

网络出版时间:2018-05-25 09:43

DOI: 10.13207/j.cnki.jnwafu.2018.11.015

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20180525.0940.030.html>

# 茶树菇生长发育过程中几种胞外酶活性的变化

吴亚召, 张文隽, 雷萍, 杜芳

(陕西省微生物研究所, 陕西 西安 710043)

**【摘要】**【目的】研究 3 株茶树菇菌株栽培过程中 7 种胞外酶活性的变化规律, 了解茶树菇在不同生长发育阶段利用营养物质的规律。【方法】以茶树菇菌株 ZK08、JX09、Ag16 为材料, 将其接种于组分为棉籽壳 39%、木屑 30%、麸皮 20%、玉米粉 8%、蔗糖 1.5%、石膏 1.5% (均为质量分数), 含水量 62% 的栽培袋中。25 °C 条件下遮光培养 50~60 d, 分别在菌丝生长半袋、满袋、现蕾、出一潮菇、一潮菇子实体成熟、出二潮菇、二潮菇子实体成熟和二潮菇采收 1 周后, 测定羧甲基纤维素酶、淀粉酶、滤纸纤维素酶、半纤维素酶、漆酶、多酚氧化酶和过氧化物酶的活性, 分析其活性变化规律。【结果】3 株茶树菇菌株在栽培过程中的 7 种胞外酶活性变化规律基本一致, 但表现出明显的阶段性。其中淀粉酶、羧甲基纤维素酶、滤纸纤维素酶、半纤维素酶活性均表现出先升后降的趋势, 峰值出现在一潮菇子实体成熟前; 而漆酶、多酚氧化酶和过氧化物酶活性则随着栽培时间延长一直呈下降趋势。【结论】漆酶、多酚氧化酶和过氧化物酶的高峰值比羧甲基纤维素酶、半纤维素酶来得早; 淀粉酶的高峰出现在一潮幼菇期到子实体成熟期。因此在培养基中添加适量淀粉类物质可促进茶树菇的生殖发育。

**【关键词】** 茶树菇; 生长发育; 胞外酶活性

**【中图分类号】** S646

**【文献标志码】** A

**【文章编号】** 1671-9387(2018)11-0115-06

## Changes of extracellular enzymes activities during development of *Agrocybe aegerita*

WU Yazhao, ZHANG Wenjun, LEI Ping, DU Fang

(Microbiology Institute of Shaanxi, Xi'an, Shaanxi 710043, China)

**Abstract:**【Objective】We studied the changes in activities of seven extracellular enzymes during the cultivation of three different *Agrocybe aegerita* strains and studied the utilization of nutrients at different growth stages to provide basis for selection of high-yield cultivation substrate.【Method】Strains ZK08, JX09 and Ag16 were cultured in bags consisted of cotton seed hulls 39%, sawdust 30%, bran 20%, corn flour 8%, sucrose 1.5%, gypsum 1.5%, and water 62%. They were cultured at 25 °C under shade for 50—60 d. The activities of enzymes including carboxymethyl cellulase, amylase, filter paper cellulase, hemicellulase, laccase, polyphenol oxidase and peroxidase at different growth stages including hypha growing half bag, full bag, budding, first mushroom, fruiting bodies mature of first mushroom, second fruiting bodies mature of the second mushroom and one week after picking second mushroom were measured and analyzed.【Result】The three *Agrocybe aegerita* strains had basically same changes in activities of extracellular enzyme with obvious stage characteristics. The activities of amylase, carboxymethyl cellulase, filter cellulase and hemicellulase increased first with peaks before the maturing of first fruiting body and then decreased. Activities of laccase, polyphenol oxidase and peroxidase presented downward trend along with the cultiva-

【收稿日期】 2017-07-28

【基金项目】 陕西省科技厅科技计划项目“茶树菇新品种选育及栽培技术研究”(2016NY-037); 西安市科技局科技计划项目“新品种选育引进及新技术研究推广——茶树菇菌种选育及标准化生产技术研究”(NC1501(8))

