

添加外源锌对大杯香菇子实体细胞保护酶活性的影响

江枝和¹, 翁伯琦², 雷锦桂¹, 王义祥², 唐翔虬¹, 肖淑霞³

(¹福建省农业科学院土壤肥料研究所, 福州 350013)

(²福建省农业科学院农业生态工程研究所, 福州 350013)

(³福建省食用菌技术推广总站, 福州 350003)

摘要 【目的】本实验研究了添加外源锌(Zn)对大杯香菇子实体保护酶活性的影响。【方法】以硫酸锌为外源锌, 添加到培养料中, 制成 0、10、20、30、40、50 mg/kg 6 个浓度。采用分光光度法测定大杯香菇子实体超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、多酚氧化酶(PPO)活性、丙二醛(MDA)含量和可溶性蛋白含量, 采用高锰酸钾滴定法过氧化氢酶(CAT)活性。【结果】添加外源 Zn 浓度为 30 mg/kg 处理大杯香菇子实体内可溶性蛋白含量、SOD、POD 和 CAT 活性极显著提高($P < 0.01$), PPO 活性极显著减少($P < 0.01$), 而 MDA 含量显著下降($P < 0.05$)。随着 Zn 水平进一步升高, 可溶性蛋白含量、SOD、POD 和 CAT 活性呈下降趋势, 而 MDA 含量极显著和显著上升($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$)。【结论】高用量的 Zn 浓度能使大杯香菇子实体中的 MDA 含量上升, SOD、POD、CAT 活性均下降, 对保护酶系统有破坏作用, 促进自由基的积累, 从而导致膜脂过氧化作用的加剧。适宜 Zn 浓度能提高保护酶的活性, 从而抑制了大杯香菇子实体中细胞膜脂过氧化水平, 减轻膜伤害。

关键词: 外源锌; 大杯香菇; 细胞保护酶; 丙二醛

中图分类号: Q935 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2009)08-1121-05

大杯香菇(*Lentinus giganteus*)又名大杯伞, 笋菇, 猪肚菇等。属担子菌亚门, 层菌纲, 伞菌目白蘑科, 香菇属。据报道, 大杯香菇具有抗癌作用等^[1], 是国内近年新开发的珍稀食药食用菌。其营养丰富, 口味独特。大杯香菇子实体含有蛋白多糖, 各类氨基酸, 各种维生素, 脂肪酸, 还含有各种人体必需的矿物元素等。利用微量元素再食用菌内生物转化, 生产富集微量元素的食用菌, 不仅可提高食用菌的保健作用, 而且可以强化微量元素的生物功能, 这是一条改善人类微量元素缺乏现状的有效途径。研究发现利用金针菇、灵芝、灰树花和姬松茸等^[2-6]品种

添加一定量的锌在培养料中栽培珍稀食用菌, 可提高珍稀食用菌的子实体产量。同时, 珍稀食用菌子实体中品质也大大提高。目前, 本作者对添加外源锌对大杯香菇的蛋白质营养价值等已均有研究, 但关于添加外源锌对大杯香菇子实体中 SOD、POD 和 CAT 等的影响尚未见报道。本研究采用木屑、棉籽壳、麦皮混合料试验, 研究了在相同培养料不同锌浓度栽培了大杯香菇保护酶系统及其脂质过氧化产物丙二醛(MDA)的动态变化, 旨在探讨大杯香菇子实体在富锌过程中的生化机理, 为进一步开发富锌子实体产品提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌种:大杯香菇辐 105 号,由本课题组提供。

1.1.2 培养料配方:木屑 58%,棉籽壳 20%,麦皮 20%,CaCO₃ 1%,糖 1%,PH 自然。

1.1.3 主要试剂和仪器:试验所用试剂主要包括硫酸锌、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、核黄素、硝基四唑蓝、乙二胺四乙酸、蛋氨酸、高锰酸钾、考马斯亮蓝 G250、邻苯二酚、硫代巴比妥酸、三氯乙酸、H₂O₂、硫酸等,均为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司。试验用仪器为 TU1810 紫外可见分光光度计,购于北京普析通用仪器有限公司。

