

研究报告

五种矿质元素对草菇菌丝生长和活性氧清除能力的影响

王静, 张凡红, 孙万合, 谭强飞, 负建民, 张素玮, 赵风云*

甘肃农业大学食品科学与工程学院, 甘肃 兰州 730070

王静, 张凡红, 孙万合, 谭强飞, 负建民, 张素玮, 赵风云. 五种矿质元素对草菇菌丝生长和活性氧清除能力的影响[J]. 微生物学通报, 2023, 50(9): 4010-4020.

WANG Jing, ZHANG Fanhong, SUN Wanhe, TAN Qiangfei, YUN Jianmin, ZHANG Wenwei, ZHAO Fengyun. Effects of five mineral elements on mycelial growth and active oxygen scavenging ability of *Volvariella volvacea*[J]. Microbiology China, 2023, 50(9): 4010-4020.

摘要: 【背景】菌种退化是草菇生产中面临的难题, 探究一种简单高效的复壮方法是草菇产业亟须解决的问题。【目的】探讨外源添加 5 种矿质元素对草菇退化菌株的菌丝性状和活性氧(reactive oxygen species, ROS)清除能力的影响。【方法】筛选出 5 种矿质元素的最佳浓度并添加于 PDA 培养基中, 测定草菇菌落形态、菌丝生长速度、菌丝生物量、ROS 含量、抗氧化酶活性及抗氧化物质含量。【结果】 MnSO_4 、 Na_2SeO_3 、 CaSO_4 、 FeSO_4 可有效提高草菇退化菌株 D1 和 D2 的菌丝生长速度和生物量; 降低 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 等 ROS 的含量, 并增加还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)、氧化型谷胱甘肽(glutathione disulfide, GSSG)的含量及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)等抗氧化酶的活力; 而 ZnSO_4 对 D1、D2 的菌丝性状和 ROS 清除能力影响不显著。【结论】外源添加 MnSO_4 、 Na_2SeO_3 、 CaSO_4 、 FeSO_4 可有效提高草菇菌丝生长和活性氧清除能力, 其中 MnSO_4 的效果最佳。

关键词: 草菇; 矿质元素; 菌丝性状; 活性氧; 抗氧化酶; 菌株复壮

资助项目: 国家自然科学基金(32060708)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32060708).

*Corresponding author. E-mail: fyzhao@gsau.edu.cn

Received: 2022-12-26; Accepted: 2023-02-12; Published online: 2023-03-03

Effects of five mineral elements on mycelial growth and active oxygen scavenging ability of *Volvariella volvacea*

WANG Jing, ZHANG Fanhong, SUN Wanhe, TAN Qiangfei, YUN Jianmin, ZHANG Wenwei, ZHAO Fengyun*

College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China

Abstract: [Background] Strain degradation is a difficult problem in the production of *Volvariella volvacea*. Exploring a simple and efficient rejuvenation method is an urgent problem to be solved in the *V. volvacea* industry. [Objective] To investigate the effects of exogenous addition of five mineral elements on mycelial traits and active oxygen scavenging ability of degraded strains of *V. volvacea*. [Methods] The optimum concentrations of five mineral elements were selected and added to the potato dextrose agar (PDA) medium. The colony morphology, mycelial growth rate, mycelial biomass, active oxygen content, antioxidant enzyme activity, and antioxidant substance content of *V. volvacea* were determined. [Results] MnSO_4 , Na_2SeO_3 , CaSO_4 , and FeSO_4 could effectively improve the mycelial growth rate and biomass of the degraded strains D1 and D2. The content of active oxygens such as $\text{O}_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 was decreased, and the content of reduced glutathione (GSH) and oxidized glutathione (GSSG) and the activity of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), and glutathione reductase (GR) were increased. However, ZnSO_4 had no significant effect on mycelial traits and active oxygen scavenging ability of D1 and D2. [Conclusion] Exogenous addition of MnSO_4 , Na_2SeO_3 , CaSO_4 , and FeSO_4 can effectively improve the mycelial growth and active oxygen scavenging ability of *V. volvacea*, and the effect of MnSO_4 was optimal.

