

赵嘉菱, 韦锦范, 高丽君, 等. 不同覆土材料对印度丽蘑产量和生理活性的影响 [J]. 华南农业大学学报, 2019, 40(3): 53-60.  
ZHAO Jialing, WEI Jinfan, GAO Lijun, et al. Effects of different casing materials on yield and physiological activity of *Calocybe indica*[J]. Journal of South China Agricultural University, 2019, 40(3): 53-60.

# 不同覆土材料对印度丽蘑产量和生理活性的影响

赵嘉菱, 韦锦范, 高丽君, 高 瞻, 黄琇薇, 刘 斌  
(广西大学 农学院/食用菌研究所, 广西南宁 530005)

**摘要:**【目的】分析不同覆土材料对印度丽蘑 *Calocybe indica* 子实体生长发育的影响, 为印度丽蘑在我国的引种栽培提供理论基础。【方法】以田土 (对照)、田土+牛粪 (体积比为 3:1)、菌渣、田土+沙子 (体积比为 3:1) 为覆土材料, 研究印度丽蘑子实体的农艺性状和产量, 测定可溶性蛋白含量及胞外酶活性的变化。【结果】以田土+牛粪为覆土材料时, 产量最高为 2 078.50 g、出菇密度最高, 现蕾所需时间最短, 约为 7.67 d; 以菌渣为覆土材料时, 产量、出菇密度次之, 但现蕾所需时间最长, 为 22.67 d; 田土+沙子处理与对照相比, 印度丽蘑的产量、单菇质量和出菇密度等方面表现较差。在印度丽蘑不同生长期, 各处理的可溶性蛋白含量总体呈上升趋势, 且第 2 潮菇升高幅度更大 (菌渣处理除外)。整个生长期, 以田土+牛粪为覆土材料时可溶性蛋白含量较高, 且胞外酶的活性变化最有利于菌体生长。【结论】结合印度丽蘑生长情况和经济效益等因素, 建议以田土+牛粪为覆土材料。

**关键词:** 印度丽蘑; 覆土材料; 产量; 可溶性蛋白; 胞外酶  
**中图分类号:** S646.1      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1001-411X(2019)03-0053-08

## Effects of different casing materials on yield and physiological activity of *Calocybe indica*

ZHAO Jialing, WEI Jinfan, GAO Lijun, GAO Zhan, HUANG Xiuwei, LIU Bin  
(College of Agriculture/Institute of Edible Mushroom, Guangxi University, Nanning 530005, China)

**Abstract:** 【Objective】To investigate the effect of different casing materials on growth and development of *Calocybe indica*, and provide a theoretical basis for introduction and cultivation of *Calocybe indica* in China. 【Method】Different casing materials including loamy soil(CK), loamy soil+cow dung (volume ratio was 3 : 1), spent mushroom compost, loamy soil+sand (volume ratio was 3 : 1) were used as casing materials for cultivation of mushroom *C. indica*, and their effect on the yield and agronomic performance of *C. indica* sporophore were evaluated. Changes in soluble protein content and extracellular enzyme activity were measured. 【Result】Using loamy soil+cow dung as the casing material resulted in the highest yield of 2 078.50 g, the highest fruiting density and the shortest time for primordium initiation of around 7.67 days. When spent mushroom compost was used as the casing material, the yield and fruiting density of *C. indica* were ranked second, while the time of primordium initiation was the longest being 22.67 days. Compared with the control treatment, loamy soil+sand resulted in lower yield and fruiting density as well as worse fruiting quality. During different growth stages, in general soluble protein contents in different treatments showed a rising trend and largely increased during the second flush of *C. indica* (except for spent mushroom compost treatment). Soluble

收稿日期:2018-08-21      网络首发时间:2019-04-16 09:12:00  
网络首发地址:<http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20190412.1740.026.html>  
作者简介:赵嘉菱(1994—), 女, 硕士研究生, E-mail: 1916237066@qq.com; 通信作者: 刘 斌(1966—), 男, 教授, 博士, E-mail: liubin@gxu.edu.cn  
基金项目:广西重点研发计划项目 (桂科 AB18221047); 国家现代农业产业技术体系广西食用菌创新团队建设项目 (nycytxgxcxtd-07-01)

protein content in loamy soil+cow dung treatment was the highest during the whole growth process. Changes of extracellular enzyme activities were the most beneficial to *C. indica* growth under loamy soil+cow dung treatment. 【Conclusion】 Considering *C. indica* growth status and economic benefits, it is recommended to use loamy soil+cow dung as the casing material.