1.2 栽培处理

首先将硫酸锌制成 0、10、20、30、40、50 mg/kg 6 个浓度。设 6 个处理,即将不同浓度的硫酸锌水溶液按照 1:1.5 的料水比分别加入培养料中拌匀后装入塑料袋,套套环,塞棉花塞,每处理 3 个重复,每重复 11 袋,每袋装干料 230 g,高压灭菌。待料温度冷却至 26℃ 左右接种。接种后的菌袋直立于培养室架上避光培养。培养温度 25℃~28℃,空气相对湿度 70%~75%,菌丝满袋后移入栽培室覆土,覆土厚度 3~4 cm。栽培室温度控制在 23℃~32℃,空气相对湿度控制在 90%~92% 之间,待子实体八九分成熟,呈漏斗状,边缘内卷,孢子未弹射时采收做测定样品。

1.3 酶液的制备

取 0.5 g 鲜样,加入 5 mL 预冷提取液(含 50 mmol/L PH7.0 的磷酸缓冲液和 1% PVP),在冰浴中研磨成匀浆。匀浆经 15000 × g 离心 10 min,上清液体用于测定酶的活性。

1.4 酶活性及可溶性蛋白、MDA 含量的测定

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性的测定参照朱广廉等^[7]的方法进行;多酚氧化酶(PPO)活性的测定参照朱广廉等^[8]的方法进行;过氧化氢酶(CAT)活性和丙二醛(MDA)含量的测定参照李合生^[9]的方法进行;可溶性蛋白的测定参照李合生^[10]的方法进行。

2 结果和分析

2.1 不同 Zn 浓度对大杯香菇子实体可溶性蛋白含量的影响

图 1 可知,Zn 浓度为 10、20、30、40 和 50 mg/kg 处

理的大杯香菇子实体可溶性蛋白含量平均比对照分别提高了 2.64%、14.05%、7.75%、5.28% 和 4.23%,与对照间差异达到极显著水平($P < 0.01$)。

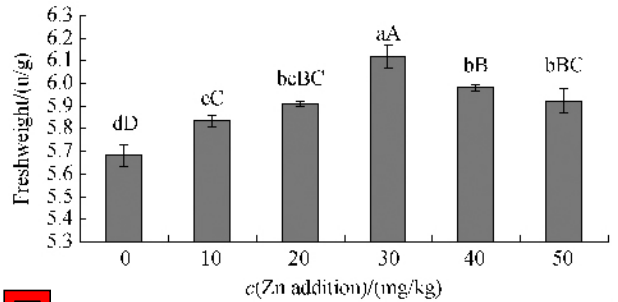


图 1 锌浓度对大杯香菇子实体可溶性蛋白含量的影响

Fig.1 Effect of Zn concentration on the content of soluble protein in the fruit bodies of *Lentinus giganteus*. Small and capital letters represent the difference at 5% and 1% levels, respectively (Inspect by LSD, following is the same).

2.2 不同锌浓度对大杯香菇子实体中 SOD 活性的影响

由图 2 显示,浓度为 30 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子实体 SOD 活性平均比对照提高了 35.21%,差异达到极显著水平($P < 0.01$);浓度为 20 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子实体平均比对照提高了 3.76%,但其间差异不显著($P > 0.05$);浓度为 10 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子实体 SOD 活性平均比对照减少了 12.21%,但差异不显著($P > 0.05$);浓度为 40 和 50 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子实体 SOD 活性平均比对照分别减少了 19.72% 和 20.66%,其与对照间差达到显著水平($P < 0.05$)。

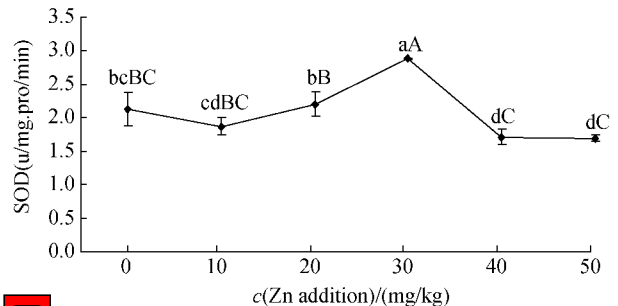


图 2 锌浓度对大杯香菇子实体中 SOD 活性的影响

Fig.2 Effect of Zn concentration on SOD activity in the fruit bodies of *Lentinus giganteus*.