Keywords: *Volvariella volvacea*; mineral elements; mycelial traits; active oxygen species; antioxidant enzymes; strain rejuvenation

草菇(*Volvariella volvacea*), 又名中国菇、兰花菇, 是我国重要的商业食用菌^[1]。菌种退化是食用菌生产中存在的共性问题, 草菇也不例外。退化的草菇菌株会出现菌丝生长速度缓慢、子实体数量减少、子实体直径变小、出菇时间推迟或不出菇等现象, 严重影响了草菇品质, 限制了草菇产业的发展^[2]。探究一种简单高效的退化菌种复壮方法是草菇产业亟须解决的关键问题。

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是生物体正常代谢过程中产生的含氧物质, 主要有

超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot-}$)、过氧化氢(H_2O_2)等, 参与细胞生长发育、信号传导及各种酶促反应, 但当 ROS 过量积累时会导致生物体的氧化损伤^[3]。为了避免过量的 ROS 对机体造成伤害, 生物体内形成一套抗氧化体系, 由酶促系统及抗氧化剂共同组成, 其中, 酶促系统由超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)等组成^[4]。抗氧化剂主要是生物体内合成的具有抗氧化能力的物质, 例如酚

类、多糖类和肽类等^[5]。

矿质元素是生物体生长发育所必需的营养素,也是机体内各种酶的辅基或激活剂^[6]。食用菌栽培时,通过外源添加不同种类和浓度的矿物质可以促进菌体生长并降低菌种退化进程^[7]。外源添加矿物元素也是食用菌菌种复壮的一种有效方法。白鹏^[8]研究发现,更换培养基配方对食用菌退化菌种有一定的复壮作用。姜慧^[9]研究表明,在培养基中补充矿质元素有助于大球盖菇的提纯复壮,提高菌丝生长能力。王博^[10]研究发现,向培养基中添加 Ca、Fe 元素对双孢蘑菇菌丝的老化有一定的抑制作用。范丽军等^[11]研究发现添加 Ca 元素可以促进金针菇菌丝粗壮,并提高过氧化物酶(peroxidase, POD)和 SOD 酶活性。孙淑静等^[12]研究发现在培养基中添加 Mn、Ca、Fe 元素能有效促进斑玉蕈的菌丝生长。

本研究以课题组连续继代获得的草菇退化菌种为材料,外源添加 Mn、Se、Ca、Fe、Zn 五种常用矿质元素,测定草菇菌丝体的生理性状、ROS 含量、抗氧化酶活力和抗氧化剂含量等指标,探讨矿质元素对草菇退化菌株复壮和 ROS 清除能力的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

原种(D0):草菇菌种 V844 保藏于甘肃农业大学食品科学与工程学院。

继代菌种(D1、D2)由课题组前期通过组织分离继代获得。D1:连续组织分离继代 10 次,产量明显下降;D2:连续组织分离继代 19 次,无法出菇。

1.1.2 培养基

马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar, PDA)参照王贺祥等^[7]的方法配制。

对照组 PDA (g/L):马铃薯 200.0,葡萄糖 20.0,琼脂 20.0, KH_2PO_4 1.0, MgSO_4 1.0, pH 自然。

处理组 PDA:以 PDA 培养基为基础,分别外源添加 Mn (25、50、75、100 mg/L)、Se (0.5、1、5、10 mg/L)、Ca (1.25、2.5、5、7.5 g/L)、Fe (125、250、500、750 mg/L)、Zn (50、100、250、500 mg/L)这 5 种矿质元素,每种矿质元素设 4 个浓度梯度。

1.1.3 主要试剂和仪器

葡萄糖、琼脂粉、 KH_2PO_4 、 MgSO_4 、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 Na_2SeO_3 ,上海源叶生物科技有限公司。以上试剂均为分析纯,试验用水均为蒸馏水。超氧阴离子含量检测试剂盒(BC1295)、 H_2O_2 含量检测试剂盒(BC3595)、SOD 活性检测试剂盒(BC0175)、CAT 活性检测试剂盒(BC0205)、GPX 活性检测试剂盒(BC1195)、GR 活性检测试剂盒(BC1165)、还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量检测试剂盒(BC1175)、氧化型谷胱甘肽(glutathione disulfide, GSSG)含量检测试剂盒(BC1175)均购自索莱宝试剂公司(北京)。

生化培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;电子分析天平,上海佑科仪器仪表有限公司;电热恒温水浴锅,上海博迅有限公司;台式冷冻高速离心机,生命动力亚洲有限公司;酶标仪,赛默飞世尔仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 草菇菌丝生理指标测定