**Key words:** *Calocybe indica*; casing material; yield; soluble protein; extracellular enzyme

印度丽蘑 *Calocybe indica*, 属真菌界、担子菌门、层菌纲、伞菌目、离褶伞科、丽蘑属, 又名奶白蘑菇, 是一种原产于印度的热带食用菌。生长于孟加拉国和印度西孟加拉邦炎热的夏季<sup>[1]</sup>, 之后逐步引种至其他国家如马来西亚、新加坡等进行栽培<sup>[2]</sup>。印度丽蘑的生长需要 30~35 ℃ 的高温以及 85%~90% 的相对湿度<sup>[3]</sup>, 是典型的夏季食用菌, 其菌肉肥嫩、味道鲜美、营养丰富, 具有较高的经济价值和药用价值。同时, 印度丽蘑子实体硕大、产量可持续、外观乳白色<sup>[4-6]</sup>。与其他栽培的食用菌品种相比, 印度丽蘑在室温的保质期为 5~7 d, 更利于运输和储存, 易引起商人和种植户的兴趣, 成为印度继平菇和草菇之后第 3 种商业化种植的食用菌<sup>[7]</sup>, 具有良好的市场价值和广阔的前景。印度丽蘑是一种草腐生真菌, 有时也会与椰树、糖棕的根系共生, 形成外生菌根, 因此印度丽蘑在种植过程中需要覆土栽培以利于菌丝生长<sup>[8]</sup>。研究表明, 印度丽蘑生长最适温度在 30~35 ℃, 温度低于 25 ℃ 或超过 38 ℃ 时菌丝基本不生长<sup>[9-11]</sup>, 覆土材料就可以起到保温隔热的作用。Vijaykumar 等<sup>[12]</sup> 采用麦秸、稻草、大豆秸秆、椰子壳、棉籽壳及甘蔗渣等材料栽培印度丽蘑, 发现麦秸是最好的栽培基质, 其次是水稻秸秆。Singh 等<sup>[13]</sup> 研究表明, 不同水稻品种的秸秆对印度丽蘑子实体的产量有影响。赵嘉菱等<sup>[14]</sup> 研究了不同培养料添加物对印度丽蘑子实体产量及农艺性状的影响, 发现在杏鲍菇菌渣中添加质量分数为 30% 的玉米粉产量最高。Alam 等<sup>[15]</sup> 的研究表明, 水稻秸秆添加质量分数为 30% 的玉米粉最适合用于印度丽蘑的栽培。覆土是蘑菇属食用菌栽培的一个重要环节, 是子实体形成的必要条件<sup>[16-17]</sup>。覆土材料的化学、物理性质和营养成分对子实体的形成皆有影响。Noble 等<sup>[18]</sup> 认为, 覆土的作用之一是能破坏蘑菇挥发性代谢物质, 以避免挥发性代谢物质对菌丝生长造成的影响。Egerhummel 等<sup>[19]</sup> 认为食用菌生长环境中的 CO<sub>2</sub> 浓度梯度能够刺激子实体的分化。Nair 等<sup>[20]</sup> 在进行不同覆土材料对子实体生长的影响试验中指出, 覆土材料的透气性对子实体的生长有影响。同时, 覆土材料还应该具有良好的持水性, 其 pH 应处于中性或偏碱性<sup>[21]</sup>。食用菌菌丝

体可溶性蛋白质电泳图谱具有种的特征性, 对菌株间的鉴定有一定参考价值<sup>[22-23]</sup>。顾雅君等<sup>[24]</sup> 研究发现胞外酶和食用菌的生长分化具有密切的相关性。食用菌的胞外酶系主要包括纤维素酶、半纤维素酶、木质素分解酶、淀粉酶、果胶酶和蛋白酶等。这些酶可以分解基质使多糖、蛋白质、核酸等高分子物质水解成菌丝便于吸收的小分子物质, 为食用菌菌丝生长、原基形成、子实体生长发育提供基本的营养保障。

广西是典型的亚热带季风气候, 水热充足, 适合印度丽蘑的栽培。覆土是印度丽蘑栽培过程中一个必不可少的重要环节。覆土材料的选择对子实体的生长有一定的影响, 本研究选择广西地区容易获得的几种材料进行处理, 作为印度丽蘑栽培的覆土材料, 探索不同覆土材料对印度丽蘑子实体生长的影响, 同时测定印度丽蘑的胞外酶活性, 了解其在整个生长发育阶段酶活性的产生、变化规律, 有助于阐明培养基组分降解的特点, 也可选择最适覆土材料提供一定的依据。最终选择最经济有效的覆土材料, 应用于生产。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试菌株 印度丽蘑菌种由广西大学食用菌研究所提供。

1.1.2 培养基和栽培配方 液体菌种培养基组成及质量分数: 黄豆粉 2%, 玉米粉 2%, 葡萄糖 2%, 磷酸二氢钾 0.2%, 硫酸镁 0.1%, 麦麸 0.2%, 维生素 0.01%。栽培配方及各组分质量分数: 棉籽壳 50%, 麦麸 17%, 玉米粉 30%(添加剂), 石膏 1%, 石灰 2%。

1.1.3 覆土材料 田土取自广西大学农学院试验田; 牛粪、菌渣 (杏鲍菇菌渣) 和沙子由广西大学食用菌研究所提供。

1.2 试验方法

1.2.1 菌袋制作 按栽培配方称取棉籽壳、麦麸、玉米粉、石膏和石灰, 依次加入并混匀后加水进行充分搅拌。含水量以用手紧握, 恰能从指缝渗出为准。将栽培料堆积起来, 用薄膜盖住, 隔日进行装袋, 塑料袋选用 17 cm×33 cm 的聚丙烯塑料袋。共

设4种覆土材料处理,包括田土(对照)、菌渣、田土+牛粪(体积比为3:1)、田土+沙子(体积比为3:1)处理,每处理3次重复,每个重复10袋。

1.2.2 液体菌种培养 以1 L水为溶剂在发酵罐中制备液体菌种培养基,121 ℃ 灭菌30 min,温度降至30 ℃ 以下时接入印度丽蘑菌种,置于磁力搅拌器上于28 ℃、120 r/min培养5 d,备用。

