

不同配方培养料对香菇胞外酶活性、产量及品质的影响

楚晓真, 崔杏春, 刘 格, 王保瑞, 高 翔

(郑州市蔬菜研究所 郑州 450015)

摘要:为了探究不同香菇配方培养料中胞外酶活性的变化规律以及对产量、子实体品质的影响,以香菇 9608 为材料,采用 3 种不同香菇培养料配方[配方 1: 栎木 78%(w, 后同)、麸皮 20%、石灰 1%、石膏 1%; 配方 2: 苹果木 39%、栎木 39%、麸皮 20%、石灰 1%、石膏 1%; 配方 3: 苹果木 78%、麸皮 20%、石灰 1%、石膏 1%]进行试验,检测了香菇不同生长期羧甲基纤维素酶、半纤维素酶、淀粉酶和漆酶 4 种胞外酶的活性,香菇产量以及子实体中营养物质的含量。结果表明,配方 2 香菇羧甲基纤维素酶和淀粉酶活性在转色期和现蕾期较配方 1 和配方 3 高;配方 2 香菇总产量以及生物学效率最高,单袋平均产量 1 126.1 g,比配方 1、配方 3 分别增产 6.87%、22.60%;配方 2 香菇子实体中氨基酸、蛋白质、维生素 C 含量均高于配方 1 和 3。因此,使用栎木和苹果木混合培养料可提高香菇产量和品质。

关键词:香菇;培养料配方;胞外酶;产量;品质

中图分类号:S646.1'2 文献标志码:A 文章编号:1673-2871(2023)03-110-05

Effects of different formulations on extracellular enzyme activity yield and quality of *Lentinus edodes*

CHU Xiaozhen, CUI Xingchun, LIU Ge, WANG Baorui, GAO xiang

(Zhengzhou Vegetable Research Institute, Zhengzhou 450015, Henan, China)

Abstract: In order to explore the changes of extracellular enzyme activities in different formulations of *Lentinus edodes* culture materials and their effects on yield and fruiting body quality, In this paper, *L.edodes* 9608 was used as the material, and three different formulas of *L.edodes* culture materials were used (formula 1: oak 78%, bran 20%, lime 1%, gypsum 1%; formula 2: apple wood 39%, oak 39%, Bran 20%, lime 1%, gypsum 1%; formula 3: apple wood 78%, bran 20%, lime 1%, gypsum 1%) for testing. The activities of four extracellular enzymes, carboxymethyl cellulase, hemicellulase, amylase and laccase at different stages, the yield of shiitake mushroom and the content of nutrients in fruiting bodies were detected. The results showed that the activities of carboxymethyl cellulase and amylase in formula 2 were higher than those in formula 1 and formula 3 in mushroom color change period and budding period certain periods of growth; the total yield and biological efficiency of formula 2 were the highest, and the average yield per bag was 1 126.1g, which compared with formula 1 and formula 3, the yield was increased by 6.87% and 22.60% respectively; the content of amino acid, protein and Vc in the fruiting bodies of *L.edodes* in formula 2 were higher than that in formula 1 and 3. Therefore, the use of oak and apple wood mixed compost can improve the yield and quality of *L.edodes*.

Key words: *Lentinula edodes*; Cultivation material; Extracellular enzyme; Yield; Quality

香菇(*Lentinula edodes*)是一种担子菌,也是典型的木腐菌,香菇营养价值丰富,脂肪含量低,纤维素、蛋白质含量高,同时还含有 B 族维生素、矿物质以及多糖、多糖肽、凝集素等多种功能性代谢产物^[1]。前人研究表明,香菇多糖具有抗菌、抗氧化、抗癌和免疫调节活性,因此也具有一定的药用价值^[2]。食用菌胞外酶是在生长过程中分泌到细胞外

的一种物质,能够降解木质素、纤维素等高分子有机物,为菌丝和子实体生长提供营养物质,目前胞外酶的研究在平菇^[3]、秀珍菇^[4]、银耳^[5]等多种食用菌中已有广泛报道。食用菌胞外酶系丰富,目前针对香菇的胞外酶研究主要集中在纤维素酶系、半纤维素酶系、木质素降解酶系和淀粉酶^[6],胞外酶活性的大小和变化规律受到多种因素的影响,栽培料也是