菌落形态:将菌株 D0–D2 用直径 6 mm 的打孔器接种一个菌丝块于 PDA 平板上,30 °C 恒温培养箱中培养 3 d 后观察并拍照记录。

菌丝生长速度:参照安学明等^[13]的方法,将 D0–D2 统一活化并在 30 °C 恒温培养箱中培养 3 d 后,在培养皿上通过十字交叉法划线标

记草菇菌落直径, 计算菌丝生长速度。

菌丝生物量: 将玻璃纸裁剪成 90 mm 培养皿大小的圆形并灭菌处理, 接种前将其覆盖在凝固的 PDA 表面, 待菌丝长满后收集菌丝, 60 °C 烘干至恒重并称重^[14]。

1.2.2 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 含量测定

称取 0.1 g 研磨好的菌丝样品, 加入提取液, 4 °C、12 000×g 离心 20 min 获得上清液。 $O_2^{\cdot-}$ 含量采用超氧阴离子含量检测试剂盒(BC1295)测定, 记录 530 nm 处吸光值; 称取 0.1 g 研磨好的菌丝样品, 加入提取液进行冰浴匀浆, 4 °C、8 000×g 离心 10 min 取上清液。 H_2O_2 含量采用 H_2O_2 含量检测试剂盒(BC3595)测定, 于 415 nm 处记录吸光值。

1.2.3 SOD、CAT、GPX 和 GR 活力测定

称取 0.1 g 研磨好的菌丝样品, 加入提取液进行冰浴匀浆, 4 °C、8 000×g 离心 10 min 获得上清液。SOD 活力采用 SOD 活性检测试剂盒(BC0175)测定, 记录 560 nm 处吸光值; CAT 活力采用 CAT 活性检测试剂盒(BC0205)测定, 测定 240 nm 初始吸光值和 1 min 后的吸光值。

称取 0.05 g 研磨好的菌丝样品, 加入提取液进行冰浴匀浆, 4 °C、5 000×g 离心 10 min 获得上清液, GPX 活力采用 GPX 活性检测试剂盒(BC1195)测定, 记录 412 nm 处吸光值。

称取 0.1 g 研磨好的菌丝样品, 加入提取液, 4 °C、10 000×g 离心 10 min 获得上清液。GR 活力采用 GR 活性检测试剂盒(BC1165)测定, 记录 340 nm 10 s 和 190 s 的吸光值。

1.2.4 还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)、氧化型谷胱甘肽(glutathione disulfide, GSSG)含量测定

称取 0.1 g 研磨好的菌丝样品, 加入提取液进行冰浴匀浆, 4 °C、8 000×g 离心 10 min 获得上清液, GSH 含量采用 GSH 含量检测试剂盒

(BC1175)测定, 记录 412 nm 处吸光值; GSSG 含量采用 GSSG 含量检测试剂盒(BC1185)测定, 记录 412 nm 处吸光值。

1.2.5 数据处理

以上实验均重复 3 次, 数值取平均值, 采用 Origin 2021 软件绘图, SPSS 19.0 进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的矿质元素对草菇菌落形态的影响

以 D1 作为初筛菌株, 在 PDA 中分别以 4 个浓度梯度添加 5 种矿质元素, 以菌落直径作为筛选指标, 结果如图 1 所示。与 CK 组相比, 5 种矿质元素均对草菇的菌丝生长有一定的影响。随着添加浓度的增加, $MnSO_4$ 、 $CaSO_4$ 、 $FeSO_4$ 、 $ZnSO_4$ 处理组的菌落直径均呈现先增加后降低的趋势, 最佳添加浓度分别为 50 mg/L、5 g/L、250 mg/L、100 mg/L; 而 Na_2SeO_3 则随浓度的升高菌落逐渐变小, 当添加浓度为 0.5 mg/L 时, 菌落直径大于 CK 组, 为最佳添加浓度。

2.2 最佳浓度的矿质元素对菌丝生长的影响

以最佳浓度外源添加 5 种矿质元素到 PDA 培养基中, 观察 D0–D2 的菌落形态, 结果如图 2 所示。随着继代次数的增加, CK 组的草菇菌落直径呈现逐渐缩小的趋势, D0 的菌落直径最大, D2 的菌落直径最小; 外源添加了最适浓度的 $MnSO_4$ 、 $CaSO_4$ 、 $FeSO_4$ 、 Na_2SeO_3 后, D0–D2 菌株的菌落直径均明显大于 CK 组; 在 $ZnSO_4$ 处理后, D0 的菌落直径大于 CK 组, 但 D1、D2 的菌落直径均小于对照组。