2.3 不同锌浓度对大杯香菇子实体 POD 活性的影响

由图 3 显示,浓度为 20 和 30 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子实体 POD 活性平均比对照分别提高了 48.65% 和 56.84%,差异达到极显著水平($P < 0.01$);浓度为 10 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子

实体 POD 活性平均比对照提高了 18.98% , 其与对照间差异达到显著水平 ($P < 0.05$) ; 浓度为 40 和 50 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子实体 POD 活性平均比对照分别减少了 0.00% 和 2.70% , 差异不显著 ($P > 0.05$) 。

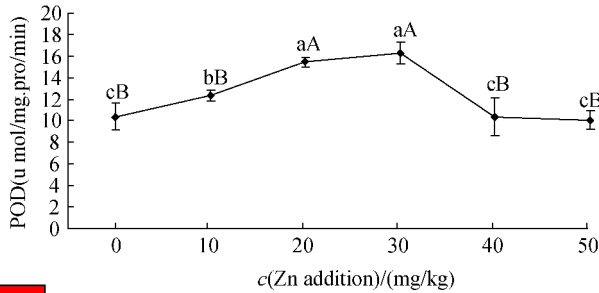


图3 锌浓度对大杯香菇子实体 POD 活性的影响

Fig.3 Effect of Zn concentration on POD activity in the fruit bodies of *Lentinus giganteus* .

2.4 不同锌浓度对大杯香菇子实体 CAT 活性的影响

由图 4 显示 , 浓度为 20 和 30 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子实体 CAT 活性平均比对照分别提高了 8.89% 和 13.33% , 差异达到极显著水平 ($P < 0.01$) ; 浓度为 40 和 50 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子实体 CAT 活性平均比对照分别提高了 6.67% 和 4.44% , 与对照间差异存在显著水平 ($P < 0.05$) ; 浓度为 10 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子实体 CAT 活性提高了 2.22% , 但与对照间差异不显著。

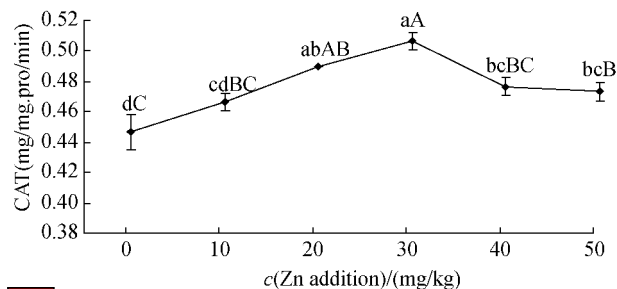


图4 锌浓度对大杯香菇子实体 CAT 活性的影响

Fig.4 Effect of Zn concentration on CAT activity in the fruit bodies of *Lentinus giganteus* .

2.5 不同锌浓度对大杯香菇子实体 PPO 活性的影响

由图 5 显示 , 浓度为 50 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子实体 PPO 活性平均比对照减少了 7.55% , 与对照间差异不显著 ($P > 0.05$) ; 浓度为 10、20、30 和 40 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子实体 PPO 活性平均比对照分别减少了 18.86%、20.75%、43.87% 和 18.89% , 与对照间差异达到极显著 ($P < 0.01$) 。

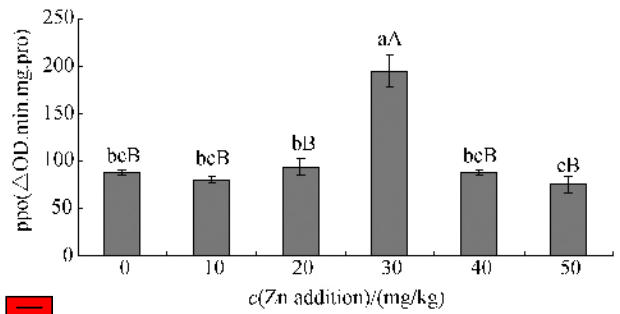


图5 锌浓度对大杯香菇子实体 PPO 活性的影响

Fig.5 Effect of Zn concentration on PPO activity in the fruit bodies of *Lentinus giganteus* .