【作者简介】 吴亚召(1962—), 男, 云南文山山人, 副研究员, 主要从事食药真菌资源开发利用研究。E-mail: wuyazhaonstl@sina.com

【通信作者】 雷萍(1966—), 女, 陕西高陵人, 副研究员, 主要从事食药真菌资源开发利用研究。E-mail: wuleiping2529@126.com

tion time. 【Conclusion】 The peak values of laccase, polyphenol oxidase and peroxidase activates appeared earlier than that of carboxymethyl cellulase and hemicellulase. The peak of amylase occurred at stages from first young mushroom to the mature of first fruiting body. So the addition of starch in medium can promote the reproductive development of tea mushroom.

**Key words:** *Agrocybe aegerita*; growth and development; extracellular enzyme activity

茶树菇 (*Agrocybe aegerita*) 隶属担子菌亚门 (Basidiomycotina)、层菌纲 (Hymenomycetes)、伞菌目 (Agaricales)、粪锈伞科 (Bolbitiaceae)、田头菇属 (*Agrocybe*), 又名茶薪菇、油茶菇<sup>[1]</sup>, 其味道鲜美, 脆嫩可口; 含有人体所需的 18 种氨基酸, 其中有人体不能合成的 8 种氨基酸, 还含有丰富的 B 族维生素和多种矿物质元素, 长期食用还具有补肾、润肺、醒脑、抗衰老和降低胆固醇等功效, 是一种营养价值、药用价值均较高的珍稀食用菌<sup>[2-3]</sup>。

食用菌在生长发育过程中, 为满足自身生长发育的需要, 往往会通过分泌胞外酶将培养基中的大分子营养物质分解为小分子营养物质, 用于菌丝的吸收、转化和利用<sup>[4-6]</sup>。这些大分子物质的分解转化过程与菌丝体生长发育不同阶段分泌的胞外酶活性关系密切, 因此了解胞外酶活性的变化规律, 可以很好地了解食用菌不同生长阶段对营养的分解利用情况<sup>[7]</sup>。国内诸多学者对栽培规模较大的食用菌营养生理进行了研究, 大部分研究表明, 通过研究不同食用菌的胞外酶分泌特点、活性大小以及动态变化规律, 可以推测该食用菌在不同生长发育阶段对培养基中纤维素、淀粉等大分子营养成分的降解动态<sup>[8-14]</sup>。但有关茶树菇的胞外酶研究国内尚未见报道, 本研究拟以 3 株茶树菇菌株为对象, 分析栽培过程中菌丝生长与子实体生长发育阶段分泌的相关酶活性的关系, 以期为了解各菌株对培养料中不同组分的分解利用能力提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌株

3 株茶树菇 ZK08、JX09、Ag16, 均为陕西省微生物研究所微生物资源中心保藏菌种。

### 1.2 培养基

母种培养基: 综合 PDA 培养基。

栽培培养基: 棉籽壳 39%, 木屑 30%, 麸皮 20%, 玉米粉 8%, 蔗糖 1.5%, 石膏 1.5% (均为质量分数); 含水量 62% 左右。

### 1.3 菌种培养及粗酶液的制备

菌丝生长阶段培养条件为温度 25 ℃, 遮光, 空

气相对湿度 50%~60%, 母种培养 10 d, 原种 35 d, 栽培料培养 50~60 d; 出菇采用常规管理<sup>[15]</sup>, 出两潮菇后采收。

分别在 8 个阶段取样<sup>[16]</sup>, 按照菌丝生长半袋、满袋、现蕾、出一潮菇、一潮菇子实体成熟、出二潮菇、二潮菇子实体成熟和二潮菇采收 1 周的发育时段采样。分别取培养基上、中、下部位的培养料 20 g, 加入 100 mL 蒸馏水混匀, 20 ℃ 浸泡 4 h 后过滤, 4 000 g 离心 5 min, 取上清液即为粗酶液。