2.3 矿质元素对菌丝生长速度和生物量的影响

测定 5 种矿质元素对 D0–D2 菌丝生长速度和生物量的影响, 结果如图 3 所示。随着继代次数的增加, CK 组的菌丝生长速度和菌丝生

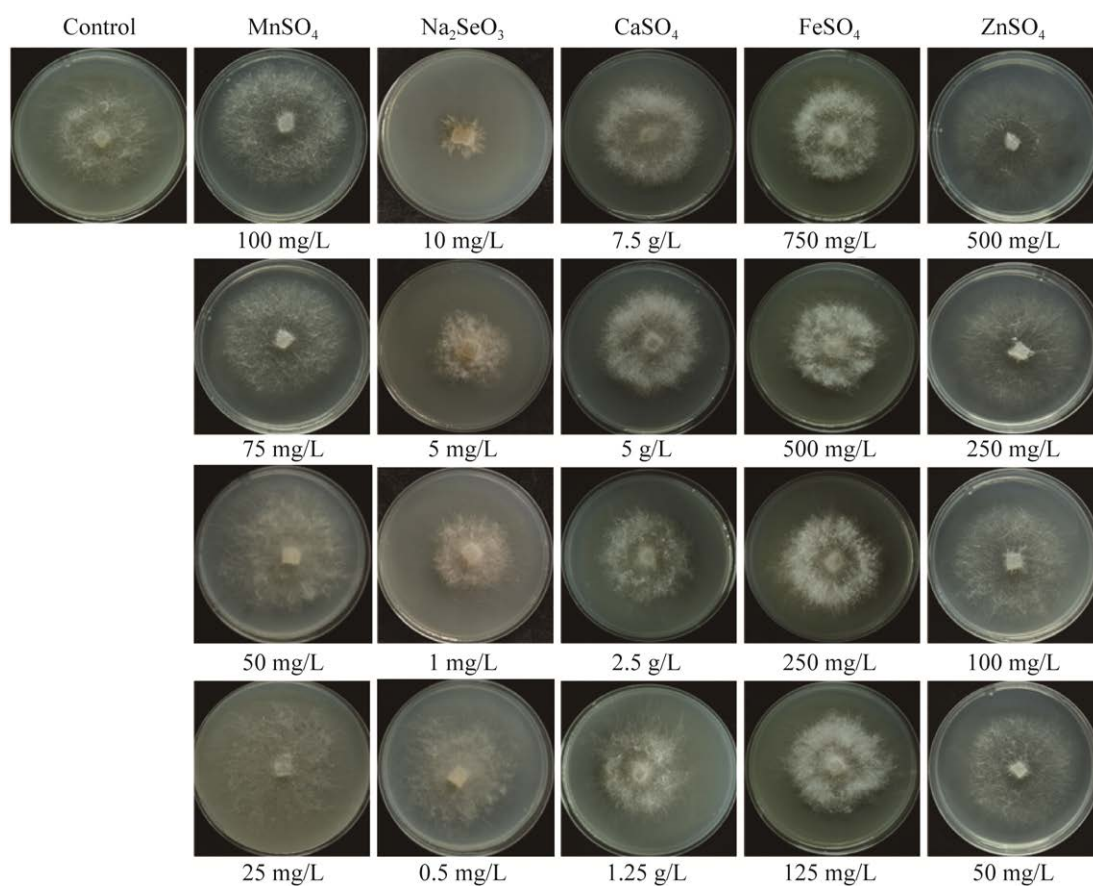


图 1 五种矿质元素对草菇菌落形态的影响

Figure 1 Effects of five mineral elements on colony morphology of *Volvariella volvacea*.