收稿日期:2022-05-24;修回日期:2022-09-06

基金项目:河南省现代农业产业技术体系(Z2013-09-03)

作者简介:楚晓真,女,助理研究员,主要从事食用菌高效栽培技术方面的研究工作。E-mail:chuxiaozhen221@126.com

其中之一。

近年来,随着香菇产业的不断发展壮大,香菇产量不断增加的同时对原料的需求也随之增加,栎木作为广泛使用的栽培原材料,原料短缺问题也尤为突出^[7]。因此,对于替代原料的研究也越来越多,利用桑枝^[8]、葡萄木屑^[9]的研究表明,添加不同比例的替代木屑对香菇菌丝生长、胞外酶活性和子实体品质具有不同程度的影响。前人利用苹果木屑作为替代料的研究主要集中在利用单一苹果木屑作为栽培料^[10-11],而苹果木与栎木混合料对于香菇胞外酶活性和品质影响的研究较少。笔者探究了苹果木、栎木及其混合料3种不同培养料对香菇胞外酶活性、产量以及子实体品质,以期对香菇新培养料的开发和利用以及进行香菇栽培提供理论支持。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

供试菌种为香菇9608,由郑州市蔬菜研究所食用菌实验室保存。该菌株是由西峡县食用菌科研中心选育,菌株适应性广、抗霉菌能力强、耐高温、发菌速度快,是适宜北方栽培的优良高产菌株。供试培养料由郑州市蔬菜研究所食用菌课题组提供。

1.2 试验设计

试验于2021年3月至2022年1月在郑州市蔬菜研究发展中心进行。试验设置3种不同的培养料配方(表1)。每个配方100袋,单袋培养料干质量为1.25 kg,分别在菌丝生长半袋期、满袋期、转色期、现蕾期、第一次成熟期检测香菇的胞外酶活性,在第一潮菇采收后,送至河南省农业科学院检测子实体中化学组分。

表1 培养料配方

配方	w(原料组成)/%				
	栎木	苹果枝	麸皮	石灰	石膏
1	78	0	20	1	1
2	39	39	20	1	1
3	0	78	20	1	1

1.3 方法

1.3.1 粗酶液的制备 在香菇生长的不同阶段,随机挑取3个菌棒,捣碎并混合均匀,称取5 g,加入25 g去离子水,40℃浸提2 h,5000 r·min⁻¹,4℃离心10 min,离心机为日立CR21GII(下同),取上清液即为粗酶液。

1.3.2 胞外酶活性的测定 羧甲基纤维素酶活性^[12]:取1.5 mL 0.5%羧甲基纤维素钠溶液(pH为

4.6,0.1 mol·L⁻¹醋酸钠缓冲液配制)至试管中,加入500 μL粗酶液,混匀后,50℃水浴保温30 min,水浴锅为北京科伟永兴仪器有限公司HH-S6A(下同)。取出后,加入DNS试剂1.5 mL,煮沸5 min,取出后冷却至室温,加入蒸馏水定容至20.0 mL,混匀后测定OD₅₄₀,分光光度计为上海美析仪器有限公司UV-1700PC(下同)。试验同时以煮沸灭活的粗酶液作为对照。羧甲基纤维素酶活力单位定义:1 g干培养物中的酶与底物作用30 min释放出1 mg葡萄糖为一个酶活力单位。

半纤维素酶活性:取1.5 mL 0.5%木聚糖溶液(pH为4.6,0.1 mol·L⁻¹醋酸钠缓冲液配制)至试管中,加入500 μL粗酶液,混匀后,50℃水浴保温30 min。其后操作同羧甲基纤维素酶活性测定。半纤维素酶活力单位定义:1 g干培养物中的酶与底物作用30 min释放1 mg木糖为一个酶活力单位。

淀粉酶活性^[13]:取1.5 mL 0.5%的可溶性淀粉溶液(pH为5.8,0.1 mol·L⁻¹醋酸钠缓冲液配制)至试管中,加入500 μL粗酶液,混匀后,38℃水浴保温30 min。取出后,加入DNS试剂1.5 mL,煮沸5 min,取出后冷却至室温,加入蒸馏水定容至20.0 mL,混匀后测定OD₅₂₀。试验同时以煮沸灭活的粗酶液作为对照。淀粉酶活力单位定义:1 g干培养物中的酶与底物作用30 min后释放1 mg葡萄糖为一个酶活力单位。

