

栽培灵芝生长周期内物质的变化规律及其机制研究

李文涛¹, 余梦瑶², 魏巍², 许晓燕², 江南², 郑林用³, 杨志荣¹, 罗霞^{2*}

1. 四川大学生命科学学院, 四川 成都 610064

2. 四川省中医药科学院 中药细胞与分子生物学实验室, 四川 成都 610041

3. 四川省农业科学院, 四川 成都 610066

摘要: **目的** 研究灵芝生长周期内不同部位基质中物质质量的变化规律, 并通过基质中胞外酶活性变化规律初步探究基质中物质质量变化的机制。**方法** 采用熟料袋式栽培灵芝, 将灵芝的生长期分为8个阶段, 并把基质4等分, 研究不同部位基质中总糖、还原糖、水溶性蛋白和游离氨基酸量的变化规律; 并通过各部位基质中木质素酶系(漆酶和锰过氧化物酶)、纤维素酶系(羧甲基纤维素酶、半纤维素酶和滤纸酶)和酸性蛋白酶活性变化规律探究不同部位基质中物质质量变化的机制。**结果** 在灵芝的生长周期内, 不同部位基质中总糖量呈下降趋势; 还原糖量在出原基之前呈升高趋势, 出原基之后降低; 不同部位基质中水溶性蛋白质总体上呈升高趋势; 基质中氨基酸量在菌丝满袋之前一直降低, 菌丝满袋之后到菌蕾期其量升高, 并在菌蕾期达到峰值, 随后其量又呈下降趋势; 不同部位基质中漆酶活性变化规律呈U字形, 其活性在原基时期最低, 锰过氧化物酶活性在营养生长期缓慢升高, 菌丝满袋之后其活性下降; 不同部位基质中纤维素酶系酶活性和酸性蛋白酶活性总体上呈升高趋势。**结论** 在灵芝生长周期内, 各部位基质中物质质量随着灵芝的生长发育呈现不同的变化规律; 基质中灵芝胞外酶活性能够影响物质的量, 即基质中的灵芝胞外酶活性与物质质量具有一定的相关性。

关键词: 熟料袋式栽培; 灵芝; 基质; 物质质量; 胞外酶活性; 变化规律

中图分类号: R282.21 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)04-0552-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.04.019

Variation of substance content during growth cycle of cultured *Ganoderma lucidum* and its mechanism

LI Wen-tao¹, YU Meng-yao², WEI Wei², XU Xiao-yan², JIANG Nan², ZHENG Lin-yong³, YANG Zhi-rong¹, LUO Xia²

1. College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China

2. Cellular And Molecular Laboratory of Chinese Materia Medica, Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China

3. Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China

Abstract: Objective To study the variation of the substance content in the different fractions of matrix during the growth cycle of *Ganoderma lucidum*, and to explore the mechanisms by investigating the change regulation of extracellular enzyme activity in the matrix of *G. lucidum*. **Methods** *G. lucidum* was adopted by bag cultivation with sterilized raw materials, the growth period was divided into eight stages, and the matrix was splided in four equal portions. The variation of the contents of total sugar, reducing sugar, water-soluble protein, and free amino acids in different fractions of the matrix was studied, and the variation of activities of lignin enzymes (laccase and manganese peroxidase), cellulase (carboxymethyl cellulase, hemicellulase, and filter paper enzyme), and acidic protease at different fractions of the matrix were studied in order to elucidate the mechanisms. **Results** During the growth period of *G. lucidum*, the content of total sugar at different fractions of the matrix decreased, and the content of reducing sugar increased before the growth of primordium, then decreased after the growth of primordium. The contents of water-soluble proteins showed increasing tendency at different fractions of the matrix, and the content of amino acid decreased before sackful of mycelium, but increased during

收稿日期: 2013-07-04

基金项目: 国家农业产业技术体系药用菌栽培岗位建设项目[农科教发(2007)12号]; 菌类药材研究与开发四川省科技创新团队(2011JTD0021); 四川省十二五攻关项目“菌类药材优质种质资源的收集及新材料的选育”(2011NZ0098—12—04); 四川省重大科技计划项目“食用菌现代产业链关键技术研究与产业化示范”; 四川省微生物资源共享平台—农业微生物平台项目