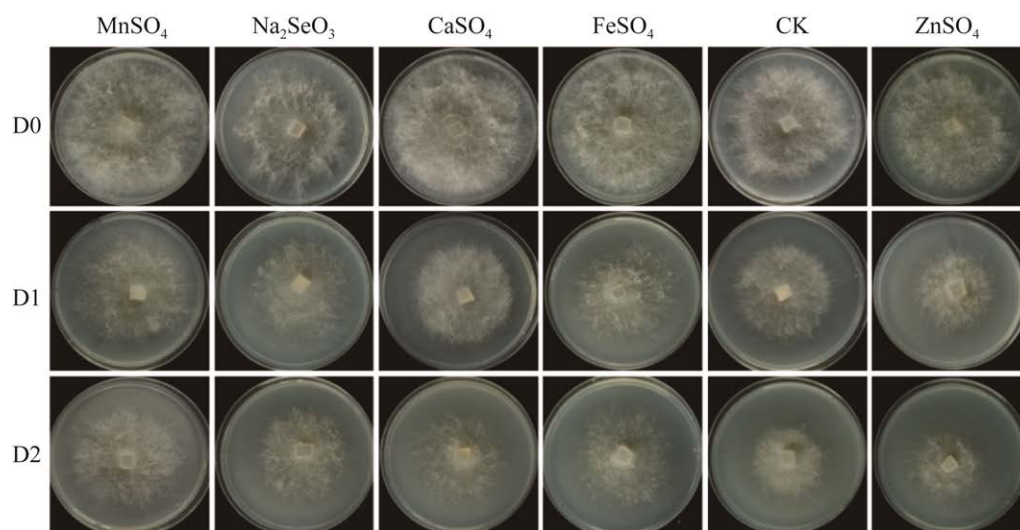


图 2 五种矿质元素对草菇 D0-D2 菌落形态的影响

Figure 2 Effects of five mineral elements on colony morphology of *Volvariella volvacea* D0-D2.

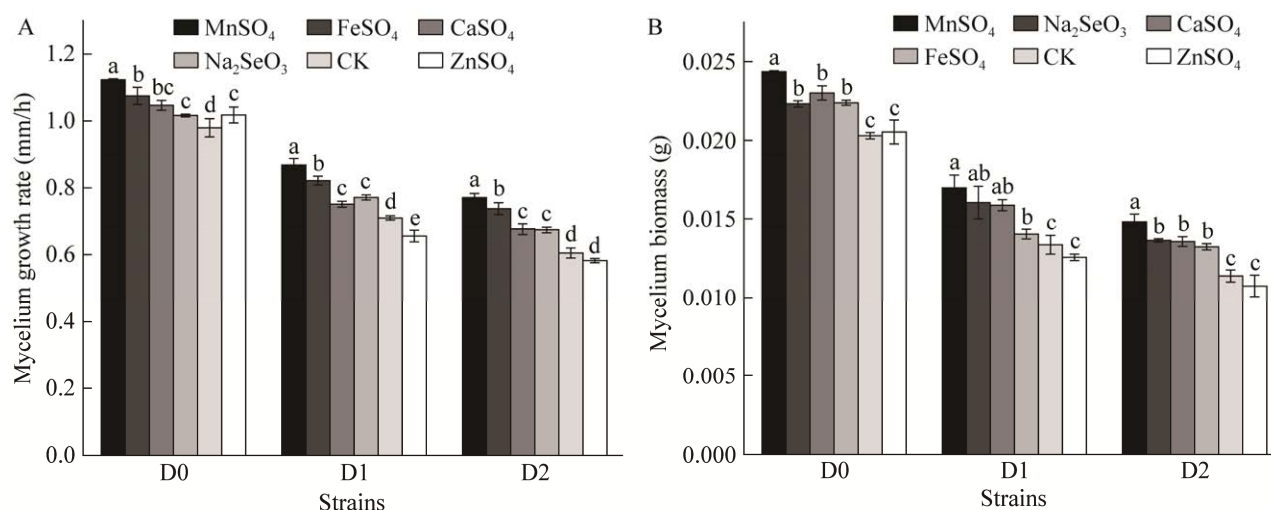


图3 五种矿质元素对草菇菌丝生长速度和生物量的影响 A: 菌丝生长速度. B: 菌丝生物量. 不同小写字母表示不同矿质元素对草菇 D0、D1、D2 菌丝生长速度和生物量差异显著($P<0.05$)

Figure 3 Effects of five mineral elements on mycelium growth rate and biomass of *Volvariella volvacea*. A: Mycelium growth rate. B: Mycelium biomass. Different lowercase letters indicate that different mineral elements have significant differences in mycelial growth rate and biomass of *Volvariella volvacea* D0, D1 and D2 at $P<0.05$.

物量均逐渐降低。外源添加 5 种矿质元素后, 对照组和处理组的菌丝生长速度大小顺序依次为 $\text{MnSO}_4 > \text{FeSO}_4 > \text{CaSO}_4 > \text{Na}_2\text{SeO}_3 > \text{CK} > \text{ZnSO}_4$; 而生物量的大小顺序为 $\text{MnSO}_4 > \text{Na}_2\text{SeO}_3 > \text{CaSO}_4 > \text{FeSO}_4 > \text{CK} > \text{ZnSO}_4$ 。可以看出矿质元素对菌丝生长速度和菌丝生物量的影响不完全一致。

在 5 种矿质元素中, MnSO_4 对 D0–D2 菌株的菌丝生长速度和菌丝生物量的促进效果最佳, 相较于 CK 组, D0、D1、D2 的菌丝生长速度分别增加了 15%、22%、27%。菌丝生物量分别增加了 20%、27%、30%。可以看出 MnSO_4 对草菇退化菌株 D1、D2 的菌丝体性状有较好的恢复作用。 ZnSO_4 处理后, D0 的菌丝生长速度和生物量均较对照组提高, 而 D1、D2 的菌丝生长速度和生物量则低于对照组。