2.6 不同锌浓度对大杯香菇子实体 MDA 含量的影响

由图 6 显示 , 浓度为 10 和 20 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子实体 MDA 含量平均比对照分别减少了 14.29% 和 23.81% , 其与对照间差异不显著水平 ($P > 0.05$) ; 浓度为 30 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子实体 MDA 含量平均比对照减少了 47.61% , 其与对照间差异显著水平 ($P < 0.05$) ; 浓度为 40 和 50 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子实体 MDA 含量平均比对照分别提高了 66.67% 和 47.62% , 其与对照间差异极显著和显著水平 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$) 。结果表明 , 浓度为 30 mg/kg Zn 处理的大杯香菇子实体内 MDA 含量显著降低 ($P < 0.01$) , 随着 Zn 水平升高为 40 mg/kg , MDA 含量则极显著升高 , 这说明高浓度 Zn 反而产生中毒 , 造成大杯香菇子实体膜脂过氧化物水平增加 , 对子实体细胞造成伤害。

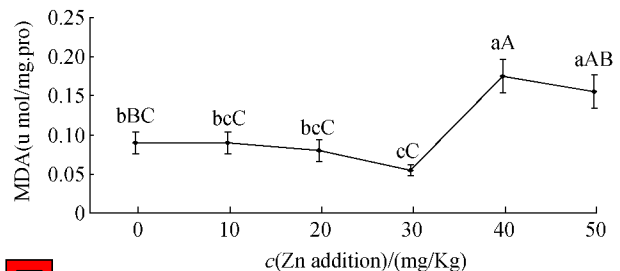


图6 锌浓度对大杯香菇子实体 MDA 含量的影响

Fig.6 Effect of Zn concentration on the content of MDA in the fruit bodies of *Lentinus giganteus* .

3 总结和讨论

目前 , 关于对食用菌 SOD、POD、CAT 等活性研究 , 已有一些报道。吴国荣等^[11]研究了佛州侧耳子实体锰型 SOD 的纯化及性质。结果表明 , 佛州侧耳子实体 SOD 同工酶只有一条较宽的谱带 , 确认为 Mn-SOD 有其资源和学术研究上的意义 , 简化的方法提纯其 Mn-SOD , 活性回收率显著提高。该酶分子为

二聚体,抑制属于非竞争性抑制。它的碱性氨基酸和酸性氨基酸的比值与酵母的相近。其他理化性质与文献报道的不同来源的 Mn-SOD 大致相同。樊建等^[12]研究了冻结温度、速度对黑牛肝菌多酚氧化酶(PPO)及过氧化物酶(POD)活性的影响。结果表明,冻结温度、速度对酶的活性有明显的影响,在-100℃、-80℃、-60℃及-35℃(缓冻)下进行冻结,黑牛肝菌的 PPO 活性分别下降了 73.5%、70.6%、65.2% 及 18.0%,POD 活性分别下降了 68.4%、62.2%、51.7% 及 15.8%。黄志立等^[13]比较了 11 种药用及食用真菌菌丝体在马铃薯综合培养基中的生长情况,并测定了菌丝体中的 SOD 活力。结果表明,云芝菌丝体生长最迅速,4d 后的生物量可达 4.2 g/L,其次为草菇和平菇;单位质量菌丝体中 SOD 活力以茶薪菇为最高,达到 2.84 U/mg,其发酵液中 SOD 总活力达到 5.07 U/mL。何丽烂等^[14]研究了硒元素对平菇菌丝体 GSH-Px、SOD 及 MDA 的影响。结果表明,30、60 mg/L 组菌丝体内 GSH-Px、SOD 活性极显著升高($P < 0.01$)而 MDA 含量明显降低($P < 0.05$),随着硒水平的升高,GSH-Px、SOD 活性呈下降趋势而 MDA 含量则显著升高($P < 0.05$)。但国内外未见不同供锌水平对大杯香菇子实体内生化机理研究。本研究结果表明,在相同培养料条件下 Zn 浓度为 30 mg/kg 处理的能极显著提高大杯香菇子实体内可溶性蛋白含量、SOD、POD 和 CAT 活性,并极显著降低 PPO 活性。据报道,SOD、POD、CAT 活性提高,可清除体内活性氧的能力,利于保护生物膜的稳定性,提高抗逆能力。另一报道,POD 活性高低与果蔬风味有直接关系,多酚氧化酶(PPO)高低也是影响冷冻果蔬褐变的主要因素^[15]。本研究也说明了 Zn 浓度为 mg/kg 处理的培养料栽培大杯香菇子实体能提高风味品质,而不容褐变。因此,对今后开发富锌大杯香菇子实体保鲜产品具有深远意义。