1.2.3 接种 菌袋在126 ℃ 高压灭菌2 h,冷却后在接种箱中进行接种,每袋接25 mL液体菌种。接种完毕后,转入培养房进行发菌。

1.2.4 发菌管理 保持菇房干净、透气,调节温度在30~35 ℃ 之间,相对湿度在80%以上。

1.2.5 覆土材料处理 取覆土材料在阳光下暴晒,并用石灰控制pH在8.0~9.0之间,含水量20%左右,判断标准为用手抓可以成团,松开后不粘手为宜<sup>[8]</sup>。搅拌均匀后备用。待到菌丝长满袋,将要出现原基时进行覆土,覆土厚度大约3 cm。覆土完成后将菌包移至菇房进行常规管理,保持30 ℃ 以上温度、80%以上的相对湿度、适度的光照和透气性。

1.2.6 子实体产量构成因子的测定 观察记录第1、2潮菇现蕾时间和子实体数量,子实体成熟后采收,采收时用电天平称量产量和单菇质量,并用直尺测量子实体的菌柄直径、菌柄长、菌盖直径和菌盖厚度。

1.2.7 菌丝体可溶性蛋白含量和胞外酶的测定 分别在印度丽蘑生长的2个潮期测定数据。生长期分为第1潮菇期,包括菌丝(A1)、原基(B1)、幼菇(C1)、成熟期(D1)和间期(E1),以及第2潮菇期,包括原基(B2)、幼菇(C2)、成熟期(D2)和间期(E2)。

粗酶液的制备:在菌丝生长和子实体发育的不同阶段,从3个菌袋中取覆土层下发菌料充分混匀,然后取其10 g加蒸馏水50 mL,20 ℃ 条件下浸提4 h,过滤后,4 000 r/min离心5 min,上清液即为粗酶液。

- 可溶性蛋白含量和胞外酶的测定:
- 1) 参照 Carlsson 等<sup>[25]</sup> 的方法进行可溶性蛋白含量的测定。
  - 2) 参照邵伟等<sup>[26]</sup> 的方法进行多酚氧化酶(Polyphenol oxidase, PPO)活性的测定。1个酶活力单位(U)为每分钟 $D_{415\text{ nm}}$ 变化0.001所需要的酶量。
  - 3) 参照张志良<sup>[27]</sup> 的方法测定过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性。1 U为每分钟 $D_{470\text{ nm}}$ 变化0.001所需要的酶量。
  - 4) 参照曾璐漫等<sup>[28]</sup> 的方法测定漆酶活性。1 U

- 为每分钟 $D_{460\text{ nm}}$ 变化0.001所需要的酶量。
- 5) 参考王玉万等<sup>[29]</sup> 的方法测定淀粉酶活性。在试管中加入5 g/L的可溶性淀粉溶液0.5 mL,再加入0.5 mL粗酶液,均匀混合后放入38 ℃ 恒温水浴锅水浴30 min,随后拿出加入3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)试剂1.5 mL,对照管中加入DNS后再加入0.5 mL酶液,沸水浴5 min,待到冷却后添加21.5 mL蒸馏水,混合均匀后测定 $D_{550\text{ nm}}$ 。1 U为每分钟催化水解淀粉生产1 μg葡萄糖所需要的酶量。
  - 6) 参照 Shamala 等<sup>[30]</sup> 的方法测定半纤维素酶活性,1 U定义为:每分钟催化水解纤维素生产1 μg木糖所需要的酶量。
  - 7) 参照王玉万等<sup>[29]</sup> 的方法测定果胶酶活性,1 U为每分钟催化水解果胶生产1 μg半乳糖醛酸所需要的酶量。
  - 8) 参考吕春鹤等<sup>[31]</sup> 的方法测定羧甲基纤维素酶(Carboxymethyl cellulase, CMC)活性。在试管中加入5 g/L的CMC-Na溶液0.75 mL,在样品管中添加0.25 mL粗酶液,50 ℃ 水浴30 min,取出后加0.75 mL DNS试剂;对照管中加入DNS后再加入0.25 mL酶液,沸水浴10 min,取出冷却。加入10 mL蒸馏水,混匀后测定 $D_{550\text{ nm}}$ ,1 U为每分钟催化水解纤维素生产1 μg葡萄糖所需要的酶量。
- 1.3 统计分析
- 用Microsoft Excel 2013对试验数据进行汇总并完成图表制作,使用SPSS 20.0对不同处理印度丽蘑的产量构成因子进行单因素方差分析,并通过邓肯新复极差法分析各处理间的差异显著性。
- ## 2 结果与分析
- ### 2.1 不同覆土材料对印度丽蘑产量构成因子的影响
- #### 2.1.1 对产量和单菇质量的影响
- 由表1可知,不同覆土材料对印度丽蘑的产量影响差异显著。其中,田土+牛粪处理的产量最高,达2 078.50 g,比田土对照的产量提高32.49%,其次是菌渣处理,其产量也显著高于对照组。田土+沙子处理产量最低,仅为1 209.50 g,显著低于对照组,说明该覆土材料不利于印度丽蘑产量的提高。此外,不同覆土材料对印度丽蘑单菇质量的影响也存在一些差异。以菌渣为覆土材料单菇质量最大,田土+牛粪处理次之,这2个处理的单菇质量均显著高于对照组。而田土+沙子处理的单菇质量仅为85.95 g,显著低于对照组的97.17 g。
- #### 2.1.2 对现蕾时间的影响
- 由表1可知,田土+牛