2.4 矿质元素对菌丝体 ROS 含量的影响

ROS 是影响食用菌菌种退化的重要因素, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 是 ROS 的重要组分。对 D0–D2 菌

丝体内的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 含量进行测定, 结果如图 4 所示。D0 菌株 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 含量较低, 随草菇菌种退化程度的增加, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 在菌丝体内积累程度有一定的提高。

外源添加 5 种矿质元素后, 与 CK 组相比, MnSO_4 、 FeSO_4 、 CaSO_4 、 Na_2SeO_3 处理组的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 含量出现不同程度的降低。其中 MnSO_4 处理组的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 含量显著降低($P<0.05$), D1、D2 的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量分别降低了 15%、17%, D1、D2 的 H_2O_2 含量分别降低了 20%、28%。 ZnSO_4 处理组对菌丝体 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 含量影响不显著($P>0.05$)。

2.5 矿质元素对菌丝体抗氧化酶活力的影响

SOD、CAT、GPX、GR 等抗氧化酶可以有效清除生物体内的 ROS。对 D0–D2 菌株的抗氧化酶活力进行测定, 结果如图 5 所示。随着继代次数的增加, 抗氧化酶活力逐渐降低。与对

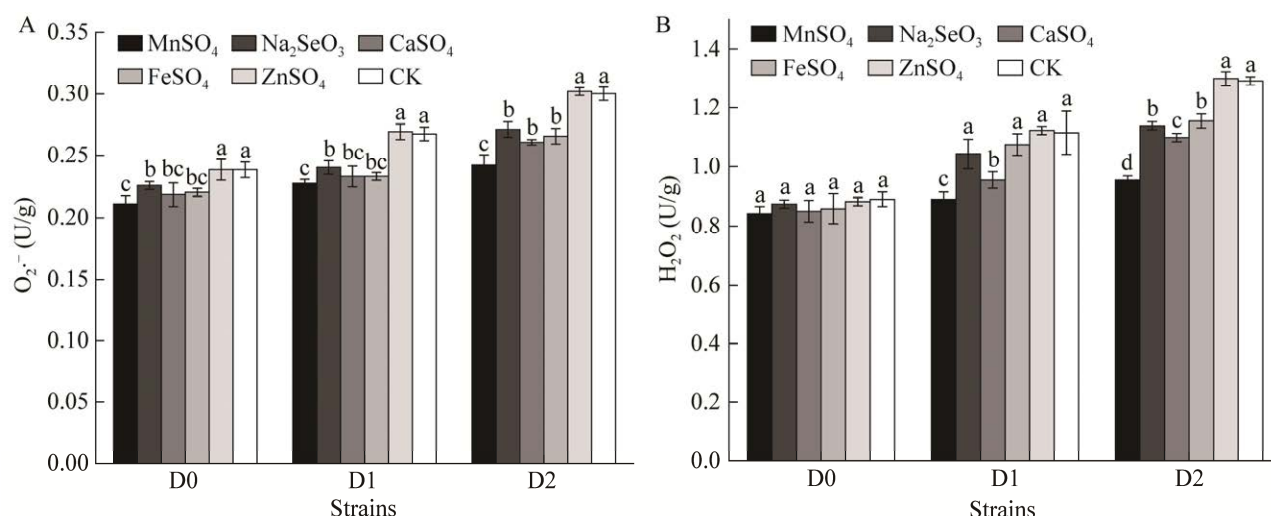


图4 五种矿质元素对草菇菌丝 O₂·⁻、H₂O₂ 含量的影响 A: O₂·⁻含量. B: H₂O₂ 含量. 不同小写字母表示不同矿质元素对草菇 D0、D1、D2 菌丝 ROS 含量差异显著(P<0.05)

Figure 4 Effects of five mineral elements on mycelium O₂·⁻ and H₂O₂ content of *Volvariella volvacea*. A: O₂·⁻ content. B: H₂O₂ content. Different lowercase letters indicate that different mineral elements have significant differences in ROS content of *Volvariella volvacea* D0, D1 and D2 at P<0.05.

