

图 2 不同温度条件下  $\text{NaNO}_3$  处理对西洋参种子萌发过程 G6PDH 活性的影响

理相比,在室温和低温下  $\text{NaNO}_3$  都提高了 G6PDH 酶的活性,而且后者效果比前者稍强,与对种子萌发率的影响类似。这初步说明呼吸抑制剂  $\text{NaNO}_3$  通过增加 PPP 的作用而促进西洋参种子萌发。

### 3 讨论

关于 PPP 途径在解除种子休眠中的可能作用首先是由 Major<sup>[4]</sup>提出的, Gaber 在研究了休眠和不休眠的大麦中 PPP 的相对活性后证实了这种观点。随后 Simmonds 和 Simpson<sup>[5]</sup>以及 Black<sup>[6]</sup>对野燕麦休眠过程中糖代谢途径由 EMP/TCA 到 PPP 的转变和 G6PDH 活性的测试都证明,在休眠和不休眠的大麦品种中,氧消耗量和脂肪含量均近似,所以代谢途径由 EMP/TCA 转向 PPP 才是休眠解除的原因。其他许多研究用呼吸抑制剂处理种子,都加速了种子休眠的解除。这说明了种子休眠的解除取决于某些氧化反应而不是通常的呼吸作用。以上这些

研究结果成为 PPP 解除休眠机制学说“休眠的打破是糖代谢方式从 EMP/TCA 转向 PPP 的结果”的基础。

本研究的结果表明, G6PDH 活性与西洋参种胚前期发育(形态后熟)的关系不大,而对种胚休眠的解除和种子萌发至关重要。呼吸抑制剂  $\text{NaNO}_3$  可以增加西洋参种子萌发过程中 G6PDH 的活性,与对照处理相比,在室温和低温下  $\text{NaNO}_3$  都提高了 G6PDH 酶的活性和种子萌发率,而且  $\text{NaNO}_3$  和低温存在协同作用。有关外源激素对西洋参种子萌发过程中 G6PDH 的活性的调节作用我们将做进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 蒋传葵. 工具酶活力测定 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982.
- [2] Leonard P S, John C. S. Embryo growth and germination of American ginseng in response to stratification temperatures [J]. Hort Sciences, 1985, 20(2): 261-262.
- [3] Jaceong J, Frank A B, Thomss R K. Postharvest seed maturation of American ginseng: Stratification temperatures and delay of stratification [J]. Hort Sciences, 1988, 23(6): 995-997.
- [4] Major W, Roberts E H. Dormancy in cereals. II. The nature of gaseous exchange in imbibed barley and rice seeds [J]. Journal of Experimental Botany. 1968, 19: 90-101.
- [5] Simmonds J A, Simpson G M. Increased participation of pentose phosphate pathway in response to afterripening and gibberelic acid treatment in caryopses of *Avena fatua* [J]. Canadian J Botany. 1971, 49: 1843-1840.
- [6] Berley J D, Black M. Physiology and Biochemistry of Seeds, Vol. H [M]. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1988.

## $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 对猴头菌生长的影响

何冬兰, 石其德\*

(中南民族学院化学系, 湖北 武汉 430074)

**摘要:** 目的 为探索  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  对猴头菌 *Hericium erinaceum* (Bull.) Pers. 菌丝生长的影响及其生化机制。方法 在猴头菌菌丝发酵液中, 加入不同浓度的  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ , 接种培养 7 d 后, 测定菌丝生长量及菌丝生长期间胞外酶的活性。结果 0.75~1.5 mmol/L 的  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  可显著提高猴头菌丝的生长; 0.005~2.0 mmol/L 的  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  可提高猴头菌丝生长期间胞外蛋白酶、纤维素酶、淀粉酶的活性及蛋白质的含量, 且当  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度为 1.0 mmol/L 0.75 mmol/L 时, 这 3 种酶的活性及蛋白质含量分别达到最高。结论 0.75~1.5 mmol/L 的  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  促进菌丝分泌胞外蛋白, 从而提高了猴头菌丝胞外蛋白酶、纤维素酶、淀粉酶的活性, 酶活性的提高又促进菌丝的生长。因此, 在培养猴头菌丝时, 可在培养液中加入 0.75~1.5 mmol/L 的  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  以促进菌丝的生长。