从大杯香菇胁迫效应试验可见,大杯香菇胁迫效应在相同培养料条件下,适宜 Zn 浓度能提高了保护酶的活性,原因可能是添加外源锌后,大杯香菇子实体中遗传物质发生改变而提高酶活性作用,从而也抑制了大杯香菇子实体中细胞膜脂过氧化水平,减轻膜伤害。另一方面试验也表明高用量的 Zn 浓度能使大杯香菇子实体中的 MDA 含量上升,SOD、POD、CAT 活性均下降,说明锌用量不适宜也会对保护酶系统有破坏作用,进而促进自由基的积累,从而导致膜脂过氧化作用的加剧。人们对锌元素促进食

用菌生长发育,提高食用菌产量、品质、等作用机理已做过研究,取得了较好进展,不少研究结果在其他食用菌上表现与本研究结果相一致的规律性^[16]。也说明锌元素对食用菌生物效应的本质也是在食用菌添加适量锌元素的前提下发生的,用量不够达不到促进食用菌生理活动的作用,过量则会使食用菌抑制。

参考文献

- [1] 邓旺秋,李泰辉,陈枝南,等.栽培食用菌猪肚菇的学名考证.食用菌学报(*Journal of Edible Fungus*),2006,13(3):71-74.
- [2] 刘朝贵.提高金针菇锌含量的研究.西南农业大学学报(*Journal of Southwest Agricultural University*),1996,18(4):320-322.
- [3] 田娟,何佳,赵启美.锌对金针菇生长的影响及子实体的富集作用.中国食用菌(*Chinese Edible Fungus*)2000,20(2):19-20.
- [4] 冯玮,何正清.锌对猴头的增产效益.中国食用菌(*Chinese Edible Fungus*),1993(3):21-22.
- [5] 郑雅莺,徐仲.施锌对金针菇产量和生理的影响.北方园艺(*Horticulture in North China*),1993(4):25-26.
- [6] 刘坤,丁重阳,王玉红,等.三种药用真菌灵芝、灰树花和姬松茸富锌能力的初步研究.食品研究与开发(*Food Research & Development*)2005 26(5):29-32.
- [7] 朱广廉,钟海文,张爱琴.植物生理学实验.北京:北京大学出版社,1990 38-39 242-245.
- [8] 朱广廉,钟海文,张爱琴.植物生理学实验.北京:北京大学出版社,1991.
- [9] 李合生.植物生理生化实验原理和技术.北京:高等教育出版社 2000 87-91,164-169.
- [10] 李合生.植物生理学实验.北京:高等教育出版社,2002.
- [11] 吴国荣,程光宇,陶明焯,等.佛州侧耳子实体锰型 SOD 的纯化及性质研究.菌物系统(*Mycetial System*),1998,17(2):167-173.
- [12] 樊建,赵天瑞,曹建新,等.冻结条件对黑牛肝菌 PPO 和 POD 活性的影响.中国食用菌(*Chinese Edible Fungus*)2007 26(2):47-49.
- [13] 黄志立,黄彦君,党建章,等.几种真菌菌丝体生长及 SOD 活力的比较研究.深圳职业技术学院学报(*Journal of Shenzhen Professional Technology Colleague*),2004(4):13-15.
- [14] 何丽烂,区炳庆,温海祥,等.硒元素对平菇菌丝体 GSH-Px、SOD 及 MDA 的影响.广西植物(*Guangxi Botany*)2003 24(3):278-280.
- [15] 徐建明,毛善国,张美圆.硼对小麦幼苗生长及体内 SOD、POD 活性的影响.江苏农业科学(*Jiangsu Agricultural Science*)2006(6):49-51.
- [16] 彭小玲.锌对人体健康的影响研究进展.山西医学教育(*Shanxi medical education*)2003(3):27-28.