### 1.4 酶活性的测定

1.4.1 羧甲基纤维素 (CMC) 酶、淀粉酶和滤纸纤维素 (FP) 酶 参考 Mandels 等<sup>[17]</sup> 和王玉万等<sup>[18]</sup> 的方法测定酶活性。CMC 酶和淀粉酶: 30 min 内催化底物生成 1 mg 葡萄糖所需的酶量为一个活力单位; FP 酶: 60 min 内催化底物生成 1 mg 葡萄糖所需的酶量为一个活力单位。

1.4.2 半纤维素酶 (HC) 参考 Shamala 等<sup>[19]</sup> 的方法测定酶活性。30 min 内催化底物生成 1 mg 木糖所需的酶量为一个活力单位。

1.4.3 漆酶 (LAC)、多酚氧化酶和过氧化物酶 参考潘迎捷等<sup>[20]</sup> 和张志良<sup>[21]</sup> 的方法测定酶活性。每分钟使 OD 值改变 0.01 所需的酶量为一个活力单位。

### 1.5 数据统计分析

采用 Excel 软件进行数据统计和制图。

## 2 结果与分析

### 2.1 茶树菇不同生长阶段羧甲基纤维素酶活性的变化

3 株茶树菇菌种 ZK08、JX09 和 Ag16 不同生长阶段羧甲基纤维素酶活性变化见图 1。从图 1 可以看出, 在整个生长发育过程中, 3 株茶树菇菌种胞外羧甲基纤维素酶活性变化规律基本一致, 但不同菌株在同一发育时期的酶活性差异较大。在菌丝生长阶段羧甲基纤维素酶活性均较低, 增长缓慢; 在现蕾期之后酶活性迅速增加, 至一潮菇子实体成熟时, 酶活性达到最大值, ZK08、JX09 和 Ag16 分别为 24.83, 21.64 和 26.57 U; 在二潮菇现蕾至采收期间

酶活性迅速降至最低,分别为 6.64,4.88 和 8.44 U。其中以茶树菇 Ag16 在栽培过程中产生的羧甲基纤维素酶活性最大。

1. 菌丝生长半袋;2. 满袋;3. 现蕾;4. 出一潮菇;5. 一潮菇子实体成熟;
6. 出二潮菇;7. 二潮菇子实体成熟;8. 二潮菇采收 1 周后。下图同
1. Hypha growing half bag;2. Full bag;3. Budding;4. First mushroom;5. Fruiting bodies mature of the first mushroom;
6. Second mushroom;7. Fruiting bodies mature of the second mushroom;8. One week after picking the second mushroom. The same below

图 1 3 株茶树菇不同生长阶段羧甲基纤维素酶活性的变化  
Fig. 1 Changes of CMC enzyme activities at different growth stages

## 2.2 茶树菇不同生长阶段淀粉酶活性的变化

3 株茶树菇菌种 ZK08、JX09 和 Ag16 栽培过程中的淀粉酶活性变化见图 2。由图 2 可以看出,3 株

菌淀粉酶活性的变化规律基本一致,在同一生长阶段不同菌株的酶活性有一定差异,且以 ZK08 产生的淀粉酶活性最大。在菌丝生长期,淀粉酶活性增长缓慢,可能是因为对淀粉类物质的需求不是很大,诱导产生的淀粉酶量也较少;在一潮菇幼菇形成至一潮菇子实体采收时因需要分解淀粉类物质提供营养,淀粉酶活力达到最大,ZK08、JX09 和 Ag16 分别为 12.38,8.65 和 11.64 U;一潮菇采收后培养基中的淀粉类物质被消耗,因此 3 株菌的淀粉酶活性均迅速减小,至二潮菇采收时,分别为 3.10,2.03 和 2.15 U。

