: 胡开辉, 教授, E-mail: hukh62@sohu.com。

素过氧化物酶(Lip)、漆酶(Lac)<sup>[2]</sup>。其中MnP有极强的降解潜力,Lip是唯一已知的在非细胞状态下能裂解C $\alpha$ -C $\beta$ 和使芳香环开裂的氧化酶,而漆酶能够催化多种酚型和非酚型化合物发生氧化反应<sup>[3]</sup>。白腐真菌可利用两种过氧化物酶降解秸秆中的木质素和纤维素,使其转化成含有酶的糖类<sup>[4]</sup>。很多食用菌菌体中富含Lac,它在菌体生长过程参与木质素的降解,为菌丝生长提供养料<sup>[5]</sup>;同时还会产生酚类或醌类化合物抑制杂菌生长<sup>[6]</sup>,且Lac与食用菌栽培产量正相关<sup>[7]</sup>。目前,尚未见关于不同食用菌品种中木质素氧化酶系组成成分差异及其分泌特征,菌丝生长和木质素氧化酶系的关系的报道。

本研究利用RB亮蓝平板脱色法、苯胺蓝平板脱色法、愈创木酚法和亚甲基蓝法检测了木质素氧化酶系中的Lac、Lip和MnP和通过PDA平板实验测量了菌丝的生长速度,发现不同食用菌品种木质素氧化酶系的组成体系不同且这3种酶的分泌有一定的规律,同时这3种酶对菌丝生长起到重要作用,这为今后不同生产类型食用菌对不同原料基质的选择与利用判别提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试菌种 32个食用菌菌种见表1,均由福建农林大学微生物工程实验室保存。

表1 供试菌株

Tab.1 Sources of test strains

菌种名称 Strain designation	来源 Source	菌株名称 Strain designation	来源 Source
滑菇 5188 Huagu 5188	A	高温6号 Gaowen No.6	C
黑芝 2B Heizhi2B	A	白鲍 3 Baibao 3	E
大球盖菇 1116 Daqiugaigu 1116	A	巴西平菇 Baxipinggu	E
真 9602 Zhen 9602	B	金 13 Jin 13	F
金福菇 03 Jinfugu 03	C	大杯蕈(鲁) Dabeixun(Lu)	C
牛舌菌 Niushejun	C	鸡 GT Ji GT	B
C3	C	长柄侧耳 Changbingceer	C
白灵 1号 Bailing NO.1	B	灰树花 G Huishuhua G	C
毛木耳 002 Maomuer 002	A	香 51 Xiang 51	B
黑木耳 09 Heimuer 09	A	小平 ND Xiaoping ND	B
虎奶菇 01 Hunaigu01	C	巴西红平菇 Baxihongpinggu	E
平 10 Ping 10	D	松毛菌 Songmaojun 11	C
白灰(张) Baihui(Zhang)	D	猴头 B Houtou B	C
杏 23 Xing 23	D	秀珍 18 Xiuzhen 18	F
凤尾 831 Fengwei 83	B	台湾杨树菇 Taiwaiyangshugu	E
金耳 2号 Jiner No.2	E	阿魏菇 2 Aweigu 2	E

A: 福建省三明真菌研究所; B: 福建农林大学微生物工程实验室; C: 福建省农业厅菌种站; D: 华中农业大学; E: 福建农林大学菌草所; F: 福建农林大学菌物研究中心。

A: Sanming Mycological Institute of Fujian Province, B: Microbiological Engineering Lab, Fujian Agriculture and Forestry University, C: Fungal Station, Agriculture Office of Fujian Province, D: Huazhong Agricultural University, E: Juncao Institute, Fujian Agriculture and Forestry University, F: Mycological Research Center, Fujian Agriculture and Forestry University.