表 1 不同覆土材料对印度丽蘑产量构成因子的影响

Table 1 Effect of different casing materials on the yield-contributing characteristics of *Calocybe indica*

| 覆土材料<br>Casing material         | 产量/g<br>Yield  | 单菇质量/g<br>Unitary weight | 现蕾时间/d<br>Days of<br>primordium<br>formation | 菌柄直径/cm<br>Diameter of<br>stalk | 菌柄长/cm<br>Length of stalk | 菌盖直径/cm<br>Diameter of<br>pileus | 菌盖厚/cm<br>Thickness of<br>pileus | 出菇密度<br>Fruiting<br>density |
|---------------------------------|----------------|--------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------|---------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|
| 田土 (CK)<br>Loamy soil           | 1 568.83±2.88c | 97.17±0.44c              | 9.50±0.37b                                   | 2.33±0.23b                      | 17.07±2.97b               | 8.97±0.72bc                      | 2.03±0.20b                       | +++                         |
| 田土+牛粪<br>Loamy soil + cow dung  | 2 078.50±2.80a | 107.80±0.17b             | 7.67±0.43c                                   | 3.30±0.10a                      | 24.70±0.47a               | 10.10±0.35ab                     | 2.33±0.03a                       | ++++                        |
| 菌渣<br>Spent mushroom<br>compost | 1 849.09±1.26b | 123.34±0.67a             | 22.67±0.70a                                  | 3.17±0.09a                      | 18.33±0.84b               | 11.97±0.41a                      | 2.63±0.15a                       | +++                         |
| 田土+沙子<br>Loamy soil + sand      | 1 209.50±2.92d | 85.95±0.29d              | 10.00±0.58b                                  | 2.40±0.21b                      | 18.20±0.80b               | 7.20±0.81c                       | 2.00±0.06b                       | ++                          |

1) 同列数据后的不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ , Duncan's 法); “++++” 表示密度极高, “+++” 表示密度较高, “++” 表示密度一般

1) Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ( $P<0.05$ , Duncan's method); “++++” means very high density, “+++” means high density, and “++” means medium density

粪处理现蕾最早, 仅为 7.67 d, 且显著早于对照组 (9.50 d), 说明该覆土材料能明显促进印度丽蘑子实体的形成, 田土+沙子处理现蕾时间为 10.00 d, 与对照组差异不显著; 以菌渣为覆土材料现蕾最晚, 长达 22.67 d, 显著迟于对照组。

2.1.3 对菌柄和菌盖的影响 由表 1 可知, 与对照组相比, 3 种覆土材料均有利于菌柄直径和菌柄长的增加, 其中田土+牛粪处理的菌柄最长, 达 24.70 cm。就对菌盖的影响来看, 田土+牛粪和菌渣处理的菌盖直径和菌盖厚度均大于对照组, 表明这 2 种覆土材料有利于印度丽蘑菌盖的发育, 而田土+沙子处理的菌盖直径为 7.20 cm, 小于对照组, 菌盖厚度大于对照组, 差异均不显著。

2.1.4 对出菇密度的影响 4 种覆土材料中, 田土+牛粪处理的出菇密度最高, 对照组和菌渣处理次之, 田土+沙子处理后出菇密度最低。

2.2 不同覆土材料对印度丽蘑菌丝体可溶性蛋白含量的影响

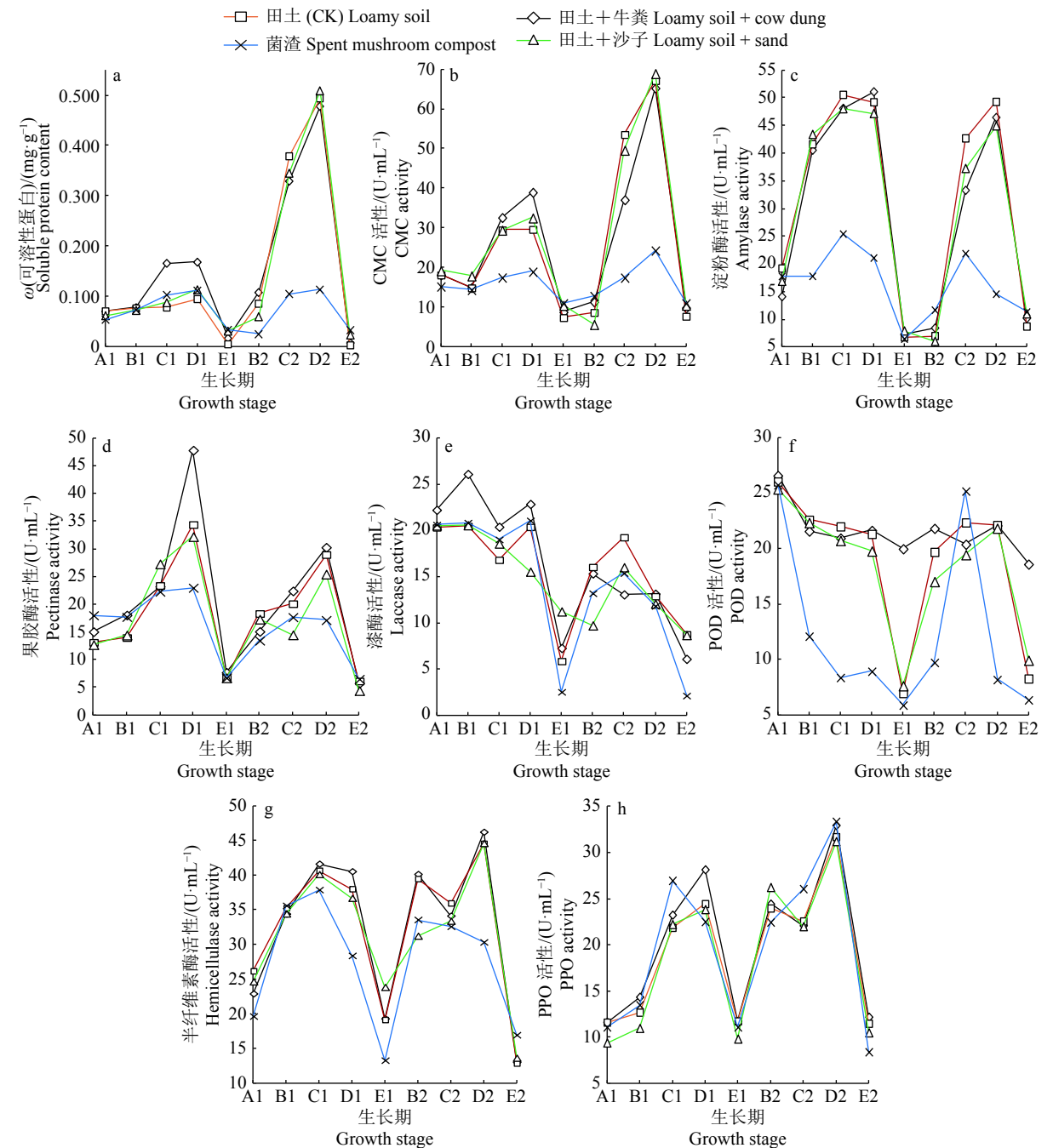
不同覆土材料对印度丽蘑可溶性蛋白含量的影响见图 1a。在第 1 潮菇期, 印度丽蘑从菌丝期 (A1) 到成熟期 (D1), 各个处理可溶性蛋白的含量持续上升, 其中田土+牛粪处理可溶性蛋白含量上升幅度最高, 田土、田土+沙子、菌渣 3 个处理之间可溶性蛋白的含量相差不大, 田沙、菌渣处理的可溶性蛋白含量在幼菇期 (C1) 和成熟期 (D1) 略高于对照。在印度丽蘑生长时期的间期 1 (E1), 各处理的可溶性蛋白含量急剧下降。