作者简介: 李文涛(1987—), 男, 四川大学在读硕士, 主要从事食用菌基础生理研究。E-mail: lwt6810@126.com

*通信作者 罗霞 Tel: (028)85250783 E-mail: lx1443_cn@sina.com

网络出版时间: 2014-01-08 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.7501/j.issn.0253-2670.2013.04.html>

the stage of bud and reached the peak, then decreased again. The variation of laccase activity showed the shape of U, and the lowest activity was appeared in the primordium period. The activity of manganese peroxidase was slowly increased during vegetative growth period, and decreased after sackful of mycelium. The activities of cellulase enzyme and acid protease were totally increased. **Conclusion** In the growth cycle of *G. lucidum*, the substance contents in different fractions of matrix present different change tendency with the growth and development of *G. lucidum*; The extracellular enzyme activity of *G. lucidum* could affect the content of substance in the matrix, and there is a certain correlation between the activity of extracellular enzyme and material content in matrix of *G. lucidum*.

Key words: bag cultivation with sterilized raw materials; *Ganoderma lucidum* (Lesyys ex Fr.) Karst; matrix; substance content; activity of extracellular enzyme; variation

灵芝 *Ganoderma lucidum* (Lesyys ex Fr.) Karst 为担子菌纲多孔菌科灵芝属真菌, 其作为一种名贵药材在民间及临床具有广泛的应用^[1], 已被《中国药典》2010年版收载。

目前, 灵芝栽培主要有椴木栽培和熟料袋式栽培。在灵芝的熟料栽培过程中, 灵芝在生长发育过程中不断向胞外分泌木质素酶、纤维素酶和蛋白酶降解培养基中的木质纤维素和蛋白质类物质及其他有机大分子^[2], 利用其降解产物满足自身生长发育的需要, 所以培养基中物质的分解和灵芝物质的合成代谢是一个动态变化的过程, 在灵芝菌丝的不同生长时期, 不同部位基质中具有不同的理化状态, 两者具有密切的关系。但有关灵芝袋式熟料栽培的研究多集中于灵芝的化学成分、药理活性及其生长发育与营养和环境条件的关系^[3-7], 而对不同部位基质中物质质量和胞外酶活性在生长周期内的变化规律尚未见报道。本研究根据灵芝的生长特点将灵芝的生长期分为 8 个时期, 并将基质分为 4 个部位, 探讨了不同部位基质中物质质量的变化规律, 并结合对灵芝胞外酶(木质素酶系、纤维素酶系和酸性蛋白酶)活性在整个发育阶段分泌特点、活性大小和变化规律分析, 初步探究了不同部位基质中物质质量变化的机制, 为提高基质利用率和灵芝产量提供了理论依据, 为预测灵芝在自然温度下的栽培特性和栽培产量奠定了基础。

1 材料及试剂

灵芝 ZL13 由四川省中医药科学院细胞与分子生物学实验室提供, 由四川省农业科学院郑林用研究员鉴定为赤芝 *Ganoderma lucidum* (Lesyys ex Fr.) Karst。

木屑、棉籽壳、玉米芯、麦麸、石灰和石膏购自农资市场, 2, 2-二氮-双(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)(ABTS)和木聚糖购自 Sigma 公司, 其余试剂均为国产分析纯。

2 方法

2.1 培养基的配制

2.1.1 母种培养基配制 土豆 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 6.5。

2.1.2 原种培养基配制 玉米粒 99%, 石膏 1%, pH 自然, 含水量 60%左右。

2.2 栽培培养基配制及栽培方法

木屑 15%, 棉籽壳 60%, 玉米芯 15%, 麦麸 8%, 石灰 1%, 石膏 1%, pH 5~6, 含水量 60%左右。玉米芯加水预湿 24 h, 将木屑、麸皮、玉米芯、石灰和石膏混合均匀, 掺入预湿的玉米芯中拌匀。