1.1.2 培养基 ①PDA固体培养基: 土豆(去皮) 200 g, 葡萄糖 20.0 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.0 g、MgSO<sub>4</sub> 1.0 g, 琼脂粉 20.0 g, 蒸馏水 1 000 g, pH自然<sup>[8]</sup>。②PDA液体培养基: PDA固体培养基去掉琼脂。③I型培养基: 酵母膏 10.0 g、葡萄糖 10.0 g、琼脂 20 g、苯胺蓝(Azure B) 0.1 g<sup>[9]</sup>。所有培养基配制后, 0.1 MPa灭菌 20 min, 备用。

### 1.2 菌种活化

将保藏菌株接入PDA斜面培养基, 28℃培养4 d后, 再转接1次, 28℃培养7 d后, 最后再将其转

接到 PDA 平板上,在 28 °C 下培养 7 d 后待用。

### 1.3 粗酶液制备

250 mL 的三角瓶中装液体培养基 50 mL,接入 1 cm 的菌塞 4 个,28 °C、130 r/min 恒温摇床培养 7 d,发酵液 10 000 r/min 离心 8 min,上清液即为粗酶液,冰箱保存备用。

### 1.4 RB 亮蓝平板定性检测漆酶(Lac)

将活化的菌种以 1 cm 菌塞的方式接种在 RB 亮蓝平板(含 0.01% RB 亮蓝的 PDA 培养基平板)上,28 °C 培养,每个菌种重复 3 次。每天观察菌落周围是否出现变色圈,记录变色圈的大小,以有无变色圈来定性检测 Lac 的产生<sup>[10]</sup>。

### 1.5 苯胺蓝平板定性检测过氧化物酶(Lip + MnP)

将活化的菌种以 1 cm 菌塞的方式接种在苯胺蓝平板上,28 °C 下培养,每个菌种重复 3 次。每天观察苯胺蓝平板中菌落周围是否出现变色圈,以有无变色圈来定性检测 Lip 和 MnP 的产生<sup>[11]</sup>。

### 1.6 亚甲基蓝(MB)法定性检测木质素过氧化物酶(Lip)

Lip 的定性反应混合液:2.7 mL 粗酶液,0.1 mL 1 mmol/L 的 MB,0.3 mL 0.5 mol/L 的酒石酸钠缓冲液(pH 4.0),加入 0.1 mL 4.5 mmol/L 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 启动反应。用灭活的酶液体系做空白对照,若整个体系由略显绿的蓝色变为紫蓝色,表明有 Lip 的产生,否则无 Lip 的产生<sup>[9]</sup>。

### 1.7 愈创木酚法定性检测锰过氧化物酶(MnP)

MnP 的定性反应混合液:2 mL 酶液,含有终浓度为 0.4 mmol/L 的愈创木酚,0.1 mmol/L 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,0.2 mmol/L 的 MnSO<sub>4</sub> 及 50 mmol/L 的琥珀酸钠缓冲体系,调节 pH 至 4.5 加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 启动反应。用灭活的酶液体系做空白对照,若整个体系由浅黄色变为茶黄色,表明有 MnP 的产生<sup>[12]</sup>。

### 1.8 ABTS 法定量测定漆酶(Lac)活性

以 ABTS 为底物,3 mL 的反应体系中有醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 5.0) 2 700 μL,粗酶液 100 μL,并用 1 mmol/L 的 ABTS 200 μL 来启动反应,测其在波长为 420 nm 处的吸光度。定义在上述反应条件下,反应体系每分钟使吸光值增加 0.1 所需的酶量为一个酶活单位(U),其中已知 420 nm 处 ABTS 的摩尔吸光系数为 36 000 L/(mol·cm)<sup>[5]</sup>。

### 1.9 菌丝生长速度的测定

将活化的菌种以 1 cm 菌塞的方式接种 PDA 平板上,28 °C 恒温培养,每个品种做 3 个平行重复实验。每天测量菌落生长的直径,记录菌落直径的大小。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同类型食用菌产木素氧化酶系能力