在第 2 潮菇期, 可溶性蛋白含量迅速升高, 原基期 (B2) 田土+牛粪处理可溶性蛋白含量明显升高, 高于其他处理, 在幼菇期 (C2) 和成熟期 (D2) 持续稳定升高, 但含量低于对照, 同时在这 2 个时期中, 田土+沙子处理可溶性蛋白含量急速升高, 但菌渣处理与第 1 潮菇含量相近。间期 2 (E2) 4 个处理的可溶性蛋白含量均迅速降低至与间期 1 相近水平。从 2 个潮菇的各个时期来看, 田土+牛粪处理的可溶性蛋白含量整体较其他处理高。

2.3 不同覆土材料对印度丽蘑菌丝体胞外酶活性的影响

2.3.1 CMC 活性 由图 1b 可知, 在生长的 2 个潮菇期, 各处理印度丽蘑胞外 CMC 活性的变化规律基本一致, 均出现 2 个酶活性峰值, 分别出现在 D1 和 D2 这 2 个成熟期, 且第 1 个峰值均低于第 2 个峰值, 第 1 潮菇原基形成后, CMC 活性逐渐升高, 在 D1 期达到第 1 个峰值, 之后逐渐下降, 间期 1 (E1) 达到最低值, 但田土+沙子处理的最低值出现在第 2 潮菇原基期 (B2)。两潮菇的原基期 CMC 活性均处于较低水平, 在幼菇期开始明显升高, 成熟期达到峰值, 第 2 潮菇期 CMC 的活性明显高于第 1 潮菇期。其中田土+牛粪处理下 CMC 活性在高峰阶段略高于其他处理, 菌渣处理下 CMC 活性变化范围最小, 其活性水平总体最低。

2.3.2 淀粉酶活性 由图 1c 可知, 在印度丽蘑的 2 个潮菇期, 除菌渣处理外, 其他 3 种处理下淀粉酶活性变化规律基本一致, 呈先升高后降低的波动,



A1: 第 1 潮菇菌丝期; B1: 第 1 潮菇原基期; C1: 第 1 潮菇幼菇期; D1: 第 1 潮菇成熟期; E1: 间期 1; B2: 第 2 潮菇原基期; C2: 第 2 潮菇幼菇期; D2: 第 2 潮菇成熟期; E2: 间期 2

A1: Mycelium stage of flush 1; B1: Primordium stage of flush 1; C1: Young fruit body stage of flush 1; D1: Mature fruit body stage of flush 1; E1: Interphase 1; B2: Primordium stage of flush 2; C2: Young fruit body stage of flush 2; D2: Mature fruit body stage of flush 2; E2: Interphase 2

图 1 不同覆土材料处理对印度丽蘑可溶性蛋白含量和胞外酶活性的影响

Fig. 1 Effects of different casing materials on soluble protein contents and extracellular enzyme activities of *Calocybe indica*

酶活性在幼菇期和成熟期达到最高峰。菌渣处理下 2 个潮菇期酶活性变化规律与其他 3 种处理相同, 但各时期酶的活性明显低于其他 3 种处理, 其波动的范围也比较小。

**2.3.3 果胶酶活性** 不同覆土材料对印度丽蘑胞外果胶酶活性的影响如图 1d 所示, 结果表明: 4 种处理下果胶酶的活性在 2 个潮期的变化规律基本一致, 均在成熟期达到峰值, 其中以田土+牛粪处理

的酶活性为最高, 尤其是在第 1 潮菇的成熟期 (D1), 远远高于其他 3 种处理, 在第 2 潮菇期酶活性峰值相差不大, 但田土+牛粪处理下酶活性依旧高于其余 3 种处理, 在间期 1(E1)4 个处理酶活性均降低。菌渣处理各时期的酶活性几乎都低于其余 3 个处理, 在第 2 潮菇的成熟期 (D2) 甚至出现轻微下降趋势。