## 2.3 茶树菇不同生长阶段滤纸纤维素酶活性的变化

3 株茶树菇不同生长阶段滤纸纤维素酶活性变化见图 3。从图 3 可以看出,茶树菇菌种 ZK08 和 Ag16 的滤纸纤维素酶活性变化趋势基本一致,菌丝生长期酶活性不断增大,在满袋时达到最大,分别为 13.36,14.06 U;菌丝长满至一潮菇子实体成熟期间酶活性呈下降趋势,二潮菇幼菇形成期间酶活性有小幅上升,之后一直下降至最低,分别为 4.19,6.18 U;茶树菇菌种 JX09 的滤纸纤维素酶活性在菌丝生长期不断升高,现蕾期最大为 12.67 U,之后一直呈下降趋势,在二潮菇子实体采收后降至最低(3.07 U)。不同菌株在同一生长时期的酶活性差异较大,且以茶树菇 Ag16 产生的滤纸纤维素酶活性最大。

图 2 3 株茶树菇不同生长阶段淀粉酶活性的变化  
Fig. 2 Changes of amylolytic enzyme activities at different growth stages

## 2.4 茶树菇不同生长阶段半纤维素酶活性的变化

从图 4 可以看出,3 株茶树菇菌种 ZK08、JX09 和 Ag16 的半纤维素酶活性变化规律基本一致,但 3 株菌在同一生长阶段的酶活性有一定差异性,具体表现为菌丝生长前期半纤维素酶活性增长缓慢,随

图 3 3 株茶树菇不同生长阶段滤纸纤维素酶活性的变化  
Fig. 3 Changes of FP enzyme activities at different growth stages

着茶树菇菌丝的不断生长,需要分解培养基中的纤维素类物质来满足生长需求,从而诱导产生大量半纤维素酶,因此其酶活性快速上升,至一潮菇幼菇形成时达到最大,ZK08、JX09 和 Ag16 分别为 5.63,5.17 和 4.93 U;在一潮菇子实体生长至二潮菇子实

体成熟期间,3 株菌的半纤维素酶活性均迅速减小,至二潮菇采收时,分别为 0.54,0.42 和 1.08 U。总体而言,在栽培过程中以 ZK08 产生的半纤维素酶活性最大。

## 2.5 茶树菇不同生长阶段漆酶活性的变化

由图 5 可以看出,3 株茶树菇菌种 ZK08、JX09

和 Ag16 在栽培过程中漆酶活性变化规律基本一致,不同菌株在同一生长时期的酶活性有一定差异。整个生长过程中酶活性都呈下降趋势,二潮菇子实体成熟时均降至最低,ZK08、JX09 和 Ag16 分别为 3.20,3.17 和 3.40 U。菌丝生长半袋时 3 株菌的酶活性最大,分别为 23.52,16.63 和 20.10 U。

图 4 3 株茶树菇不同生长阶段半纤维素酶活性的变化

Fig. 4 Changes of HC enzyme activities at different growth stages

## 2.6 茶树菇不同生长阶段多酚氧化酶活性的变化

从图 6 可以看出,3 株茶树菇菌种 ZK08、JX09 和 Ag16 的多酚氧化酶活性变化规律基本一致,在同一生长时期 3 株菌的酶活性存在一定差异性。整个栽培过程中酶活性一直呈下降趋势,ZK08、JX09 和 Ag16 分别从菌丝半袋时的 20.32,19.87 和 17.34 U 下降至二潮菇采收 1 周后的 5.02,4.24 和 3.38 U。

## 2.7 茶树菇不同生长阶段过氧化物酶活性的变化

从图 7 可以看出,在栽培过程中茶树菇菌种

图 5 3 株茶树菇不同生长阶段漆酶活性的变化

Fig. 5 Changes of laccase activities at different growth stages

ZK08 和 JX09 过氧化物酶活性变化规律基本一致,在整个栽培过程中酶活性一直呈下降趋势,分别从菌丝半袋时的 14.69,15.73 U 降至二潮菇采收 1 周后的 4.13,3.02 U;Ag16 酶活性在菌丝生长期有小幅升高,之后的变化规律同 ZK08 和 JX09,一直呈下降趋势,酶活性从最初的 13.58 U 降至二潮菇采收 1 周后的 3.83 U。3 株茶树菇菌种在同一生长时期分泌的酶活性差异不明显。