选用 23 cm×42 cm×0.03 cm 的聚乙烯袋, 每袋装湿料 2 000 g, 121 °C 高压灭菌 2.5 h, 冷却至室温后于专用接种室内接种, 每袋接入玉米粒原种 10 粒, 接种后移入人工气候箱, 25 °C、空气相对湿度 60%、避光培养至菌丝长满袋。出原阶段将培养条件改为: 27 °C、空气相对湿度 80%、光强 300 lx。出芝阶段培养条件为: 27 °C、空气相对湿度 90%、光强 500 lx。催蕾和出芝均在人工气候箱内进行。

2.3 采样方法及粗酶液制备

把灵芝生长期分为 8 个阶段: 1/4 满袋(时期 1)、2/4 满袋(时期 2)、3/4 满袋(时期 3)、满袋(时期 4)、原基期(时期 5: 灵芝刚长出的白色球状子实体)、菌蕾期(时期 6: 白色球状开始分化, 有突起产生)、开片期(时期 7: 灵芝为肾形, 有淡黄色边缘)、子实体成熟期(时期 8: 弹射孢子)。将培养料均分为 4 部分, 从接种部位向菌袋底部依次将培养料标记为部位-I、部位-II、部位-III 和部位-IV。取不同时期的菌丝与培养料混合物 25 g(3 个重复), 贮存于-70 °C 保存备用。准确称取同一待测样品 2 份, 每份 5 g, 一份用于制备酶液以测定酶活, 一份在 80 °C 恒温干燥箱内烘至恒质量。将称好的样品(5 g)放入 50 mL 三角瓶中, 加蒸馏水 25 mL, 在 40 °C 恒温水浴锅内浸提 2 h, 三层纱布滤过, 10 000 r/min 离心 10 min, 上清液即为粗酶液。

2.4 胞外酶活性测定

采用 ABTS 法^[8]测定漆酶活性, 漆酶活性单位定义为每分钟催化 1 μmol ABTS 氧化所需要的酶量;

纤维素酶和滤纸酶活性测定采用3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法^[9],其酶活性单位定义为每分钟催化生成1 mg葡萄糖所需要的酶量;半纤维素酶活性测定参照李江华等^[10]的方法,半纤维素酶活性单位定义:每克干培养料10 min内催化底物生成1 mg木糖所需的酶量为1个酶活性单位;酸性蛋白酶活性测定参考王福荣^[11]的方法,蛋白酶活性单位定义:每克干培养料1 min内水解酪蛋白产生1 μg酪氨酸所需的酶量为1个酶活性单位。

2.5 基质中物质质量测定

总糖和还原糖量采用DNS比色法^[12-13];游离氨基酸量测定采用茚三酮显色法^[14];水溶性蛋白量测定采用考马斯亮蓝法^[15]。

3 结果与分析

3.1 基质中总糖和还原糖量的变化规律

灵芝生长周期内不同时期和部位基质中总糖和还原糖量变化规律见图1,在灵芝的整个生长周期内,基质中总糖量呈下降趋势。在灵芝的营养生长期(时期1~4),部位-I、II和III基质中总糖量在

时期3急剧下降,其量在时期4降至最低;在灵芝的生殖生长期(时期5~8),4个部位基质中总糖量稳定一个较低值,无较大波动。

然而,在灵芝的整个生长周期内,还原糖量的变化趋势与总糖量变化趋势相反。还原糖量在营养生长期呈缓慢上升趋势,但幅度不大;从时期4开始,4个部位基质中还原糖量迅速升高,并在时期5达到最大值。从时期5至时期8,各部位基质中还原糖量呈下降趋势。

3.2 基质中可溶性蛋白和游离氨基酸量的变化规律

基质中可溶性蛋白和游离氨基酸量的变化规律见图2,可溶性蛋白量总体上呈现先上升后下降的趋势。在营养生长期,3个部位基质中可溶性蛋白量缓慢上升;到了生殖生长期,4个部位基质中可溶性蛋白量迅速升高并在时期6达到峰值,在时期7又有所下降,在灵芝的成熟期其量较时期7又有所升高。