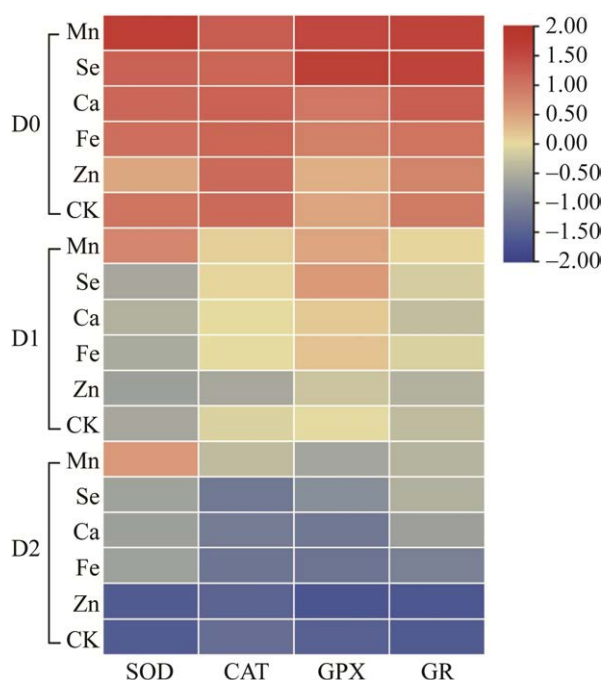


图5 五种矿质元素对草菇菌丝 SOD、CAT、GPX、GR 活性的影响

Figure 5 Effects of five mineral elements on mycelium SOD, CAT, GPX, GR activities of *Volvariella volvacea*.

照组相比, D2 的 SOD、CAT、GPX、GR 活力分别降低了 29%、75%、58%、66%。

外源添加 5 种矿质元素后, MnSO₄、FeSO₄、CaSO₄、Na₂SeO₃ 处理组 D0–D2 的 4 种抗氧化酶活力呈现不同程度的增长。其中 MnSO₄ 处理组 D1 菌株的 SOD、CAT、GPX、GR 活力分别提高了 19%、10%、17%、16%, D2 菌株分别提高了 35%、118%、62%、91%。ZnSO₄ 处理组对抗氧化酶活力没有显著影响。

2.6 矿质元素对菌丝体 GSH、GSSG 含量的影响

GSH 和 GSSG 作为机体重要的抗氧化剂, 可以有效清除生物体内的 ROS。对 D0–D2 菌株的 GSH、GSSG 含量进行测定, 结果如图 6 所示。随着继代次数的增加, GSH 和 GSSG 含量呈下降趋势。与对照组相比, D2 菌株的 GSH、GSSG 含量分别降低了 38%、40%。

外源添加 5 种矿质元素后, D0 的 GSH、GSSG 含量无显著变化(P>0.05), 而 D1、D2 菌

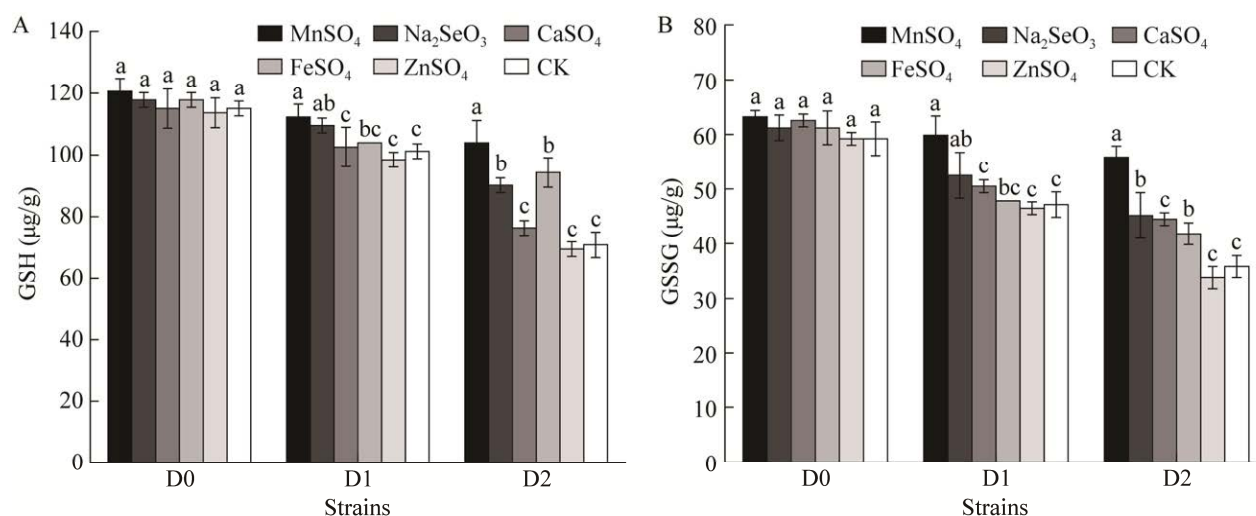


图6 五种矿质元素对草菇菌丝 GSH、GSSG 含量的影响 A: GSH 含量. B: GSSG 含量. 不同小写字母表示不同矿质元素对草菇 D0、D1、D2 菌丝 GSH、GSSG 含量差异显著($P < 0.05$)