**关键词:**  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ ; 猴头菌; 生长; 胞外酶

中图分类号: S567

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2001)03-0261-03

\* 收稿日期: 2000-02-25; 修回日期: 2000-07-17

基金项目: 国家民委资助项目, 批准号: M 2Y98001

作者简介: 何冬兰(1964-), 女, 湖北孝感人, 硕士研究生, 中南民族学院化学系副教授。现从事微生物方面的教学与科研, 主要致力于稀土对微生物的生物学效应及机制研究, 已发表科研论文 19 篇。E-mail: hedonglan@hotmail.com

Effects of  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  on mycelium growth of *Hericium erinaceus*

HE Dong-lan, SHI Qi-de

(Department of Chemistry, South-Central College for Nationalities, Wuhan Hubei 430074, China)

**Key words**  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ ; *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.; growth; extracellular enzyme

猴头菌是一种兼有食用和药用价值的名贵食用菌。猴头菌营养丰富,蛋白质含量占干重的 26.3%,还含有丰富的维生素、多糖及微量元素。其多糖、多肽、脂肪族的酰胺类物质对消化道肿瘤有良好的防治效果,经常服用猴头菌能增强人体免疫力、降低胆固醇,有延年益寿之功效<sup>[1]</sup>。稀土由于其独特的理化特性,被广泛地应用于农业生产中,以促进农作物及食用菌的生长<sup>[2,3]</sup>,但未见稀土元素在猴头菌生产中的应用研究。本研究初步探讨了  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  对猴头菌丝生长及菌丝生长期间胞外酶活性的影响。

## 1 材料与方法

1.1 菌种:猴头菌 *Hericium erinaceum* (Bull. ex Fr.) Pers. 99菌株由华中农业大学菌种中心提供

## 1.2 培养条件及方法

1.2.1 固体培养基配制 (g/L): 麦麸 50,葡萄糖 20,蛋白胨 3,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1,琼脂 20, Vit B<sub>1</sub> 0.01,自然 pH。分装后,0.1~0.15 MPa 压力下灭菌 30 min 备用。

1.2.2 发酵培养液的配制 (g/L): 豆饼粉 15,蔗糖 30,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1,蛋白胨 1,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3。于培养液中加入  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  使之成为含有不同  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度的发酵培养液,以不加  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  者为对照,自然 pH。

1.2.3 接种及培养:在 150 mL 三角瓶中分别加入 50 mL 发酵培养液,灭菌后接种经斜面、平板活化,10 d 菌龄,直径为 0.5 cm 的菌种块,每瓶 10 块,重复 3 次,在 25℃,200 r/min 条件下振荡培养 7 d。

1.3 酶液的制备和生长量的测定:从培养 7 d 后的菌丝发酵液中挑取菌丝球,培养液于 4℃,5000 r/min 离心 15 min,分别收集上清液和菌体,菌体用蒸馏水清洗 3 次,合并上清液得粗酶液;菌丝球于 100℃ 加热 10 min 使琼脂融化,再离心集菌,用蒸馏水清洗 3 次,合并两次所得菌体烘干至恒重即可称重。

1.4 酶活性的测定:淀粉酶活性用 3,5-二硝基水杨酸法<sup>[4]</sup>测定,40℃,5 min 分解淀粉生成 1 mg 麦芽糖为 1 个活性单位 ( $U_1$ );纤维素酶活性用 CMC 糖化力法<sup>[5]</sup>测定(以还原糖表示),40℃,1 min 分解纤维素生成 1  $\mu$ g 葡萄糖为 1 个活性单位 ( $U_2$ );蛋白质、蛋白酶活性测定用 Folin-酚法<sup>[6]</sup>,30℃,1 min