**2.3.4 漆酶和 POD 活性** 由图 1e、1f 可知, 印度丽

蘑菇外漆酶和 POD 具有基本相同的活性变化趋势,这 2 种酶均在栽培前期活性较高,在栽培过程中这 2 种酶的活性有所波动,但总体上均随栽培时间的延长逐渐下降。田土+牛粪处理漆酶活性下降趋势最大,且在第 2 潮菇期下降幅度变缓;而 POD 活性下降幅度较小,在整个过程中能维持相对较高的水平。田土+沙子处理的漆酶活性整体偏低,波动幅度最小;POD 活性变动与田土类似。菌渣处理的漆酶活性下降最多,POD 活性在第 1 潮菇时期迅速下降,而到第 2 潮菇幼菇期 (C2) 酶活性上升,之后急剧下降,整个过程酶活性变化不稳。

2.3.5 半纤维素酶活性 由图 1g 可知,在第 1 潮菇期,4 种处理下半纤维素酶活性变化规律基本一致,呈现先升高后降低的趋势,均在幼菇期 (C1) 达到酶活性的最高峰。第 2 潮菇期,菌渣处理酶活性的变化规律与其余 3 种处理不同,其在原基期 (B2) 出现最高峰,随后缓慢下降。其余 3 种处理下酶活性在原基期 (B2) 之后先下降后上升再下降,在成熟期 (D2) 达到峰值,其中田土+牛粪处理酶活性略高于其余 3 种处理。

2.3.6 PPO 活性 4 种覆土材料对印度丽蘑 PPO 活性的影响如图 1h 所示,PPO 活性在 2 个潮菇期均呈现先平稳上升后下降至与菌丝时期相近的活性水平,酶活性高峰几乎全部出现在成熟期。整个阶段中,田土+牛粪处理子实体发育各时期 PPO 活性基本处于最高或居于第 2。

3 讨论与结论

3.1 覆土材料对印度丽蘑产量构成因子的影响

印度丽蘑由营养生长向生殖生长过渡时覆土是重要的环节,覆土材料的选择在一定程度上对印度丽蘑的产量产生较大的影响。不适合的覆土材料将导致菌丝生长速度慢、生成量少、生长不均匀等情况,严重降低总产量。孙彬等<sup>[32]</sup>的研究表明,优质覆土材料应具备良好的透气性、持水性和均匀性等特点。本试验以田土、田土+牛粪、菌渣、田土+沙子为覆土材料,从产量结果可知,以田土+牛粪作为印度丽蘑覆土材料最合适,菌渣次之,田土+沙子最差。田土透气性、持水性一般,在多次施水后易板结,不利于菌丝的生长,这是产量不高的主要原因。在田土中加入沙子,能够提高其疏松程度,但沙子本身持水性差,营养物质含量少,不能有效地提高其产量。菌渣是食用菌生产的下脚料,可用于二次种菇,本身理化特性好,赵凤良等<sup>[33]</sup>研究表明菌渣的最大持水力在 63%~64% 之间,可为子实体发育

提供必需的水分,但在本试验中菌渣现蕾的时间太长。前人研究表明,在覆土材料中添加牛粪,其电导性有剧烈升高现象,表明菌丝体在生长,这些离子进入菌丝体后引起底物降解进而导致电导性增高,也说明了菌丝体从覆土层中吸收了营养物质<sup>[34]</sup>,因此,田土+牛粪处理的总产量最高。综上所述,在实际生产中建议采用田土+牛粪作为覆土材料。

3.2 不同覆土材料对印度丽蘑菌丝体可溶性蛋白含量的影响

在印度丽蘑生长过程中,可溶性蛋白的含量伴随着菌体的生长发育产生变化。毛慧玲等<sup>[35]</sup>研究发现金针菇不同生长时期的菌丝生长量与可溶性蛋白含量变化有紧密联系。本试验采用 4 种覆土材料,研究结果表明可溶性蛋白含量均随着菌体的生长发育逐渐升高,直到间期时才急速下降。在第 1 潮菇期,除菌渣处理外,其他 3 种处理下可溶性蛋白含量的升高幅度更大。总体来看,田土+牛粪处理下可溶性蛋白含量较高。

3.3 不同覆土材料对印度丽蘑菌丝体胞外酶活性的影响

CMC 能够水解纤维素,在菌体生长发育的旺盛期,需要不断地吸收营养物质,在此时期,CMC 活性较高。赵亚东<sup>[36]</sup>在试验中发现,侧耳和金针菇菌丝 CMC 活性与子实体的产量呈正相关。

淀粉酶在食用菌菌体生长发育过程中水解糖源和可溶性淀粉,提供碳源。在试验中发现,淀粉酶活性在幼菇和成熟期保持相对较高的活性水平。在前人试验中也发现,淀粉酶的活性最高峰保持在生长旺盛时期<sup>[37]</sup>。方新新<sup>[8]</sup>对印度丽蘑菌丝各个阶段果胶酶的研究中发现,酶的活性越高,子实体生长状况越好,并且原基的出现与酶的活性有一定的关联。试验结果表明,第 1 潮菇酶活性随着菌丝的生长逐渐增强,在成熟期达到高峰。