利用 4 种方法对已活化的 32 种食用菌菌种的木素氧化酶系进行的定性检测并利用 ABTS 法对这 32 种食用菌菌种的漆酶活性进行定量测定如表 2。

从表 2 可以看出, RB 亮蓝平板变色法检测能分泌漆酶(Lac)的菌种有 21 种,并且发现不同的菌种对 RB 亮蓝平板脱色的能力存在很大差别。通过苯胺蓝平板变色法检测既有木质素过氧化物酶(Lip)又有锰过氧化物酶(MnP)的菌种有 24 种,且结合 RB 亮蓝平板变色法检测结果发现能使 RB 亮蓝平板变色的菌种不一定能使苯胺蓝平板变色,而不能使 RB 亮蓝平板变色的菌种同样可以使苯胺蓝平板变色。说明食用菌对漆酶和过氧化物酶(Lip 和 MnP)的分泌是独立的。亚甲基蓝法定性检测结果表明具有木质素过氧化物酶(Lip)的菌种有 19 种,而愈创木酚法定性检测结果表明具有锰过氧化物酶(MnP)的菌种有 24 种。综合以上 4 种检测方法结果可以发现 12 个品种具有 Lac、Lip 和 MnP 3 种酶活性,分别是:黑木耳 09、平 10、杏 23、凤尾 831、金耳 2 号、白鲍 3、巴西平菇、大杯蕈(鲁)、长柄侧耳、小平 ND、猴头 B 和秀珍 18,大多属于侧耳属;3 种酶都不能分泌的菌种只有 2 种,分别是:白灰(张)和灰树花 G,都是树花菌属。有 6 个品种只能分泌漆酶,即香 51、金 13、阿魏菇、虎奶菇 01、鸡 GT 和滑菇 5188;有 2 个品种只能分泌锰过氧化物酶,即巴西红平菇和松毛菌,而未曾发现只能分泌木质素过氧化物酶的菌种。这说明食用菌对漆酶和锰过氧化物酶的产生分泌具有独立性,可单独分泌,但是木质素过氧化物酶不能单独分泌必须与锰过氧化物酶一起分泌。

表2 不同类型食用菌产木素氧化酶系能力比较与分析

Tab.2 Analysis and comparison of ligninolytic enzyme system from different species of edible fungi

菌种 Species	RB 亮蓝法	苯胺蓝法	亚甲基蓝法	愈创木酚法	漆酶活性 /(U · mL <sup>-1</sup> ) Laccase activity
	Brilliant blue Lac	Aniline blue Lip + Mnp	Methylene blue Lip	Guaiacol Mnp	
滑菇 5188 <i>Pholiota nameko</i>	++	-	-	-	1.257
黑芝 2B <i>Tanoderma sinense</i>	++	+	-	+	1.373
大球盖 1116 <i>Stepharia recgosonnulata</i>	-	++	+	++	0
真 9602 <i>Hypsizygyus marmorous</i>	-	+	+	+	0
金福菇 03 <i>Tricholoma lobyense</i>	-	++	++	++	0
牛舌菌 <i>Fistulina hepatica</i>	-	++	+	++	0
C3 <i>Agrocybe cylindracea</i>	-	++	+	+	0
白灵 1 号 <i>Pleurotus nebrodeusis</i>	+++	+	-	+	0.926
毛木耳 002 <i>Auricularia polytricha</i>	-	+++	+++	+++	0
黑木耳 09 <i>Auricularia auricular</i>	++	+	+	+	1.589
虎奶菇 01 <i>Pleurotus tuber: regium</i>	+++	-	-	-	1.533
平 10 <i>Pleurotus ostreatus</i>	+++	+++	+++	++	3.894
白灰(张) <i>Grifola frondosa</i>	-	-	-	-	0
杏 23 <i>Pleurotus orgngii</i>	++	+++	+	+++	2.17
凤尾 831 <i>Pleurotus sajor - caju</i>	+++	+++	+++	++	3.333
金耳 2 号 <i>Tremella allrantiialla</i>	++	+++	++	+++	1.47
高温 6 号 <i>Pleurotus abalones</i>	++	+++	-	+++	1.467
白鲍 3 <i>Pleurotus abalones</i>	+++	++	++	+++	1.651
巴西平菇 <i>Agaricus blazei</i>	+++	+++	+	+++	1.53
金 13 <i>Flammulia velutipe</i>	+++	-	-	-	1.593
大杯蕈(鲁) <i>Litocyde maxima</i>	+++	+++	++	+++	1.497
鸡 GT <i>Coprinus comatus</i>	++	-	-	-	1.453
长柄侧耳 <i>Pleurotus spodoleucas</i>	+++	++	++	++	2.016
灰树花 G <i>Grifola frondosa</i>	-	-	-	-	0
香 51 <i>Lentinus edodes</i>	++	-	-	-	1.05
小平 ND <i>Pleurotus cornucopiae</i>	+++	+++	++	++	2.027
巴西红平菇 <i>Pleurotus djamor</i>	-	++	-	++	0
松毛菌 <i>Thelephora ganhajun</i>	-	++	-	++	0
猴头 B <i>Hericium erinaceus</i>	++	+++	+++	+	1.351
秀珍 18 <i>Pleurotu comucopiae</i>	++	++	+	++	1.57
台湾杨树菇 <i>Agrocyde aegerita</i>	-	+++	+	++	0
阿魏菇 <i>Pleurotus aryngiivar</i>	+	-	-	-	0.69