分解蛋白质生成 1  $\mu$ g 酪氨酸为 1 个酶性单位 ( $U_3$ )

## 2 结果与分析

2.1  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度对猴头菌丝生长的影响:0.005~2.0 mmol/L 的  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  均可促进猴头菌丝的生长(图 1),且在 0.005~1.0 mmol/L 的范围内,菌丝的生长量随  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度的增加而增加,当  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度为 1.0 mmol/L 时,菌丝干重为 4.19 g/L,比对照增加了 61.15%,而  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度为 2.0 mmol/L 时,促进作用反而有所下降,但仍高于 0.5 mmol/L  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  的促进作用。

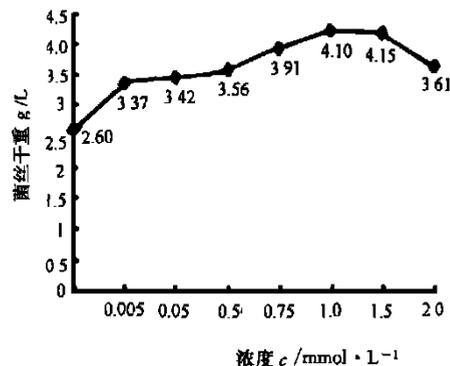


图 1  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度对猴头菌丝生长的影响

2.2  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度对淀粉酶活性的影响:0.005~2.0 mmol/L 的  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  可促进猴头菌丝生长期间胞外淀粉酶的活性(图 2)。当  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度不足 0.05 mmol/L 时, $\alpha$ -淀粉酶活性随  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度的增加而直线上升,而在 0.05~0.75 mmol/L 范围内增加缓慢,当  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度为 1.0 mmol/L 时, $\alpha$ -淀粉酶活性达到最高,发酵液中的酶活性为 6.65 U/mL,较对照增加了 23.6 倍; ( $\alpha + \beta$ ) 淀粉酶活性的变化趋势同  $\beta$ -淀粉酶活性,在  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度为 0.005 mmol/L 时, ( $\alpha + \beta$ ) 淀粉酶活性及  $\beta$ -淀粉酶活性较对照无明显增加,但当  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度为 0.05~0.75 mmol/L 时, $\beta$ -淀粉酶及总淀粉酶活性迅速上升,且在  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度为 0.5 和 0.75 mmol/L 时,分别达到最高, $\beta$ -淀粉酶活性为 8.25 U/mL,较对照提高 24 倍, ( $\alpha + \beta$ ) 淀粉酶活性为 11.95 U/mL,较对照提高了 18.6 倍;当  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度在 0.75~1.0 mmol/L 范围内时, $\beta$ -淀粉酶及总淀粉酶活性迅速下降,在  $\text{La}(\text{NO}_3)_3$  浓度大于 1.0

mmol/L时,α-淀粉酶 β-淀粉酶及总淀粉酶活性随 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>浓度的增加而缓慢下降,但仍明显高于对照。

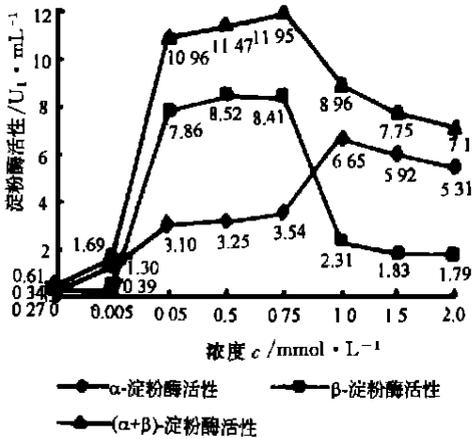


图 2 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>浓度对淀粉酶活性的影响

2.3 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>浓度对猴头菌丝胞外纤维素酶及蛋白酶活性的影响: 0.005~ 2.0 mmol/L的 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>可显著促进猴头菌丝生长期间胞外纤维素酶及蛋白酶的活性(图 3),且随 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>浓度的增加而迅速上升,纤维素酶的活性在 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>浓度为 1.0 mmol/L时达到最大,其活性为 97.79 U/mL,比对照提高了 580.13%,而当 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>浓度大于 1.0 mmol/L时,对纤维素酶活性的促进作用缓慢下降,但仍明显高于对照;蛋白酶的活性在 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>浓度为 0.75 mmol/L时达到最大,其活