由图2可知,4个部位基质中游离氨基酸量变化规律相似,即在灵芝生长初期量较高,随着灵芝

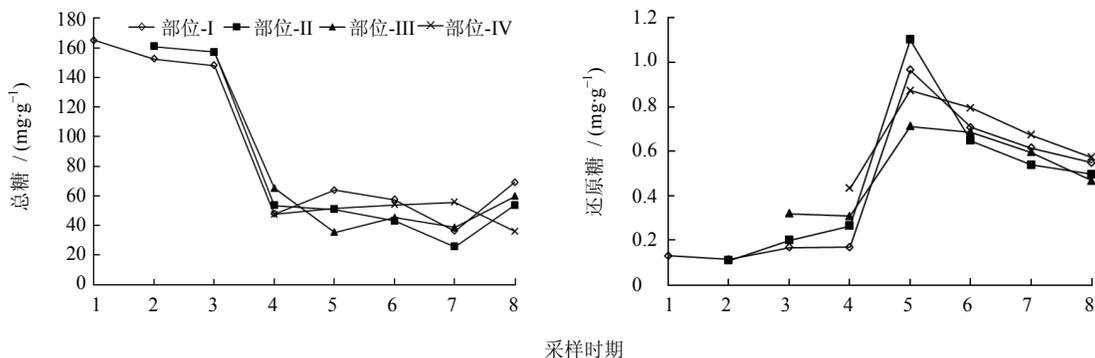


图1 灵芝生长周期内不同时期和部位基质中总糖和还原糖量变化规律

Fig. 1 Variation of total sugars and reducing sugars contents in different periods and fractions of matrix during growth cycles of *G. lucidum*

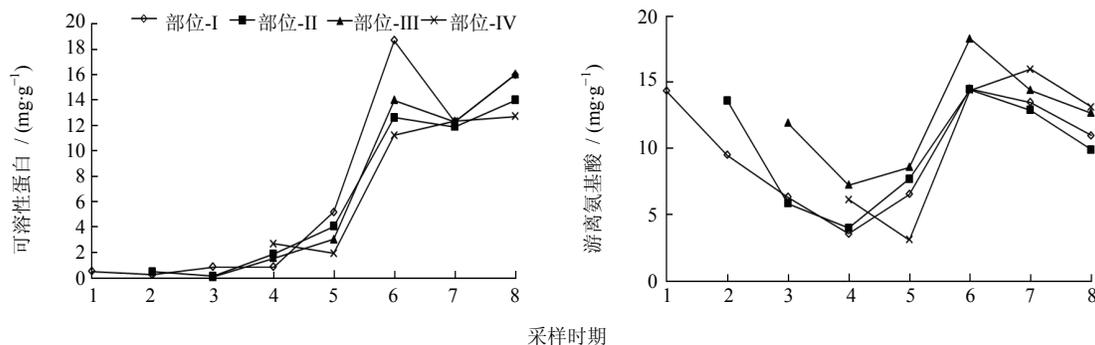


图2 灵芝生长周期内不同时期和部位基质中水溶性蛋白和游离氨基酸变化规律

Fig. 2 Variation of water-soluble proteins and free amino acids contents in different periods and fractions of matrix during growth cycles of *G. lucidum*

的生长发育其量逐渐降低, 部位-I、II 和 III 基质中游离氨基酸量在时期 4 降至最低点; 在生殖生长期, 部位-I、II 和 III 基质中游离氨基酸量呈上升趋势, 在时期 6 达到峰值后又逐渐下降; 虽然部位-IV 中的游离氨基酸量在时期 5 最低, 但是其量仍然在时期 6 达到最大值, 随后的变化规律与其他 3 个部位保持一致。

3.3 木质素酶系酶活变化规律

3.3.1 漆酶活性变化规律 灵芝生长周期内不同时期和部位基质中漆酶活性变化规律见图 3。在灵芝的营养生长期, 即灵芝出原基前, 各部位基质中灵芝漆酶活性呈现由高到降的趋势, 在时期 5 漆酶活性低至最低点。在灵芝的生殖生长期, 即灵芝出原基后, 各部位基质中漆酶活性迅速升高, 在时期 6 灵芝漆酶活性达到最高, 随后灵芝漆酶又呈缓慢下降趋势。在灵芝的整个生长期内, 部位-I 基质中灵芝漆酶活性始终低于其他部位基质中的灵芝漆酶活性。