32 种食用菌拉丁名参考文献 [13 - 14]: “-”表示没有变色能力, “+”表示变色能力一般, “++”表示变色能力较强, “+++”表示变色能力强。32 kind of edible fungus’ spawn Latin name refers to literature<sup>[9]</sup> and <sup>[10]</sup>; “-”shows no color deterioration, “+”shows weak color deterioration, “++” strong color deterioration, “+++” shows more strong color deterioration.

利用 ABTS 法定量测定不同食用菌品种的漆酶活性发现,实验结果与 RB 亮蓝平板变色法定性检测漆酶的结果一致,且发现不同食用菌品种中漆酶活性相差很大。结合不同食用菌的生物转化率可以发现,漆酶活性高的菌种其生物转化率也高,这说明了食用菌的生物转化率与食用菌产漆酶能力成正比例关系。

### 2.2 菌丝生长速度

通过接种 1 cm 菌塞于 PDA 培养基平板中,28 ℃ 培养后,测量每天的菌落生长直径如表 3。

表3 不同类型食用菌在 PDA 平板上生长速度

Tab.3 The growth velocity of different species of edible fungi

菌种 Species	天数 Days										平均速率 /(cm · d <sup>-1</sup> ) Average rate
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
滑菇 5188 <i>Pholiota nameko</i>	1.0	2.0	2.7	3.6	4.5	5.3	6.2	8.0	8.5	8.5	1.000 0
黑芝 2B <i>Tanoderma sinense</i>	1.3	1.8	2.4	3.3	4.5	5.7	7.2	8.2	8.5	8.5	1.025 0
阿魏菇 <i>Pleurotus arnyiivar</i>	1.0	1.3	1.5	1.8	2.3	2.8	3.7	4.6	6.8	7.3	0.762 5
真 9602 <i>Hypsizygus marmorosus</i>	1.0	1.3	2.0	2.6	3.3	4.0	4.6	5.1	5.8	6.4	0.637 5
金福菇 03 <i>Tricholoma lobyense</i>	1.2	2.0	2.7	3.6	4.3	5.1	5.9	6.5	6.9	7.5	0.812 5
秀珍 18 <i>Pleurotu comucopiae</i>	1.4	2.2	2.7	3.6	4.3	5.3	6.3	7.5	7.2	7.8	0.812 5
C3 <i>Agrocybe cylindracea</i>	1.5	2.5	3.3	4.2	5.5	6.1	6.6	7.0	7.6	8.0	0.875 0
猴头 B <i>Heriicum erinaceus</i>	1.0	1.9	2.7	3.4	4.3	5.1	6.0	6.7	7.6	8.3	0.800 0
松毛菌 <i>Thelephora ganhajun</i>	1.0	1.2	1.8	2.6	3.5	4.3	5.1	5.8	8.5	8.5	1.142 9
巴西红平菇 <i>Pleurotus djamor</i>	1.0	1.3	2.0	2.8	3.7	4.5	5.3	6.0	6.2	6.9	0.725 0
小平 ND <i>Pleurotus cornucopiae</i>	1.5	1.7	2.5	3.8	5.0	6.8	7.6	8.5	6.5	7.1	0.757 1
平 10 <i>Pleurotus ostreatus</i>	1.3	2.0	2.9	4.4	5.5	6.8	8.4	8.5	6.2	6.9	0.725 0