图 6 3 株茶树菇不同生长阶段多酚氧化酶活性的变化

Fig. 6 Changes of polyphenol oxidase activities at different growth stages

图 7 3 株茶树菇不同生长阶段过氧化物酶活性的变化

Fig. 7 Changes of peroxidase activities at different growth stages

### 3 讨 论

食用菌胞外酶活性在其生育期内处于动态变化中<sup>[22-25]</sup>。本研究通过测定 3 株茶树菇不同生长阶段羧甲基纤维素酶、淀粉酶、滤纸纤维素酶、半纤维素酶、漆酶、多酚氧化酶和过氧化物酶的活性,发现不同菌株在整个生长发育期内酶活性变化有别。

羧甲基纤维素酶、滤纸纤维素酶和半纤维素酶可以分解基质中的纤维素、半纤维素,来满足生长、繁殖所需的营养。本研究中,3 株茶树菇的这 3 种酶在菌丝生长后段都呈上升趋势,有利于菌丝对纤维素、半纤维的降解吸收,可为子实体生长发育积累充足的碳源营养;在子实体不同生长阶段酶活性又都有不同程度上升,可能是因为菌丝体生长贮存的营养物质已不能满足子实体迅速生长的需要,从而诱导分泌纤维素分解酶以分解利用培养基中的纤维素和木质素物质;在子实体形成后,由于培养基内纤维素类物质已被消耗,因此这 3 种酶活性均迅速下降。

本研究中,当蔗糖在菌丝生长阶段被消耗之后,大量的淀粉酶被诱导产生,以降解淀粉类物质,满足菌丝生长和生殖生长初期的营养需求。在一潮菇幼菇形成时,淀粉酶活性达到最大,此后随着淀粉类物质被消耗殆尽,酶活性越来越低,直至最后采收。因此,在培养基内添加适量淀粉类物质,可提高菌丝体生长的活力,为生殖生长积累充足的营养,促进生殖发育。

漆酶、多酚氧化酶和过氧化物酶均是参与木质素降解的 3 种酶类<sup>[26]</sup>。本研究中,3 株茶树菇的木质素降解酶活性在菌丝生长初期均较高,随着菌丝的不断生长,酶活性缓慢下降,原基形成后下降趋势明显。这表明菌丝生长阶段对木质素的降解速率较快,以提供充足的碳源满足菌丝体生长营养需求,并为生殖生长积累充足的营养。木屑中含有 20% 以上的木质素,对纤维素的酶解具有物理性的屏障作用,需要被优先分解利用,之后纤维素和半纤维素才进一步分解。所以漆酶、多酚氧化酶和过氧化物酶的高峰值比羧甲基纤维素酶、半纤维素酶来得早。

本研究中,茶树菇胞外纤维素酶活性的动态变化规律可以用 Chanter<sup>[27]</sup>提出的数学模型进行解释,即在子实体发育前期,营养物质被菌丝以一定速度积累,营养物质积累到某个值时,便引发子实体发生;随着子实体生物量的增加,菌丝体中的营养物质不断被消耗,当营养物质到一定下限水平时,相应的