漆酶在食用菌生长中参与木质素的降解,为菌体的生长提供丰富的碳源。韩增华等<sup>[38]</sup>研究发现木耳产量与漆酶等纤维素酶活性呈正相关。陈建军等<sup>[39]</sup>在固体栽培试验中发现平菇漆酶的活性在菌丝体长到 40 mm 左右时最高,出菇之后活性降低,出现低峰期。在本次试验中,漆酶的活性变化规律与陈建军等<sup>[39]</sup>的结果相符,即在幼菇时期出现酶活性低峰,以田土+牛粪处理下酶活性变化最明显。POD 被称为食用菌的保护酶。前人研究表明,温度胁迫能够造成 POD 活性的改变<sup>[40]</sup>。在试验过程中,POD 的整体活性随着栽培时间的延长缓慢降低;在 4 种处理中,以田土+牛粪为覆土材料时,其酶



活性波动范围较小, 整体保持一个较高的活性水平。

半纤维素酶通过降解半纤维素为菌体的生长发育提供大量的碳源。研究发现, 半纤维素酶活性在子实体形成阶段较高<sup>[41]</sup>。本次试验中, 半纤维素酶活性的变化符合该研究结论, 即在幼菇和成熟期分别达到一个高峰。

在食用菌中, PPO 又被称为酪氨酸酶, 位于一些衰老及受损的细胞中, PPO 能够将天然底物  $\gamma$ -谷氨酸-4-羟基苯、酪氨酸以及 3,4-二羟基苯丙氨酸氧化成红色的醌类, 这些酚类氧化成醌类可导致子实体褐变。也有试验表明, 酚类物质被氧化后具有一定的毒性, 可以避免其他微生物的侵入<sup>[42]</sup>。同时, 多酚氧化酶在木质素降解过程中, 对微生物代谢起到催化的作用, 潘迎捷等<sup>[43]</sup>研究了香菇菌丝生长中 PPO 活性的动态变化, 发现在菌丝生长前期, PPO 活性较低, 在接下来的时期, PPO 活性达到一个高峰, 本试验中酶活性测定结果与前人试验结论相符。

3.4 结论

本文以田土、田土+牛粪、菌渣、田土+沙子为覆土材料, 研究了印度丽蘑覆土后的农艺性状和产量, 同时测定了可溶性蛋白含量及胞外酶活性的变化。结果表明, 以田土+牛粪为覆土材料, 现蕾时间最短、子实体产量最高、出菇密度最高; 以菌渣为覆土材料时, 产量和出菇密度次之, 但现蕾时间最长。田土+沙土处理不适合作为覆土材料。在印度丽蘑不同生长期, 各覆土处理的可溶性蛋白含量呈上升趋势, 在整个生长期, 以田土+牛粪为覆土材料时可溶性蛋白含量较高。

参考文献:

[1] AMIN R, KHAIR A, ALAM N, et al. Effect of different substrates and casing materials on the growth and yield of calocybe indica[J]. *Mycobiology*, 2010, 38(2): 97.

[2] SUBBIAH K A, BALAN V. A comprehensive review of tropical milky white mushroom (*Calocybe indica* P&C)[J]. *Mycobiology*, 2015, 43(3): 184-194.

[3] SENTHILNAMBI D, ESWARAN A, BALABASKAR P. Cultivation of *Calocybe indica* (P and C) during different months and influence of temperature and relative humidity on the yield of summer mushroom[J]. *Afr J Agr Res*, 2011, 6(3): 771-773.

[4] CHANDRAVADANA M V, VEKATESHWARLU G, BABU C S B, et al. Volatile flavour components of dry milky mushrooms (*Calocybe indica*)[J]. *Flavour Frag J*, 2010, 20(6): 715-717.

[5] CHAKRABORTY U, SIKDAR S R. Intergeneric protoplast fusion between *Calocybe indica* (milky mushroom) and *peurotus florida* aids in the qualitative and quantit-

ative improvement of sporophore of the milky mushroom[J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2010, 26(2): 213-225.

[6] PANI B K. Effect of spawning methods on sporophore production of *Calocybe indica*[J]. *Biosci Discov*, 2011, 2(2): 189-190.

[7] SATYANARAYANA B, RAMAN A V, DEHAIRS F, et al. Mangrove floristic and zonation patterns of Coringa, Kakinada Bay, East Coast of India[J]. *Wetl Ecol Manag*, 2002, 10(1): 25-37.

[8] 方新新. 印度丽蘑生物学特性及适应性栽培研究 [D]. 南宁: 广西大学, 2017.

[9] DOSHI A, SIDANA N, CHAKRAVARTI B P. Cultivation of summer mushroom *Calocybe indica* (P & C) in Rajasthan[J]. *Mushroom Science*, 1989, 12(4): 187-191.

[10] KASTHURI R, KARTHEESWARAN S, THANGAVEL K, et al. Studies on qualities of canned milky mushroom (*Calocybe indica*)[J]. *J Mol Biol*, 2007, 209(3): 489-491.

[11] PHAN C W, DAVID P, SABARATNAM V. Edible and medicinal mushrooms: Emerging brain food for the mitigation of neurodegenerative diseases[J]. *J med Food*, 2017, 20(1): 1.

[12] VIJAYKUMAR G, JOHN P, GANESH K, et al. Selection of different substrates for the cultivation of milky mushroom (*Calocybe indica* P & C)[J]. *Indian J Tradit Know*, 2014, 13(2): 434-436.

[13] SINGH M, SINGH A K, GAUTAM R K. Effect of casing and supplementation on yield of milky mushroom (*Calocybe indica*)[J]. *Indian Phytopathol*, 2007, 60(2): 191-193.