Effect of exogenous zinc addition on cell protective enzyme activities in the fruit bodies of *Lentinus giganteus*

Zhihe Jiang^{1*}, Boqi Weng², Jingui Lei¹, Yixiang Wang², Xiangqiu Tang¹, Shuxia Xiao³

(¹ Soil and Fertilizer Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China)

(² Institute of Agricultural Ecology, FAAS, Fuzhou 350013, China)

(³ Fujian General Station of Technology Popularization for Edible Fungus, Fuzhou 350003, China)

Abstract [Objective] The effects of exogenous Zn addition on cell protective enzyme activities in the fruit bodies of *Lentinus giganteus* were studied. **[Methods]** ZnSO₄ was used as exogenous Zn and added into culture medium. The final Zn concentrations in culture media were 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/kg respectively. The activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), polyphenol oxidase (PPO), malondialdehyde (MDA) content and soluble protein content in the fruit bodies were analyzed by spectrophotometry; catalase (CAT) was determined by potassium permanganate titration. **[Results]** The content of soluble protein and SOD, POD and CAT activities in the fruit bodies of *L. giganteus* were significantly increased ($P < 0.01$) but PPO activity ($P < 0.01$) and MDA content ($P < 0.05$) was significantly decreased in the treatment of 30 mg/kg Zn concentration. The content of soluble protein and SOD, POD and CAT activities showed a decreasing trend with the increase of Zn concentration, but MDA content was significantly increased ($P < 0.01$ and $P < 0.05$). **[Conclusion]** High Zn concentration caused the increase of MDA contents and the decrease of SOD, POD and CAT activities in the fruit body of *L. giganteus*. It will destroy the protective enzyme system, cause the accumulation of free radicals and thus intensify membrane lipid peroxidation. Appropriate Zn concentration improved the protective enzyme activities, and lightened the harm of membrane from lipid peroxidation.

Keywords: exogenous Zn; *Lentinus giganteus*; cell protective enzyme; MDA (malondialdehyde)

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Key Technology R&D Program (2007BAD89B13), the Project of Fujian Province Department of Science and Technology and Science (2008N0026) and the Technology Innovation Foundation of Fujian Academy of Agriculture and Sciences (STIF-Y01)

* Corresponding author. Tel: +86-591-87572201; E-mail: zhihe10000@163.com

Received 24 December 2008/ Revised 2 May 2009

科学出版社新书推介(2009-06)

核酸等温扩增技术及其应用

彭涛 主编

978-7-03-024693-6 ¥38.00 2009年6月出版

内容简介:近年来核酸等温扩增技术迅猛发展,显现出广阔的应用前景。本书分为10章,第1章介绍核酸等温扩增技术的定义、特点与分类,并对该技术的发展概况进行了论述。第2~9章分别介绍了各种方法的原理、操作要点及应用范围,帮助读者了解各种方法的特点,并可进行基本操作。第10章概述了相关企业及产品,分析了产业化发展前景及对策。

本书既有原理又有实验方法,适合从事分子生物学、临床医学、药学、环境科学等学科的科研工作者学习使用。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书(免邮费)

邮购地址:北京东黄城根北街16号 科学出版社 科学出版中心 生命科学分社 邮编:100717

联系人:周文宇 李韶文 联系电话:010-64031535 64000849

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>, 欢迎致电索要书目