3.3.2 锰过氧化物酶活性变化规律 灵芝生长周期内不同时期和部位基质中锰过氧化物酶活性变化规律见图 4。在灵芝的营养生长期, 部位-I 基质中锰过氧化物酶活性先降低后升高; 部位-II 基质中锰过氧化物酶活性在时期 4 达到最高点; 而部位-III 基质内则呈下降趋势。在灵芝的生殖生长期, 部位-II、III 和 IV 基质中锰过氧化物酶活性在经历了一个平稳期后迅速下降且酶活性在时期 6 达到最低, 而部位-I 基质中锰过氧化物酶活性则直接由最高值降至最低值; 最终各部位基质中酶活性又趋于稳定。

3.4 纤维素酶系酶活性变化规律

3.4.1 羧甲基纤维素酶和半纤维素酶活性变化规律 灵芝生长周期内羧甲基纤维素酶和半纤维素酶活性

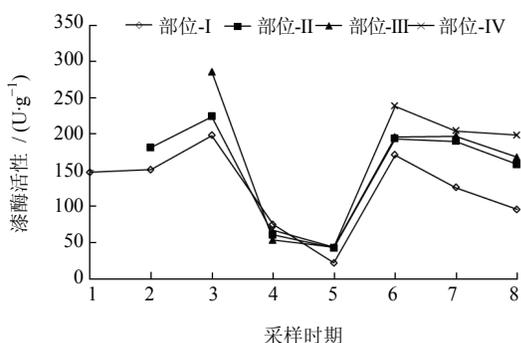


图 3 灵芝生长周期内不同时期和部位基质中漆酶活性变化规律

Fig. 3 Variation of laccase activity in different periods and fractions of matrix during growth cycles of *G. lucidum*

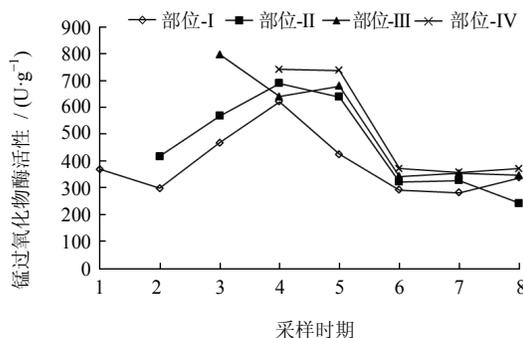


图 4 灵芝生长周期内不同时期和部位基质中锰过氧化物酶活性变化规律

Fig. 4 Variation of manganese peroxidase activity in different periods and fractions of matrix during growth cycles of *G. lucidum*

变化规律见图 5。在灵芝的营养生长期, 不同部位基质中羧甲基纤维素酶和半纤维素酶活性都呈缓慢升高趋势。在灵芝生殖生长期, 即灵芝长出原基后, 羧甲基纤维素酶活性和半纤维素酶活性迅速升高并在时期 6 达到峰值, 随后这两种灵芝胞外酶活性有所下降; 然而, 随着灵芝生殖生长对营养的需求, 羧甲基纤维素酶和半纤维素酶活性从时期 7 开始增加直至时期 8, 且灵芝着生部位 (部位-I) 两种酶的活性始终高于其他部位。

3.4.2 滤纸酶活性变化规律 灵芝生长周期内不同时期和部位基质中滤纸酶活性变化规律见图 6。从灵芝的营养生长期到生殖生长期结束, 不同部位基质中滤纸酶活性一直呈现缓慢上升的趋势, 并在时期 8 达到峰值。在灵芝子实体发育期间, 从时期 6 开始至灵芝生长周期结束, 部位 I 基质中滤纸酶活性与羧甲基纤维素酶和半纤维素酶的活性变化规律相似, 且该部位滤纸酶活性始终高于其他 3 个部位, 即灵芝子实体着生处基质中滤纸酶活性最高。

