

褐藻寡糖对杏鲍菇菌丝体生长的影响

毕旺华, 冯晓梅, 李建杰, 周鲁宁* (国家海洋药物工程技术研究中心, 山东青岛 266000)

摘要 [目的] 为了研究海洋活性物质褐藻寡糖对杏鲍菇的影响。[方法] 在培养基中加入不同浓度的褐藻寡糖, 测定杏鲍菇固体平板培养菌丝体的生长速度、液体发酵菌丝体干重及发酵过程中纤维素酶活力。[结果] 褐藻寡糖浓度为 0.001 mg/ml 的试验组菌丝体生长速度、菌丝体生物量、纤维素酶活性较其他试验组差异极显著。[结论] 低浓度的褐藻寡糖对杏鲍菇生长具有明显的促进作用。

关键词 褐藻寡糖; 杏鲍菇; 菌丝体; 纤维素酶

中图分类号 S646 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)31-10841-01

Influence of Algae Oligose on Growth of *Pleurotus eryngii*

BI Wang-hua, FENG Xiao-mei, LI Jian-jie, ZHOU Lu-ning* (National Engineering Research Center for Marine Drugs, Qingdao, Shandong, 266000)

Abstract [Objective] The research aimed to study the influence of the marine active substances of algae oligosaccharides on *Pleurotus eryngii*. [Method] By adding different concentrations of algae oligosaccharides into medium, the growth rate of mycelium which grew on the solid plate culture of *Pleurotus eryngii*, dry weight of fermentation mycelium, and the cellulase activity in fermentation were measured. [Result] When the concentration of the algae oligosaccharide was 0.001 mg/ml, the growth rate of mycelium, the biomass of mycelium and the cellulase activity were more different than other group. [Conclusion] The effect of algae oligosaccharide with low concentration on the growth of *Pleurotus eryngii* was great.

Key word Brown algae oligosaccharides; *Pleurotus*; Mycelium; Cellulase

杏鲍菇(*Pleurotus eryngii*)学名刺芹侧耳, 菌肉肥厚, 质地脆嫩, 其主要营养成分较齐全, 蛋白质、纤维素、多糖及矿物质含量较高, 脂肪含量低, 有降血压、降血脂、预防肿瘤、增强肌体免疫力的功效。褐藻寡糖是海洋大型经济藻类海带细胞壁多糖褐藻酸钠提取降解得到的低分子寡糖, 其分子结构是由 β -D 甘露糖醛酸(ManA)和其 C-5 差向异构体 α -L 古洛糖醛酸(GulA)通过 1-4 糖苷键连接而成。褐藻寡糖分子量低, 水溶性强, 稳定性高, 具有很多生物活性, 如抗肿瘤^[1-2]、抑菌^[3]、抗逆性^[4]等。褐藻寡糖在食品、医药等领域有广阔的研究前景^[5]。笔者通过添加不同浓度的褐藻寡糖, 检测相关指标, 探讨褐藻寡糖对杏鲍菇菌丝体生长的影响^[6]。

1 材料与方 法

1.1 试验材料 供试菌种为杏鲍菇, 由章丘市食用菌研究所提供; 供试褐藻寡糖由国家海洋药物工程技术研究中心制备提供。PDA 基础培养基组成为马铃薯(去皮)200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 ml; 平板培养基组成为马铃薯(去皮)200 g, 葡萄糖 20 g, 蛋白胨 2 g, 磷酸二氢钾 2 g, 硫酸镁 1 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 ml; 液体菌种活化培养基组成为: 马铃薯(去皮)200 g, 葡萄糖 20 g, 蛋白胨 2 g, 磷酸二氢钾 2 g, 硫酸镁 1 g, 水 1 000 ml; 液体培养基组成为: 马铃薯(去皮)50 g, 葡萄糖 10 g, 磷酸氢二钾 0.05 g, 磷酸二氢钾 0.3 g, 硫酸镁 0.3 g, 玉米粉 15 g, 水 1 000 ml。

1.2 试验方 法

1.2.1 杏鲍菇固体菌丝体生长。将杏鲍菇菌种于 PDA 基础培养基 25 ℃ 活化 3~5 d, 至菌丝体长满平板, 取 5 mm × 5 mm 大小的杏鲍菇菌块接种于菌丝体生长的平板培养基中, 每组 5 个重复, 25 ℃ 培养直至菌丝体生长到整个平板的 2/3 为止, 每天记录 1 次, 观察菌丝体生长情况。

1.2.2 杏鲍菇液体培养。将杏鲍菇菌种接种于液体活化培养基, 在 25 ℃ 恒温培养箱中 120 r/min 活化 5 d 后, 按照 5% 的比例添加到试验组液体培养基中培养 7 d, 测定发酵液中菌丝体生物量、发酵液中纤维素酶活力。