漆酶活性^[14]:取3.4 mL醋酸盐缓冲液(pH为4.6)、0.5 mL 3.36 mmol·L⁻¹邻联甲苯胺溶液和0.1 mL粗酶液,混匀后,28℃水浴30 min,取出后定容至20.0 mL,混匀后检测OD₆₀₀。漆酶活力单位定义:1 g干培养物中的酶每1 min使OD₆₀₀改变0.01为一个酶活力单位。

1.3.3 产量测定 香菇成熟时进行采收,第一潮菇于2021年11月20—29日采收,最后一潮菇于2022年1月20—27日采收,不同配方的菌棒随机抽取10棒称量第一潮菇产量和总产量,取其平均值,并用以下公式计算生物学效率。

生物学效率/%=子实体鲜质量/培养料干质量×100。

(1)

1.3.4 品质指标分析 香菇收获后,不同配方的菌棒每组随机挑选5袋,称取2 kg子实体进行子实体化学组分检测。采用GB 5009.5—2016^[15]测定蛋白质含量;采用GB 5009.86—2016^[16]测定维生素C含量;采用NY/T 1676—2008^[17]测定粗多糖含量;采用GB 5009.3—2016^[18]测定水分含量;采用GB 5009.124—

2016^[19]测定氨基酸含量。

1.4 数据统计与分析

采用 SPSS 26.0 软件对数据进行单因素方差分析比较其显著性,采用 Excel 2017 制作图表。

2 结果与分析

2.1 不同栽培料香菇菌丝胞外酶活性的变化

由图 1 可以看出,在 3 种不同的配方中,羧甲基纤维素酶活性均呈现出随着香菇的生长逐渐增强趋势。转色期和现蕾期配方 2 的酶活性均高于配方 1 和配方 3。转色后,酶活性继续上升,在第一潮菇成熟时,3 种配方中羧甲基纤维素酶活性均达到最大值,分别为 6.41、6.79、7.38 $U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$,配方 3 酶活性高于配方 1 和 2。

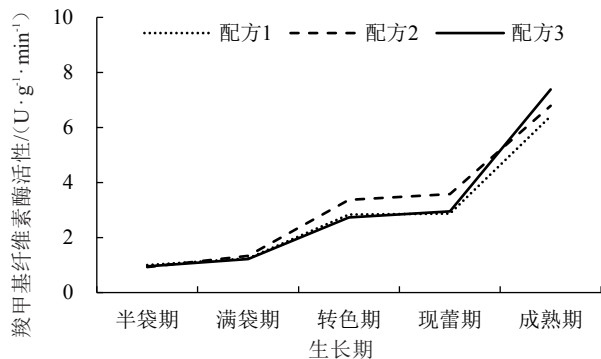


图 1 羧甲基纤维素酶活性的变化

由图 2 可以看出,在 3 种配方中,半纤维素酶活性的变化趋势一致,均呈现出先升高后降低趋势。菌丝半袋和满袋时期,酶活性较低,之后转色期和现蕾期酶活性升高,在转色期半纤维素酶活性表现为配方 3>配方 2>配方 1。在现蕾期,配方 2 和配方 3 酶活性基本持平且均高于配方 1。随后,在子实体成熟后,半纤维素酶活性下降。

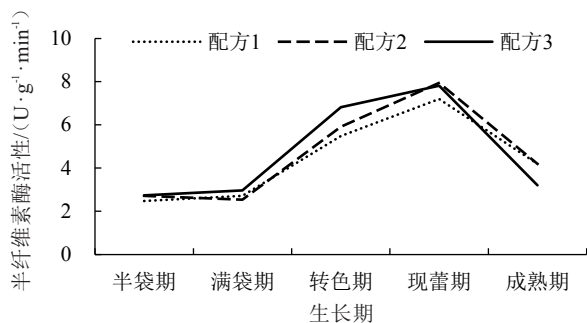


图 2 半纤维素酶活性的变化

由图 3 可以看出,香菇淀粉酶活性变化规律配方 1 和 3 随生育进程呈先上升后下降的趋势,配方 2 满袋期后也呈先上升后下降的趋势。在香菇营养生长阶段,淀粉酶活性逐渐升高,在转色期酶活性达到最大,酶活性大小依次为配方 2>配方 3>配方