3.4.3 酸性蛋白酶活性变化规律 灵芝生长周期内不同时期和部位基质中酸性蛋白酶活性变化规律见图 7。在灵芝的营养生长期, 不同部位基质中灵芝酸性蛋白酶活性随灵芝的生长发育呈缓慢升高的趋势。在灵芝的生殖生长期, 灵芝出原基后, 酸性蛋白酶活性迅速升高, 在时期 7 (开片期) 达到峰值, 随后其活性又开始下降。

4 讨论

基质中总糖量的变化反映了灵芝在生长发育过程中消耗糖类的动态变化规律。在灵芝的生长期内, 灵芝菌丝在生长过程中大量利用基质中的碳素营养

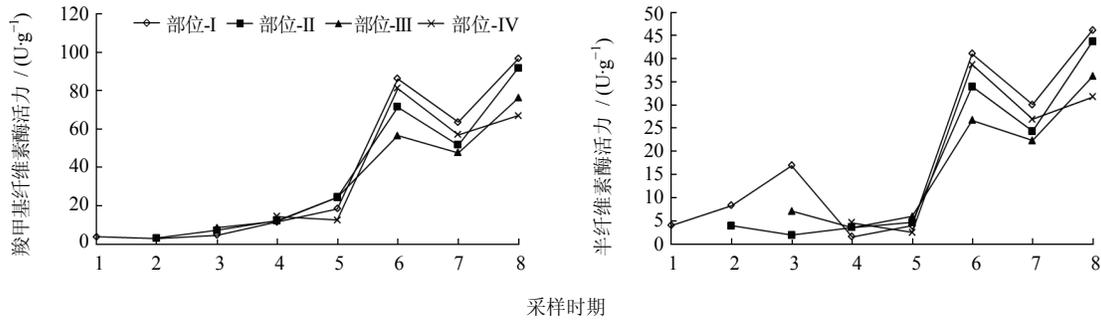


图5 灵芝生长周期内不同时期和部位基质中羧甲基纤维素酶和半纤维素酶活性变化规律

Fig. 5 Variation of carboxymethyl cellulase and hemicellulase activities in different periods and fractions of matrix during growth cycles of *G. lucidum*

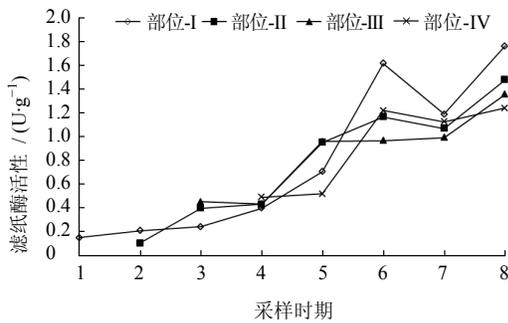


图6 灵芝生长周期内不同时期和部位基质中滤纸酶活性变化规律

Fig. 6 Variation of filter paper enzyme activity in different periods and fractions of matrix during growth cycles of *G. lucidum*

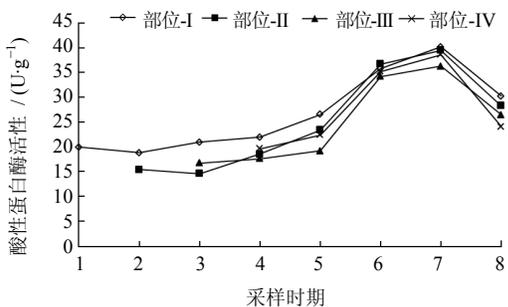


图7 灵芝生长周期内不同时期和部位基质中酸性蛋白酶活性变化规律

Fig. 7 Variation of acid protease activity in different periods and fractions of matrix during growth cycles of *G. lucidum*