[14] 赵嘉菱, 张猛, 韦锦范, 等. 不同添加物基料及覆土材料对印度丽蘑生长和产量的影响 [J]. *南方农业学报*, 2018, 49(8): 1581-1587.

[15] ALAM N, AMIN R, KHAIR A, et al. Influence of different supplements on the commercial cultivation of milky white mushroom[J]. *Mycobiology*, 2010, 38(3): 184-189.

[16] 李传华, 刘培培, 赵春生, 等. 无需覆土的蘑菇属食用菌: 中国美味蘑菇 [J]. *菌物学报*, 2018, 37(5): 595-605.

[17] 李静, 赵洪, 马媛. 杏鲍菇覆土栽培及追肥对产量的影响 [J]. *食用菌*, 2012, 34(6): 37-38.

[18] NOBLE R, DOBROVIN-PENNINGTON A, EVERED C E, et al. Properties of peat-based casing soils and their influence on the water relations and growth of the mushroom (*Agaricus bisporus*)[J]. *Plant Soil*, 1998, 207(1): 1-13.

[19] EGER-HUMMEL G. Blue-light photomorphogenesis in mushrooms (basidiomycetes)[C]// SENGHER H. The blue light syndrome, Berlin: Springer-Verlag, 1980.

[20] NAIR N G, HAYES W A. Some effects of casing soil amendments on mushroom cropping[J]. *Aust J Agr Res*, 1975, 26(1): 181-188.

[21] SMERDON M. Thoughts on casing[J]. *Mushroom Journal*, 1983, 12(4): 193-194.

[22] 方白玉. 粤北野生灵芝与栽培灵芝同工酶及可溶性蛋

白的研究 [J]. 食用菌, 2013, 35(1): 9-11.

[23] STASZ T E, NIXON K, HARMAN G E, et al. Evaluation of phenetic species and phylogenetic relationships in the genus *Trichoderma* by cladistic analysis of isozyme polymorphism.[J]. *Mycologia*, 1989, 81(3): 391-403.

[24] 顾雅君, 王英, 刘建荣, 等. 与食用菌相关主要酶的研究与应用 [J]. 中国食用菌, 2006, 7(1): 40-42.

[25] CARLSSON N, BORDE A, WÖLFEL S, et al. Quantification of protein concentration by the Bradford method in the presence of pharmaceutical polymers[J]. *Anal Biochem*, 2011, 411(1): 116-121.

[26] 邵伟, 乐超银, 黄艺, 等. 蘑菇多酚氧化酶酶学特性初步研究 [J]. 食用菌, 2007, 29(2): 5-6.

[27] 张志良. 植物生理实验指导 [M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 1990: 153-154.

[28] 曾璐漫, 康信聪, 周荣辉, 等. 不同培养基成分对灵芝漆酶酶活的影响 [J]. 食用菌, 2015, 37(3): 7-8.

[29] 王玉万, 王云. 构菌栽培过程中对木质纤维素的降解和几种多糖分解酶活性的变化 [J]. 微生物学通报, 1989, 16(3): 137-140.

[30] SHAMALA T R, SCREEKANTIAN K R. Production of cellulases and *D*-xylanase by some selected fungal isolases[J]. *Enzyme Microb Technol*, 1986, 8(3): 178-182.

[31] 吕春鹤, 孙婷婷, 张健, 等. 几种常见食用菌胞外酶活性测定方法的研究 [J]. 中国林副特产, 2013(5): 93-96.

[32] 孙彬, 张楠, 汪潮柱, 等. 覆土对双孢菇生长发育的影响 [J]. 安徽农业科学, 2018, 46(4): 45-46.

[33] 赵凤良, 王尚堃, 雷新梅. 3 种不同覆土材料对双孢蘑菇栽培的影响 [J]. 安徽农业科学, 2006, 34(18): 4555-4557.

[34] DAN LEVANON, 贺新生. 双孢蘑菇在不同覆土层上的营养利用差异 [J]. 西南科技大学学报(哲学社会科学版), 1988(3): 69-73.

[35] 毛慧玲, 李思光. 金针菇菌丝生长量与可溶性蛋白含量变化比较研究 [J]. 食用菌学报, 1998, 5(4): 34-36.

[36] 赵亚东. 不同培养料对秀珍菇生长发育、产量及胞外酶的影响 [D]. 南京: 南京农业大学, 2011.

[37] 俞苓, 刘民胜, 陈有容. 杏鲍菇液体培养中胞外酶活性变化 [J]. 食用菌, 2003, 25(1): 7-8.

[38] 韩增华, 张丕奇, 孔祥辉, 等. 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.

[39] 陈建军, 杨清香, 王栋, 等. 不同生长阶段平菇漆酶、纤维素酶活性研究 [J]. 西北农业学报, 2007, 16(1): 87-89.

[40] 刘秀明, 郑素月, 图力古尔, 等. 温度胁迫对白灵侧耳菌丝保护酶活性的影响 [J]. 食用菌学报, 2010, 17(2): 60-62.

[41] 王伟科, 陆娜, 周祖法, 等. 8 种胞外酶在香菇不同生长阶段的活性变化 [J]. 浙江农业科学, 2014, 1(4): 501.

[42] 郑海歌, 顾向红. 蘑菇中的多酚氧化酶及其同工酶 [J]. 食用菌, 1990, 12(6): 17-18.

[43] 潘迎捷, 陈明杰. 香菇菌丝生长中多酚氧化酶的动态变化 [J]. 食用菌, 1990, 12(3): 4-6.

【责任编辑 庄 延】