白灰(张) <i>Grifola frondosa</i>	1.0	1.0	1.2	2.2	2.6	3.3	3.9	4.4	4.8	5.3	0.550 0
杏 23 <i>Pleurotus orgngii</i>	1.4	2.4	3.6	4.8	6.0	7.0	7.8	8.4	8.5	8.5	1.050 0
凤尾 831 <i>Pleurotus sajor - caju</i>	1.0	2.0	2.9	4.3	5.4	6.8	8.1	8.5	8.5	8.5	1.157 1
金耳 2 号 <i>Tremella allrantiella</i>	1.1	2.0	3.0	4.2	5.4	6.3	7.3	8.4	8.5	8.5	1.042 9
高温 6 号 <i>Pleurotus abalones</i>	1.2	2.6	3.8	5.0	6.1	7.0	7.8	8.3	8.5	8.5	1.037 5
白鲍 3 <i>Pleurotus abalones</i>	1.2	2.6	3.5	4.3	5.2	6.3	7.2	8.3	8.5	8.5	1.028 6
巴西平菇 <i>Agaricus blazei</i>	1.8	2.5	4.0	5.0	6.3	7.3	8.1	8.5	8.5	8.5	1.157 1
金 13 <i>Flammulia velutipe</i>	1.5	1.9	3.2	4.3	5.4	6.3	7.4	8.3	8.5	8.5	1.057 1
大杯蕈(鲁) <i>Litocybe maxima</i>	1.0	2.0	3.0	4.1	5.2	6.5	7.5	8.4	8.5	8.5	1.071 5
鸡 GT <i>Coprinus comatus</i>	1.0	2.0	3.1	3.8	4.4	5.0	6.2	7.8	8.0	8.5	0.975 0
灰树花 G <i>Grifola frondosa</i>	1.0	1.0	1.6	1.9	2.3	2.9	3.5	4.0	7.0	7.5	0.750 0
香 51 <i>Lentinus edodes</i>	1.0	1.5	1.9	2.5	3.4	4.2	5.0	6.0	8.5	8.5	1.062 5
长柄侧耳 <i>Pleurotus spodoleucas</i>	1.3	1.9	3.9	4.7	6.1	7.7	8.0	8.5	4.7	5.3	0.500 0
虎奶菇 01 <i>Pleurotus tuber: regium</i>	1.5	2.3	3.0	3.8	4.7	5.9	6.7	7.6	6.5	7.1	0.757 1
黑木耳 09 <i>Auricularia auricular</i>	1.4	2.1	2.8	3.6	4.4	5.6	6.4	7.3	8.5	8.5	1.062 5
毛木耳 002 <i>Auricularia polytricha</i>	1.2	2.0	2.8	3.5	4.3	5.0	5.9	6.5	7.0	7.5	0.750 0
白灵 1 号 <i>Pleurotus nebrodeusis</i>	1.0	1.5	2.0	2.6	3.5	4.5	5.3	6.4	4.7	5.3	0.500 0
台湾杨树菇 <i>Agrocybe aegerita</i>	1.0	1.7	2.4	3.3	4.1	5.0	5.7	6.5	5.0	6.0	0.562 5
大球盖 1116 <i>Stepharia recgosonmulata</i>	1.0	1.3	1.8	2.3	2.8	3.5	4.0	4.5	5.4	6.3	0.575 0
牛舌菌 <i>Fistulina hepatica</i>	1.1	1.9	2.5	3.3	4.0	4.7	5.3	6.1	8.5	8.5	0.937 5

所有数据为测量 3 次后平均菌落直径 (cm)。

All the results are mean diameter of colonies after three times (cm) .