1。随后,在子实体成熟期,淀粉酶活性下降。这表明在香菇子实体成熟前,淀粉酶对淀粉的分解为菌丝生长提供了大量碳源。

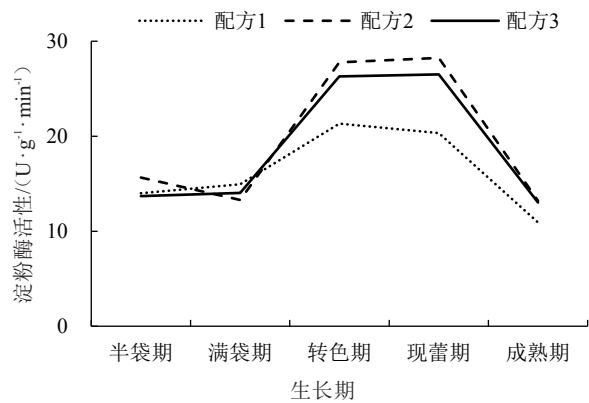


图 3 淀粉酶活性的变化

从图 4 可以看出,配方 1 除转色期漆酶活性略有升高,在其他生育期均呈下降趋势,配方 2 和 3 漆酶活性均随生育进程逐渐降低,但不同时期酶活性大小有差异。菌丝半袋期时,漆酶活性最高,酶活性高低依次为配方 1>配方 2>配方 3,满袋后,漆酶活性降低,转色期配方 1 中漆酶有小幅度的升高,之后随着原基的出现和子实体的成熟,漆酶活性急剧下降,在子实体成熟期,3 种配方漆酶活性均最低。

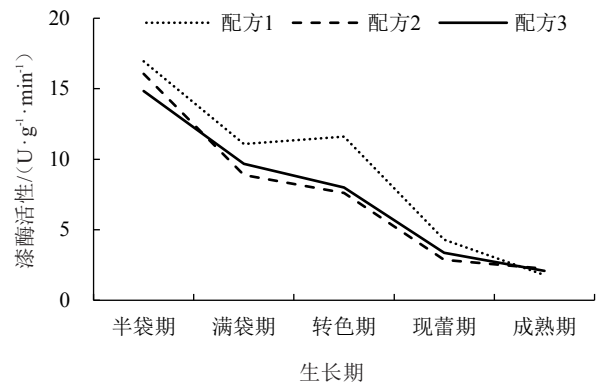


图 4 漆酶活性的变化

2.2 不同培养料配方对香菇子实体产量和生物学效率的影响

从表 2 中可以看出,配方 2 和配方 3 第一潮菇产量显著高于配方 1,总产量和生物学效率均表现为配方 2>配方 1>配方 3。这表明配方 3 出菇主

表 2 不同配方香菇子实体产量和生物学效率

配方	第一潮菇产量/(g·袋 ⁻¹)	总产量/(g·袋 ⁻¹)	生物学效率/%
1	497.2 b	1 053.7 b	84.30 b
2	527.1 a	1 126.1 a	90.08 a
3	518.3 a	918.5 c	73.48 c

注:同列数字后不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下同。

要集中在第一潮,但总产量较低。配方1虽然第一潮菇产量低,但总产量和生物学效率显著高于配方3。配方2为栎木和苹果木混合基质,不仅第一潮菇产量高且总产量和生物学效率也较单一木料有所提高。

2.3 不同培养料配方对香菇子实体化学组分的影响

由表3可以看出,配方2子实体氨基酸总量

(29.51 g·kg⁻¹)显著高于配方1(25.80 g·kg⁻¹)和3(24.34 g·kg⁻¹),在检测的16种氨基酸中,配方2有10种氨基酸含量显著高于配方1,有13种氨基酸含量显著高于配方3。

从表4可以看出,3种配方子实体含水量、粗多糖含量均无显著差异,配方2香菇子实体中蛋白质含量比配方1和配方3分别显著提高12.63%和18.89%;配方2子实体的维生素C含量也显著高于