1.2.3 纤维素酶活测定。准确量取 1 mg/ml 葡萄糖标准溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 ml 于 25 ml 试管中, 并且加蒸馏水至 1 ml, 再加入 3,5-二硝基水杨酸显色液 3 ml, 摇匀后在沸水浴中加热显色 10 min, 取出, 冷却至室温, 再加蒸馏水至 25 ml, 摇匀后在 550 nm 波长下测定其吸光值, 以葡萄糖浓度为横坐标, 以吸光值为纵坐标, 绘制标准曲线^[7-8]。

将发酵液在 3 000 r/min 下离心 1 min 后, 取离心后上清液 1 ml, 并用蒸馏水定容到 100 ml 容量瓶中, 取定容后发酵液 1 ml 于试管中, 对照取定容后发酵液 1 ml 后沸水浴加热 5 min, 然后均分别加入浓度 0.5% 羟甲基纤维素钠水溶液(CMC)3 ml, 摇匀后在 50 ℃ 水浴锅中加热 30 min, 取出后立即于沸水浴中加热 10 min, 使酶失活, 冷却后加入 3,5-二硝基水杨酸显色液 3 ml, 摇匀后在沸水浴中加热显色 10 min, 取出冷却至室温, 再加蒸馏水至 25 ml, 摇匀后在 550 nm 波长下测定其吸光值。每个样品 3 个平行。

纤维素酶活力单位 = (纤维素酶吸光值所对应的标准曲线的葡萄糖含量 × 稀释倍数) / (糖化所用时间 × 反应酶液体积)

2 结果与分析

2.1 不同浓度的褐藻寡糖对杏鲍菇菌丝体生长的影响 纤维素酶标准曲线见图 1。由表 1 可知, 不同浓度的褐藻寡糖对杏鲍菇菌丝体的生长均有促进作用; 褐藻寡糖浓度为 0.001 mg/ml 时菌丝体生长最快, 为 0.56 cm/d, 菌丝茂盛, 与对照组差异在 0.01 水平显著, 而添加量为 0.100 与 0.010 mg/ml 的褐藻寡糖的试验组对杏鲍菇的菌丝体有促进作用, 但是彼此之间差异不显著。

作者简介 毕旺华(1986-), 男, 山东青岛人, 助理工程师, 从事食用菌液体发酵方面的研究。* 通讯作者, 高级工程师, 从事海洋寡糖工程化研究。

收稿日期 2014-09-24

高度细胞分裂素活性的棉花脱叶剂,当 TDZ 浓度为 0.01 mg/L 时,勿忘我离体培养芽增殖的能力相当于 6-BA 0.4 mg/L 时的增殖能力。当 TDZ 浓度为 0.04 和 0.06 mg/L 时,芽的增殖效果与不加任何试剂差异不大。

3.4 最佳生根培养基 观察发现,NAA 诱导生根,根基部愈伤组织较少,根粗壮,数量多,且有一定的长度;IBA 则根少细长。结果表明,试管苗生根以 0.4 mg/L NAA 效果较好,其次是 0.6 mg/L NAA 和 0.2 mg/L IBA。在植物试管苗微型繁殖诱导生根阶段,由于培养环境的高温、高湿和弱光等因素的影响,常使得芽苗徒长和根系纤弱,导致再生小植株的抗逆性差和移栽成活率低。这表明,低浓度的 PP333 对根的生长有促进作用,生根率与对照组只加 0.4 mg/L NAA 差异

不大,但可以使根加粗,而高浓度时所需根长时间明显缩短,生根率降低,根特粗。从苗长势来看,以在生根培养基中附加 0.02% PP333 的长势为好。

参考文献

- [1] 金波. 鲜切花栽培技术手册 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 50-65.
- [2] 周昆华, 易栽培. 久不凋的花卉勿忘我 [J]. 云南农业科技, 1993(6): 36.
- [3] 高丽霞, 邢柏芝. 补血草组织培养试验 [J]. 北方园艺, 1999(2): 5.
- [4] 陈佳瀛, 杜秀达. 补血草的组织培养和快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 2002, 12(6): 594.
- [5] 王秀丽, 杨煜, 徐平丽, 等. 植物组织培养的应用及进展 [J]. 山东农业科学, 2005(3): 78-80.
- [6] 王文静, 袁道强, 高松洁. 植物组织培养的应用现状 [J]. 河南师范大学学报, 2000(3): 137-139.