来构建自身的碳骨架，因此，在灵芝的整个生长期不同部位基质中总糖量表现出一直下降的趋势。

各部位基质中还原糖量在灵芝的营养生长期缓慢增加；灵芝菌丝满袋到灵芝出原基期间，各部位基质中还原糖量迅速升高。产生这一现象的原因是

因为纤维素是灵芝生长发育所需要的主要碳源，然而植物组织中木质素与纤维素以共价键形式紧密结合，并将纤维素分子包埋在其中，影响灵芝分泌的纤维素酶对纤维素的降解^[16-17]。因此，灵芝漆酶和锰过氧化物酶在某种程度上决定着纤维素酶对基质中纤维素的降解速率。研究结果表明，在菌丝未满袋之前，灵芝漆酶和锰过氧化物酶活性逐渐升高，大量的木质素在这两种酶的作用下迅速被降解，从而暴露出大量的纤维素，为纤维素的进一步降解提供了空间；与此同时，纤维素酶系酶活性也逐渐升高，降解纤维素速率增加，大量的纤维素被降解为小分子的还原糖类物质。因此，在生殖生长期，基质中还原糖量呈缓慢上升趋势。灵芝菌丝满袋之后，由于灵芝生理条件的变化和基质中成分的变化刺激灵芝大量分泌漆酶、锰过氧化物酶和纤维素酶，加速基质降解为灵芝可以利用的小分子的还原糖类物质^[18-19]，所以不同部位基质还原糖量在菌丝满袋之后迅速升高。

灵芝长出原基之后，不同部位基质中还原糖量呈下降趋势。其机制可能是虽然纤维素酶系酶活性在菌蕾期之后仍具有保持较高活性，但是由于灵芝漆酶的降解产物抑制了漆酶和锰过氧化物酶的活性^[20]等原因，漆酶和锰过氧化物酶活性趋于稳定，木质素降解速率下降，阻碍了纤维素酶将纤维素降解为小分子的还原糖，并且此时灵芝子实体的发育又消耗了基质中大量的还原糖，因此在灵芝出原基之后基质中还原糖量下降。

不同部位基质中水溶性蛋白量在菌蕾期之前呈上升趋势。灵芝的胞外酶属于蛋白质类物质，其构成了基质中水溶性蛋白的主要成分。灵芝菌丝生长过程中不断的向基质中分泌胞外酶，导致基质中灵

芝胞外酶量增加,所以基质中的水溶蛋白量在营养生长期呈上升趋势。从菌蕾期到开片期,酸性蛋白酶活性达到峰值,大量的水溶性蛋白被降解,所以水溶性蛋白量下降。在灵芝生长的后期,由于菌丝老化等原因,菌丝细胞裂解导致大量的胞内蛋白溢出^[21],基质中的水溶性蛋白量又有少许升高。

灵芝生长过程中,菌丝向基质中分泌蛋白酶将基质的蛋白质类物质降解为小分子的氨基酸^[21],从而为灵芝的生长提供氮素营养。在灵芝生长的初期,由于基质中酸性蛋白酶活性较低,灵芝菌丝大量利用基质中的游离氨基酸来合成自身的蛋白质类物质,因此不同部位基质中的氨基酸量下降;灵芝菌丝满袋后,基质中蛋白酶活性升高,基质中的蛋白质迅速被降解为游离氨基酸,因此其量升高,为灵芝原基分化和子实体发育提供了高氮环境。在灵芝的开片期之后,基质中的酸性蛋白酶活性下降,游离氨基酸产生速率降低,然而灵芝子实体发育又需要大量的氮素营养,基质中的游离氨基酸被大量消耗,导致游离氨基酸量降低。

大量研究证实,当各种胞外酶活性的动态变化符合灵芝菌体生长及发育的规律时,才能完成由营养生长期向生殖生长期的转变^[22]。在灵芝的生长周期内,各部位基质中酶活变化规律基本保持一致,并且物质的变化也在同一时期出现拐点,这表明各部位基质中的菌丝能够在灵芝的生长发育过程中共同响应,为灵芝子实体的发育提供物质基础。灵芝木质素酶和纤维素酶活性变化的节点均在灵芝原基分化期,这表明漆酶、锰过氧化物酶和纤维素酶在灵芝的生长过程中除了通过降解基质为灵芝的生长提供营养物质外,其活性还与子实体发育之间存在某种内在的调控机制^[23],从而调节灵芝由营养生长转向生殖生长,因此这两种酶在某种程度上可以作为灵芝由营养生长转向生殖生长的指示酶或理化标记。