结果表明: 32 种栽培食用菌品种在 PDA 平板上生长速度不一致, 其中 8 d 长满平皿的品种有 5 种, 分别是平 10、凤尾 831、小平 ND、长柄侧耳、巴西平菇, 都为侧耳属。9 d 后长满平皿的品种有 10 种, 分别是滑菇 5188、黑芝 2B、黑木耳 09、虎奶菇 01、杏 23、金耳 2 号、高温 6 号、金 13、大杯蕈(鲁) 和秀珍 18, 涵盖的属比较多, 有鳞伞属、灵芝属、木耳属、侧耳属、银耳属、金针菇属和杯伞属。在 10 d 之内长满平皿的菌种有 16 种, 除上面 15 种外还有鸡 GT。其它 16 种菌种生长速度缓慢, 10 天内仍不能长满平皿, 其中 6 个品种生长很慢, 10 d 后菌丝直径在 7 cm 左右, 它们分别是: 大球盖菇 1116、真 9602、白灰(张)、灰树花 G、巴西红平菇和阿魏菇, 分类地位也有不同。从上面的结果可知, 不同栽培食用菌分类地位不同, 其生长速度不同, 但分类地位相同的食用菌品种, 其生长速度也有不同。说明单依靠食用菌品种的分类地位不能准确的衡量其生长速度的快慢。结合食用菌中木素氧化酶系的检测与测定的结果可以发现, 只要有木素氧化酶系中的一种酶产生的菌种, 其生长速度都快于没有酶产生的菌种。产酶种类多、酶活力大的菌种生长速度很快, 一般 8 d 以内就可以长满整个平皿, 如平 10、凤尾 831, 而那些产酶种类少、酶活力小的菌种生长速度很慢, 要 >10 d 才能长满整个平皿, 如真 9602、灰树花 G 和阿魏菇。从上面结果可知, 食用菌中 Lac、Lip 和 MnP 在菌落生长速度上起着重要的作用。同时发现, 生物转化率高、生长速度快的菌种, 漆酶活性高, 这表明漆酶在栽培食用菌中的生物转化率和生长速度中起到重要作用。食用菌中这些特点的发现, 可为以后食用菌育种如何提高菌种的生物转化率和提高其生长速度提供重要的参考。

### 3 讨 论

(1) 本实验对32个不同类型食用菌品种木素氧化酶系定性检测发现不同的食用菌品种其产酶能力及种类不同。有的食用菌品种能同时分泌 Lac、Lip 和 MnP,有些食用菌品种能同时分泌2种酶,其中包括能同时分泌 Lac 和 Lip 或 Lac 和 MnP 或 Lip 和 MnP。有些食用菌品种只能分泌其中1种酶,包括只能分泌 Lac 或 MnP,但在本研究中未能检测到只分泌 Lip 的品种。同时有些品种未能检测到木素氧化酶系。这说明食用菌在分泌 Lac、Lip 和 MnP 时,食用菌对 Lac 和 MnP 的产生分泌具有独立性,可单独分泌这2种酶,但是 Lip<sup>[15]</sup>不能单独分泌必须与 MnP 一起分泌。

(2) 魏志艳,杨小兵研究发现食用菌菌株的生物转化率与其对木质素、纤维素降解率的总和呈正相关,但并未探讨木质素氧化酶系哪种酶与木质素、纤维素降解率之间存在更直接的关系。本实验对不同食用菌品种进行 Lac 测量,测量结果与对应品种的生物转化率进行比较发现,漆酶活性与生物转化率成正比例关系,如平10漆酶活性为3.894 U/mL,大杯蕈(鲁)漆酶活性为1.497 U/mL,未检测到真9602和灰树花G的漆酶活性,而对应的平菇的生物转化率为154.6%<sup>[16]</sup>,大杯蕈的生物转化率为80%~120%<sup>[14]</sup>,真姬菇的生物转化率为30%~40%<sup>[13]</sup>,灰树花的生物转化率为35%~50%<sup>[14]</sup>。说明 Lac 在食用菌利用栽培基料中起到指示作用,因此寻找或是培育高产漆酶活性的食用菌品种,提高菌种对基料的生物转化率将有利于食用菌产业的发展。