(上接第 10841 页)

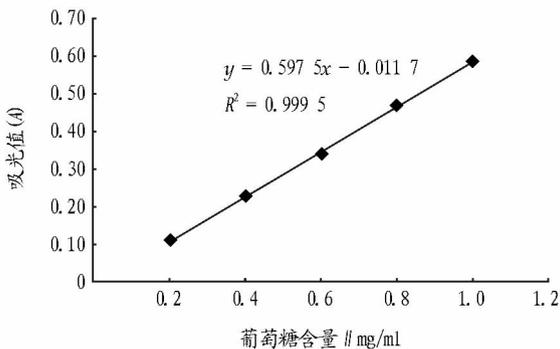


图1 纤维素酶标准曲线

表1 不同浓度的褐藻寡糖对杏鲍菇菌丝体生长的影响

试验组别 mg/ml	生长速度 cm/d	菌丝体干重 g/L	纤维素酶活 U/ml
0.001	0.56 aA	9.1 aA	36.42 aA
0.010	0.46 bB	7.2 bB	26.25 bB
0.100	0.42 bB	4.8 dD	11.93 dD
空白对照	0.36 cC	6.2 cC	17.68 cC

注: 同列不同大小写字母分别表示差异在 0.01、0.05 水平显著。

2.2 不同浓度的褐藻寡糖对杏鲍菇液体发酵菌丝体生物量的影响 由表 1 可知,不同浓度的褐藻寡糖对杏鲍菇液体发酵菌丝体生物量的影响差异在 0.05 水平显著,其中添加量为 0.001 mg/ml 的试验组菌丝体生物量与对照组相比差异在 0.01 水平显著,菌丝体干重为 9.1 g/L,添加量为 0.100 mg/ml 的试验组与对照组相比对菌丝体生长的有一定的抑制作用,菌丝体干重为 4.8 g/L。

2.3 不同浓度的褐藻寡糖对杏鲍菇液体发酵纤维素酶活的影响 由表 1 可知,试验组与对照组之间存在 0.01 水平显著性差异,添加量为 0.001 mg/ml 的试验组褐藻寡糖对杏鲍菇产生纤维素酶的促进作用最明显,纤维素酶活为 36.42 U/ml,添加量为 0.100 mg/ml 的试验组相比空白对照组对杏鲍菇纤维素酶的分泌有一定的抑制作用,纤维素酶活只有

11.93 U/ml,相对于空白对照组下降 48.19%。由此可知,高浓度的褐藻寡糖对杏鲍菇产纤维素酶有一定的抑制作用,随着浓度的降低,对纤维素酶分泌的促进作用越明显。

3 结论与讨论

研究表明,褐藻寡糖对杏鲍菇菌丝体生长、液体发酵菌丝体生物量及发酵液中纤维素酶活在一定的浓度下具有促进作用,如平板培养浓度为 0.001 mg/ml 褐藻寡糖试验组杏鲍菇菌丝体生长速度最快,而 0.100 与 0.010 mg/ml 的试验组菌丝体生长速度无明显差异;在液体培养中添加 0.001 mg/ml 试验组液体发酵培养菌丝体生长最快,菌丝体生物量较其他试验组差异在 0.01 水平显著,为 9.1 g/L,而 0.100 mg/ml 的试验组对液体发酵菌丝体的生长有一定的抑制作用,菌丝体干重为 4.8 g/L;添加 0.010 mg/ml 的褐藻寡糖可明显提高杏鲍菇产纤维素酶的活性;添加 0.001 g/ml 的褐藻寡糖对杏鲍菇生长的各个性能指标均有明显的促进作用。由此可知,褐藻寡糖对杏鲍菇菌丝体生长速度、菌丝体生物量、纤维素酶活性具有促进作用,低浓度的试验组较高浓度的试验组的促进作用明显。目前,褐藻寡糖对杏鲍菇菌丝体作用机理尚在研究中,但褐藻寡糖在食药菌的应用中具有较好的前景。

参考文献

- [1] HU X K, JIANG X L, WANG H M. Antitumour activities of alginate-derived oligosaccharides and their sulphated substitution derivatives [J]. European Journal of Phycology, 2004, 39(1): 67-71.
- [2] IWAMOTO Y, XU X, TAMURA T, et al. Enzymatically depolymerized alginate oligomers that cause cytotoxic cytosine production in human mononuclear cells [J]. Biosci Biotech Biochem, 2003, 67(2): 258-263.
- [3] 陈丽, 张林维, 薛婉立. 褐藻寡糖的制备及其抑菌性研究 [J]. 中国饲料, 2007(9): 34-35.
- [4] 刘端志, 江晓路, 管华诗. 褐藻寡糖激发诱导烟草抗低温作用的研究 [J]. 中国海洋大学学报, 2009, 39(2): 243-248.
- [5] 周绪霞, 徐盛, 丁玉庭. 酶解制备褐藻胶寡糖及其产物的抗氧化活性分析 [J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(2): 116-120.
- [6] 袁建平, 刘小杰, 高永闯, 等. 壳寡糖对杏鲍菇菌丝生长的影响 [J]. 广东农业科学, 2010(8): 58-59.
- [7] 张龙翔, 张庭芳. 生化试验方法和技术 [M]. 北京: 人民教育出版社, 1982: 9-10.
- [8] 杨新美. 食用菌研究法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 12.