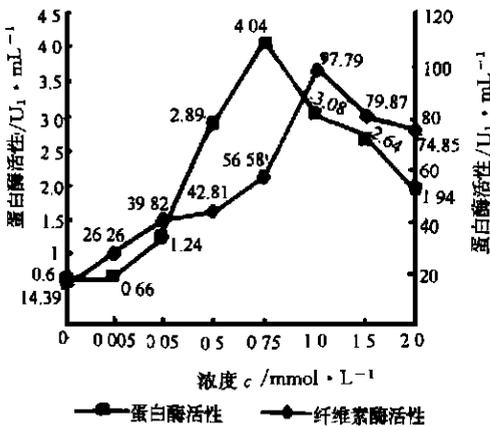


图 3 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>浓度对纤维素酶及蛋白酶活性的影响

性为 4.04 U/mL,比对照提高了 573.33%,其后随 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>浓度的增加而逐渐下降,但仍有明显的促进作用。

2.4 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>浓度对猴头菌丝胞外蛋白质含量的影响: 0.005~ 2.0 mmol/L的 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>可显著促进猴头菌丝生长期间胞外蛋白质的含量(图 4),且随 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>浓度的增加而迅速增加,在 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>浓度为 0.75 mmol/L时达到最大,发酵液中蛋白质的含量为 1.22 mg/mL,比对照提高了 480.93%,其后随 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>浓度的增加而逐渐下降,但仍有明显的促进作用。由此可见:蛋白质含量的变化趋势同菌丝胞外淀粉酶、纤维素酶及蛋白酶的变化,说明 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>促进猴头菌丝生长期间胞外酶的活性是由于促进了菌丝分泌胞外酶蛋白,而胞外酶活性的提高又促进了菌丝对营养物质的分解和吸收,从而促进了菌丝的生长。因此,在培养猴头菌丝时,可在培养基中加入 0.75~ 1.5 mmol/L的 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>,促进菌丝的生长。

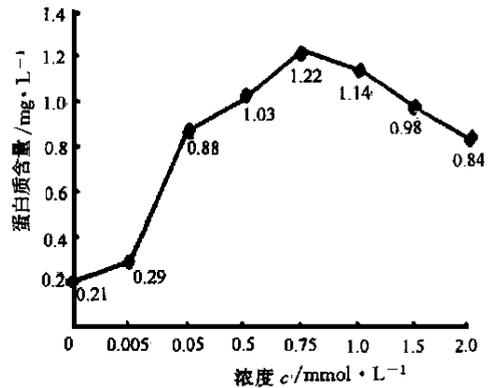


图 4 La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>浓度对蛋白质含量的影响

参考文献:

- [1] 黎九贤,张文明,田中凤. 食用菌代料培养植新法 [M]. 北京: 科学普及出版社, 1993.
- [2] 王启坤. 稀土微肥促进作物生长的生物效应和增产机理 [J]. 陕西农业科学, 1994, 3: 36-37.
- [3] 曾富华,曹赐生,文质君. 硝酸稀土对侧耳菌丝生长过程中胞外酶活性的影响 [J]. 湖南农业科学, 1994, 3: 37-38.
- [4] 北京师范大学生化教研室. 基础生物化学实验 [M]. 北京: 人民教育出版社, 1983.
- [5] 上海植物生理学会. 植物生理学实验手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985.
- [6] 北京大学生物系生化教研室. 生物化学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1979.