表3 不同配方对香菇子实体氨基酸含量的影响

(g·kg⁻¹)

项目	天冬氨酸	苏氨酸	丝氨酸	谷氨酸	甘氨酸	丙氨酸	缬氨酸	蛋氨酸	异亮氨酸	亮氨酸	酪氨酸	苯丙氨酸	赖氨酸	组氨酸	精氨酸	脯氨酸	总和
配方1	2.34 b	1.35 b	1.38 b	5.74 b	1.40 b	1.81 b	1.28 ab	0.54 a	1.16 ab	1.96 b	0.62 a	1.30 b	1.74 b	0.70 a	1.44 b	1.04 a	25.80 b
配方2	2.66 a	1.50 a	1.54 a	7.20 a	1.56 a	2.06 a	1.41 a	0.60 a	1.25 a	2.08 a	0.69 a	1.48 a	1.93 a	0.80 a	1.63 a	1.12 a	29.51 a
配方3	2.21 b	1.22 b	1.30 b	5.46 b	1.39 b	1.76 b	1.20 b	0.52 a	1.11 b	1.69 c	0.65 a	1.24 b	1.65 c	0.55 b	1.33 b	1.06 a	24.34 c

其他2种配方。

表4 不同配方对香菇子实体水分、蛋白质、粗多糖和维生素C含量的影响

配方	w(水分)/(g·100 g ⁻¹)	w(蛋白质)/(g·100 g ⁻¹)	w(粗多糖)/(g·100 g ⁻¹)	w(维生素C)/(mg·100 g ⁻¹)
1	83.30 a	3.80 b	1.26 a	12.00 b
2	84.00 a	4.28 a	1.30 a	14.40 a
3	83.55 a	3.60 b	1.19 a	13.45 b

3 讨论与结论

香菇胞外酶活性的变化规律反映了香菇生长发育过程中对营养的利用情况,潘迎捷等^[20]研究表明,香菇在生长的不同阶段对底物的降解程度不同,香菇菌丝营养生长阶段主要利用木质素,在生殖生长阶段主要利用纤维素,漆酶主要降解木质素,因此在营养生长阶段漆酶活性较高,而羧甲基纤维素酶和半纤维素酶活性在生殖生长阶段较高,笔者的试验结果与此结论基本一致。培养料也是影响食用菌胞外酶活性的因素之一,笔者试验研究表明,在不同基质中食用菌胞外酶活性存在一定差异,但并不影响酶活性变化规律,这与吴周斌等^[21],胡素娟等^[22]研究结果一致。笔者的试验中,配方2的羧甲基纤维素酶和淀粉酶活性在转色期和现蕾期高于配方1和配方3,但半纤维素酶活性在转色期配方3高于配方1和配方2,这可能是由不同培养料配方中碳氮比不同以及栎木、苹果木化学成分含量不同导致的^[23-24]。

不同的培养料配方对香菇产量和子实体品质也有不同程度的影响。胡桂萍等^[25]用桑枝替代杂木的试验表明,随着桑枝替代比例的升高,香菇产量

和生物学效率先升高后降低。笔者的试验结果表明,配方3用单一苹果木作为基质,虽然第一潮菇产量较配方1高,但总产量较低,配方2将栎木和苹果木混合作为基质,其第一潮菇产量、总产量和品质较单一栎木和单一苹果木都有提高,这可能是由于混合后基质综合了栎木和苹果木的特点,第一潮菇产量高的同时,也有一定出菇后劲,保证了产量,因此生产上可采用苹果木与栎木混合的方式作为香菇生产基质。另外基于苹果木的特性,用其制作香菇菌棒可用于对第一潮菇产量需求较高的地区,例如出口国外^[26]。对香菇子实体内化学组分的检测表明,栎木和苹果木混合基质能提高香菇子实体氨基酸、蛋白质和维生素C含量,这可能是由于不同栽培基质条件下香菇氮、磷、钾利用效率不同^[27]。