(3) 对食用菌不同品种生长速度测定及 Lac、Lip 和 MnP 研究分析,发现只要有 Lac、Lip 和 MnP 中的一种酶产生的菌种,其生长速度都快于没有酶产生的菌种。且产酶种类多、酶活力大的菌种生长速度更快,而那些产酶种类少、酶活力小的菌种生长速度更慢。如平10的平均速率为1.200 0 cm/d,大杯蕈(鲁)的平均速率为1.071 5 cm/d,真9602的平均速率为0.637 5 cm/d,灰树花的平均速率为0.500 0 cm/d。其中平10可分泌 Lac、Lip 和 MnP,且漆酶活性很高;大杯蕈(鲁)可分泌 Lac、Lip 和 MnP,但其漆酶活性不高;真9602可分泌 Lip 和 MnP;灰树花G未检测到 Lac、Lip 和 MnP。说明木质素氧化酶系与食用菌菌丝生长速度,及出菇周期长短存在着正相关,这为以后食用菌育种如何提高食用菌生长速度,缩短出菇周期提供了重要的参考。

#### 参考文献:

- [1] Sze Chung. Effect of phenolic monomers on the production of Laccases by the edible mushroom *Pleurotus sajorcaju* and partial characterization of a major Laccase component [J]. *Mycologia*, 2001, 93(3): 413-421.
- [2] 池玉杰,伊洪伟. 木材白腐菌分解木质素的酶系统: 锰过氧化物酶、漆酶和木质素过氧化物酶催化分解木质素的机制 [J]. *菌物学报*, 2007, 26(1): 153-160.
- [3] Morozova O, Shumakovich G, Gorbacheva M A, et al. Review: Blue Laccase [J]. *Biochemistry (Moscow)*, 2007, 115(72): 1136-1150.
- [4] 赵红霞,杨建军,詹勇. 白腐真菌在秸秆作物资源开发中的研究 [J]. *饲料工业*, 2002, 23(11): 40-42.
- [5] 胡开辉,刘建忠,孙淑静,等. 斑玉蕈育种中漆酶转化体系建立的初步研究 [J]. *菌物学报*, 2010, 4(12): 56-61.
- [6] 朱海潇,黄桂英,王霖,等. 凤尾菇漆酶性质及应用的研究 [J]. *福建农业学报*, 2008, 23(1): 48-52.
- [7] 韩增华,张丕奇,孔祥辉. 黑木耳胞外酶活变化与栽培性状比较的研究 [J]. *食用菌学报*, 2007, 14(4): 41-46.
- [8] 胡开辉,洪坚平. *微生物学实验* [M]. 北京: 中国林业出版社, 2004: 1-246.
- [9] 赵敏,朱琳,魏巍. 木腐菌氧化酶系检定及漆酶产生的研究 [J]. *菌物学报*, 2009, 28(2): 244-252.
- [10] 黄百里. 粗毛栓菌漆酶的生化及分子生物学研究 [D]. 成都: 四川大学博士学位论文, 2008.
- [11] 赵敏,钱程. 白腐菌木素氧化酶系的检测及其漆酶诱导产生的研究 [J]. *中国造纸学报*, 2005, 20(2): 101-105.
- [12] 熊小平,文湘华,白亚楠,等. 白腐真菌发酵中胞外蛋白酶对 MnP 的产生及其稳定性的影响 [J]. *环境科学学报*, 2008, 28(5): 866-872.
- [13] 郭成金. *食用菌高效栽培技术一本通* [M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 1-369.
- [14] 方芳,宋金娣,冯吉庆,等. *食用菌生产大全*. [M]. 2版. 南京: 江苏科学技术出版社, 2007: 1-475.
- [15] 魏志艳,杨小兵. 云杉木屑培养食用菌的研究 [J]. *中国食用菌*, 2009, 28(4): 23-24.
- [16] Shoji Ohga, Daniel J Royse. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* umbrella plant (*Cyperus altering folium*) subsets rate [J]. *The Japan Wood Research Society*, 2004, 77(50): 466-469.