子实体发育就受阻停滞。这表明胞外纤维素酶和半纤维素酶与子实体发育之间存在某种内在的调控机制,但该调控机制尚需进一步研究。

### [参考文献]

- [1] 卯晓岚. 中国大型真菌 [M]. 郑州:河南科学技术出版社, 2000.  
Mao X L. Large fungi China [M]. Zhengzhou: Henan Science and Technology Press, 2000.
- [2] 郑毅,余望,施巧琴,等. 茶薪菇人工栽培及营养成分分析 [J]. 中国食用菌, 1999, 18(5): 13-14.  
Zheng Y, Yu W, Shi Q Q, et al. Analysis of artificial cultivation for *Agrocybe aegerita* and the analysis on their nutritional components [J]. Edible Fungi China, 1999, 18(5): 13-14.
- [3] 陈小保,谭育林,褚武英. 茶树菇-Ws 子实体营养成分分析研究 [J]. 安徽农业科学, 2013, 41(29): 11851, 11880.  
Chen X B, Tan Y L, Chu W Y. Analysis on *Agrocybe aegerita*-Ws sporophore nutritional components [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2013, 41(29): 11851, 11880.
- [4] 吴圣进,王灿琴,汪茜,等. 草菇生长发育过程中胞外酶活性变化 [J]. 中国食用菌, 2015, 34(1): 53-56.  
Wu S J, Wang C Q, Wang Q, et al. Activity changes of extracellular enzyme secreted by *Volvariella volvacea* during its growth and development [J]. Edible Fungi China, 2015, 34(1): 53-56.
- [5] 申进文,吴婷婷,庄庆利,等. 平菇栽培过程中胞外酶活性的变化 [J]. 食用菌学报, 2010, 17(2): 56-59.  
Shen J W, Wu T T, Zhuang Q L, et al. Changes of extracellular enzyme activity during *Pleurotus ostreatus* cultivation [J]. Acta Edulis Fungi, 2010, 17(2): 56-59.
- [6] 李娟,倪新江,樊守金,等. 金顶侧耳不同生长期几种胞外酶活性变化 [J]. 吉林农业大学学报, 2006, 28(6): 619-622.  
Li J, Ni X J, Fan S J, et al. Changes of several extracellular enzymes activities during different growth periods of *Pleurotus citrinipileatus* [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2006, 28(6): 619-622.
- [7] 李伟平. 碳氮营养对秀珍菇生长发育及胞外酶活性的影响 [D]. 河北保定:河北农业大学, 2007.  
Li W P. Effects of carbon and nitrogen nutrition on the growth and development as well as extracellular enzyme activity of *Pleurotus geesteranus* [D]. Baoding, Hebei: Hebei Agricultural University, 2007.
- [8] 李守勉,李明,田景花,等. 八个杏鲍菇菌株胞外酶活性及蛋白质含量的研究比较 [J]. 食用菌, 2007(6): 11-12.  
Li S M, Li M, Tian J H, et al. Comparison of extracellular enzyme activity and protein content of eight *Pleurotus eryngii* strains [J]. Edible Fungi, 2007(6): 11-12.
- [9] 张国利,田雪梅,宋爱荣. 八个樟芝菌株液体培养两种胞外酶活性的测定 [J]. 中国食用菌, 2009, 28(2): 43-45.  
Zhang G L, Tian X M, Song A R. Determination of two exoenzymes activity of eight *Taiwanofungus formosanus* strains