综上所述,栎木和苹果混合后的培养料对香菇生长有一定促进作用,尤其在提升香菇产量和子实体品质方面,而栎木和苹果木混合作为基质是否还有最优比例,以及苹果木基质对子实体品质作用的机制都有待进一步研究,下一步可增加配方种类,并检测菌棒中营养元素的变化,从而筛选出菌棒最优配方,为提高香菇品质奠定理论基础。

参考文献

- [1] 李萌萌,章文贤.香菇功能食品研发概况[J].中国果菜,2021,41(1):21-25.
- [2] 连希希,孙佳宁,孙伶俐,等.香菇多糖的研究进展[J].化学与生物工程,2022,39(2):1-5.
- [3] 方洪枫,赵光辉,吴汉琼,等.平菇胞外酶研究进展综述[J].食用菌,2020,28(4):248-251.
- [4] 闫静,王伟科,袁卫东,等.温度对秀珍菇生长发育及胞外酶活性的影响[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2020,46

- (2):161-167.
- [5] 陈岗,詹永,杨勇,等.温度对银耳胞外酶活力及营养品质特性的影响[J].食品科学,2017,38(23):113-120.
- [6] 徐秀红,陈阿敏,裴芸,等.香菇液体和固体菌种在栽培料中胞外酶活性分析[J].分子植物育种,2021,19(20):6933-6941.
- [7] 黄毅,郑永德,张长本.菌林矛盾成为制约香菇、黑木耳产业发展的瓶颈[J].食用菌,2018,26(6):333-337.
- [8] 徐建俊,李彪,孙传齐,等.桑枝屑香菇与杂木屑香菇的品质比较[J].北方园艺,2016(3):134-137.
- [9] 贺春玲,李明,田景花,等.葡萄木屑栽培香菇配方筛选及胞外酶活性研究[J].中国食用菌,2019,38(7):43-49.
- [10] 薛变丽,段超,李波,等.苹果枝木屑春栽香菇试验[J].山西农业科学,2015,43(3):290-292.
- [11] 李伟霞,靳爱花,高九思,等.苹果剪枝栽培香菇试验研究[J].现代农业科技,2012(17):75-79.
- [12] 杨洁,阿木力,李福成,等.饲用纤维素酶活力测定方法的改进[J].新疆大学学报(自然科学版),2005,22(3):322-324.
- [13] 周景祥,王桂芹,余涛.蛋白酶和淀粉酶活性检测方法探讨[J].中国饲料,2001(11):23-24.
- [14] 林俊芳,刘志明,陈晓阳,等.真菌漆酶的酶活测定方法评价[J].生物加工过程,2009,7(4):1-8.
- [15] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定:GB 5009.5-2016[S].北京:中国标准出版社,2017.
- [16] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.食品安全国家标准 食品中抗坏血酸的测定:GB 5009.86-2016[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [17] 中华人民共和国农业部.食用菌中粗多糖含量的测定:NY/T 1676-2008[S].北京:中国农业出版社,2008.
- [18] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.食品安全国家标准 食品中水分的测定:GB 5009.3-2016[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [19] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定:GB 5009.124-2016[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [20] 潘迎捷,倪新江,李人圭.香菇生长过程中木质纤维素的生物降解规律[J].食用菌学报,1995,2(2):18-22.
- [21] 吴周斌,张健,王佳敏,等.不同培养料对真姬菇胞外酶活性的影响[J].北方园艺,2015(8):145-149.
- [22] 胡素娟,段亚魁,康源春,等.2种基质对平菇胞外酶活性、产量及品质的影响[J].河南农业科学,2018,47(3):96-99.
- [23] 陈媛,甘家兵,李珊,等.我国栓皮栎和麻栎木材的主要化学成分分析[J].木材工业,2019,33(6):54-58.
- [24] 宁黎黎,陈桂华.苹果木材的化学成分分析[J].山东林业科技,2008(2):28-29.
- [25] 胡桂萍,黄金枝,王亚威,等.桑枝屑代料栽培对香菇性状的影响[J].农学学报,2021,11(12):95-99.
- [26] 王秀清,郭旭彦.利用苹果木生产香菇研究进展[J].天津农业科学,2021,27(4):24-27.
- [27] 张锁峰,李青,韩鹏远,等.不同栽培基质条件下香菇氮磷钾运转情况研究[J].农学学报,2018,8(9):64-66.