参考文献

- [1] Claudia I M, Takashi K, James O K, et al. *Ganoderma lucidum* causes apoptosis in leukemia, lymphoma and multiple myeloma cells [J]. *Leuk Res*, 2006(30): 841-848.
- [2] 任鹏飞,任海霞,曲玲.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(12): 11-14.
- [3] 陆易,翁新楚.赤芝中脂溶性化合物的体外抗肿瘤活性[J].*精细化工*, 2007, 24(8): 772-777.
- [4] 陈颖,王赛贞,林树钱.用Folin-酚法测定灵芝产品中多糖肽含量[J].*海峡药学*, 2007, 19(7): 37-39.
- [5] 洪介民,黎庆梅.灵芝三萜对T淋巴细胞的活化作用[J].*中药新药与临床药理*, 2007, 18(4): 283-285.
- [6] 陈春锋,杨晓彤,李绪全,等.5个不同灵芝种菌丝体多糖理化性质及免疫活性研究[J].*微生物学报*, 2007, 47(4): 628-633.
- [7] Ding P Q, Qiu J Y, Liang Y J. Chemical constituents of *Ganoderma resinaceum* [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(1): 65-67.
- [8] 倪新江,潘迎捷,冯志勇.香菇生长过程中几种胞外酶活性的变化规律[J].*食用菌学报*, 1995, 2(4): 22-27.
- [9] 王建,贾斌,郭丽萍.饲用酶制剂中羧甲基纤维素酶等5种酶活力的测定方法研究[J].*粮食与饲料工业*, 2006(9): 42-44.
- [10] 李江华,房峻.半纤维素酶高产菌株的选育及产酶条件[J].*无锡轻工大学学报*, 2004, 23(5): 48-51.
- [11] 王福荣.生物工程分析与检验[M].北京:中国轻工业出版社, 2005.
- [12] 石凤敏,佟曦然,丁自勉,等.灵芝-淫羊藿菌质总多糖量动态变化的初步研究[J].*中草药*, 2013, 44(11): 1486-1489.
- [13] 孙伟伟,曹维强,王静. DNS法测定玉米秸秆中总糖[J].*食品研究与开发*, 2006(6): 120-124.
- [14] 范婉萍,吴婕.用分光光度法测定含氨基酸类制品中的氨基酸含量[J].*中国测试技术*, 2007, 33(3): 117-119.
- [15] 刘海顺,张志航,胡瑞丰,等.大豆水溶性蛋白测定方法探讨[J].*粮食储藏*, 2011, 40(3): 48-49.
- [16] 郝俊江,陈向东,兰进.光质对灵芝生长及抗氧化酶系统的影响[J].*中草药*, 2011, 42(12): 2529-2534.
- [17] 李春风,王力生.白腐真菌降解木质素酶系特性及其应用[J].*现代农业科技*, 2009(11): 274-275.
- [18] 薛海燕.降解玉米秸秆产纤维素酶和木质素酶菌种的筛选[J].*酿酒科技*, 2008(10): 44-47.
- [19] 倪新江,潘迎捷,冯志勇,等.香菇生长过程中几种胞外酶活性的变化规律[J].*食用菌学报*, 1995, 2(4): 22-27.
- [20] 张小昱.香菇不同菌株胞外酶活性与生长发育的关系[J].*华中农业大学学报*, 1995, 14(3): 259-262.
- [21] 于海茹,李艳茹,徐广波,等.液体培养猪苓菌丝体生长及几种酶活性的研究[J].*江苏农业科学*, 2010(6): 288-390.
- [22] 郭倩,何庆邦.四孢蘑菇生长过程中四种胞外酶活性和木质纤维素降解的变化规律[J].*食用菌学报*, 1998, 5(2): 13-17.
- [23] 潘迎捷,陈明杰,郑海歌,等.香菇和平菇生长发育中漆酶、酪氨酸酶和纤维素酶活性的变化[J].*上海农业学报*, 1991, 7(2): 21-26.