- [J]. *Edible Fungi China*, 2009, 28(2): 43-45.
- [10] 牛福文, 印桂玲, 刘宝增. 黑木耳栽培期两种培养基主要组分的降解和有关酶活的变化 [J]. *微生物学通报*, 1990, 17(4): 201-204.
- Niu F W, Yin G L, Liu B Z. Degradation of main components in two culture medium for *Auricularia auricula* during cultivation stage and the changes of related enzymes [J]. *Microbiology China*, 1990, 17(4): 201-204.
- [11] 周长青, 王秀峰, 李玉. 白灵菇生长发育过程中胞外酶活性的变化规律 [J]. *食用菌学报*, 2008, 15(2): 64-68.
- Zhou C Q, Wang X F, Li Y. Changes of extracellular enzyme activity during the growth and development of *Pleurotus nebrodensis* [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2008, 15(2): 64-68.
- [12] 冯伟林, 蔡为明, 金群力, 等. 金针菇生长发育期间相关胞外酶的活性变化研究 [J]. *浙江农业学报*, 2012, 24(3): 430-433.
- Feng W L, Cai W M, Jin Q L, et al. Changes of several extracellular enzymes activities in *Flammulina velutipes* during its growth and development [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2012, 24(3): 430-433.
- [13] 刘朝贵, 邵坤, 聂和平, 等. 不同培养料对鸡腿菇胞外酶活性影响的研究 [J]. *西南师范大学学报*, 2008, 33(1): 40-42.
- Liu C G, Shao K, Nie H P, et al. Study on the effects of different culture media on extracellular enzyme activity in *Coprinus comatus* [J]. *Journal of Northwest Normal University*, 2008, 33(1): 40-42.
- [14] 李卫欣, 贾素巧, 姚太梅. 猴头菌液体培养木质素酶的研究 [J]. *江苏农业科学*, 2010(3): 314-315.
- Li W X, Jia S Q, Yao T M. Study on ligninase in liquid culture of *Hericium erinaceus* [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2010(3): 314-315.
- [15] 陈躬国, 林原, 郑英姿, 等. 茶树菇周年生长栽培技术 [J]. *中国食用菌*, 2012, 31(3): 56-57.
- Chen G G, Lin Y, Zheng Y Z, et al. Annual growth cultivation technology for *Agrocybe aegerita* [J]. *Edible Fungi China*, 2012, 31(3): 56-57.
- [16] 郑域茹, 谢宝贵, 陈柄智. 洛巴伊口蘑生长过程中几种胞外酶活性变化 [J]. *中国农学通报*, 2011, 27(25): 261-265.
- Zheng Y R, Xie B G, Chen B Z. Activity changes of several extracellular enzymes during the growth period of *Tricholoma giganteum* [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(25): 261-265.
- [17] Mandels M, Hontz L, Nystrom J. Enzymatic hydrolysis of waste cellulose [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1974, 16(11): 1471-1493.
- [18] 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): 137-189.
- Wang Y W, Wang Y. Degradation of lignocellulose and changes of polysaccharide decomposition enzyme activities during *Flammulina velutipes* cultivation [J]. *Microbiology China*, 1989, 16(3): 137-189.
- [19] Shamala T R, Sreekantiah K R. Production of cellulases and D-xylanase by some selected fungal isolates [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 1986, 8(3): 178-182.
- [20] 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.
- Pan Y J, Chen M J, Zheng H G, et al. Changes in the activities of laccase, tyrosinase and cellulase in the growth and development of *Letinous edodes* and *Pleurotus ostreatus* [J]. *Acta Agriculturae Shanghai*, 1991, 7(2): 21-26.
- [21] 张志良. 植物生理实验指导 [M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- Zhang Z L. Guidance of plant physiological experiment [M]. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 1990.
- [22] 王南, 沈锋, 谭琦, 等. 柱状田头菇生长发育中 9 种胞外酶活性的测定 [J]. *菌物系统*, 2000, 19(4): 540-546.
- Wang N, Shen F, Tan Q, et al. Detecting in 9 extracellular enzymes activities of *Agrocybe aegerita* strains [J]. *Mycosystema*, 2000, 19(4): 540-546.
- [23] 倪新江, 丁立孝, 冯志勇, 等. 灰树花生长发育过程中的几种胞外酶活性变化 [J]. *微生物学杂志*, 2001, 21(3): 24-25.
- Ni X J, Ding L X, Feng Z Y, et al. Changes in several extracellular enzyme activities of *Grifola frondosa* during its growth and development [J]. *Journal of Microbiology*, 2001, 21(3): 24-25.
- [24] 韩增华, 张丕奇, 张详辉, 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.
- Han Z H, Zhang P Q, Zhang X H, et al. Extracellular enzyme activities, mycelial growth rates and fruit body yields of ten *Auricularia auricular* strains [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2007, 14(4): 41-46.
- [25] 于萍, 孙萌, 傅常娥, 等. 大球盖菇栽培期间胞外酶活性变化研究 [J]. *中国食用菌*, 2014, 33(1): 48-50.
- Yu P, Sun M, Fu C E, et al. Changes of extracellular enzyme activity in *Stropharia rugosoannulata* farlow during its cultivation [J]. *Edible Fungi China*, 2014, 33(1): 48-50.
- [26] 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.
- Zhao Y D. The effect of different cultivation substrates on up-growth, output and extracellular enzyme activity of *Pleurotus geeseteranus* [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011.
- [27] Chanter D O. Harvesting the mushroom crop: a mathematical model [J]. *Journal of General Microbiology*, 1979, 115: 79-87.