Figure 6 Effects of five mineral elements on mycelium GSH and GSSG content of *Volvariella volvacea*. A: GSH content. B: GSSG content. Different lowercase letters indicate that different mineral elements have significant differences in GSH, GSSG content of *Volvariella volvacea* D0, D1 and D2 at $P < 0.05$.

株中的 GSH、GSSG 含量在 MnSO_4 、 FeSO_4 、 CaSO_4 、 Na_2SeO_3 处理后, 呈现出不同程度的增加。 MnSO_4 处理组的增幅最大, D1 菌株的 GSH、GSSG 含量较对照组分别提高 11%、27%, D2 菌株较对照组分别提高了 47%、56%。 ZnSO_4 处理组对菌丝体 GSH、GSSG 含量无显著影响。

3 讨论与结论

菌种质量直接影响食用菌的产量和品质, 频繁发生的菌种退化是食用菌生产中长期面临的一个难题^[15]。退化菌种的复壮方法有很多, 改变培养基配方是其中一种简单有效的复壮方法^[16-17]。刘小霞等^[18]研究发现, 改变培养基碳源可以有效复壮草菇退化菌种的菌丝特性; 马元伟等^[19]研究发现, 在丝状真菌持续传代或菌种保藏过程中添加一定浓度的组氨酸和赖氨酸, 能很好地延缓或恢复菌株退化。矿质元素是微生物培养基中重要的营养物质, 在食用菌

生长发育过程中起着极为重要的作用^[20]。许修宏等^[21]研究发现, 在培养基中添加矿质元素能抑制木耳菌种的老化; Weil 等^[22]研究发现, 在堆肥时添加硫酸锰能显著提高双孢蘑菇的产量; 杨慧等^[23]研究发现, 在培养基中添加适宜浓度的 CaSO_4 和 FeSO_4 可以促进香菇和金针菇菌丝的生长。本实验中, 在 PDA 培养基中添加一定浓度的 MnSO_4 、 Na_2SeO_3 、 CaSO_4 或 FeSO_4 后, D0–D2 的菌丝生长速度和生物量均显著增加(图 3), 其中 MnSO_4 的增幅最大, ZnSO_4 对 D0 菌株的菌丝生长有促进作用, 却使 D1、D2 菌株的菌丝生长受到抑制。本研究仅进行了草菇退化菌种的菌丝性状分析, 矿质元素的添加对草菇出菇能力、子实体产量、生产周期的影响还有待于进一步研究。

一些研究发现, 食用菌菌种退化与 ROS 的过度积累有关。在子囊菌中, 高 ROS 会导致羊肚菌菌丝逐渐老化^[24]。Xiong 等^[25]研究发现,

细胞内 ROS 的积累会导致蛹虫草的退化。本研究发现,随草菇菌种退化程度的增加, $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 在菌丝体内的含量均显著提高。外源添加 $MnSO_4$ 、 $FeSO_4$ 、 $CaSO_4$ 、 Na_2SeO_3 后, $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 含量较对照组均呈不同程度的降低,而 $ZnSO_4$ 对 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 含量变化影响不显著。抗氧化酶系可以有效清除 ROS, SOD 主要是负责清除活泼的 $O_2^{\cdot-}$,使其变成 H_2O_2 , CAT 进一步将 H_2O_2 分解为 O_2 和 H_2O 。 H_2O_2 还可以在 GPX 的作用下氧化 GSH 生成 GSSG, GR 则负责催化 GSSG 还原生成 GSH^[26]。在本研究中,外源添加 $MnSO_4$ 、 $FeSO_4$ 、 $CaSO_4$ 、 Na_2SeO_3 后,退化菌株 D1、D2 的 SOD、CAT、GPX、GR 活力及 GSH、GSSG 含量均有不同程度的提高。其中 $MnSO_4$ 的提高幅度最大,与菌丝生理指标相一致。本文仅测定了外源添加 5 种矿质元素后 4 种抗氧化酶活力的变化,抗氧化酶的相关基因表达调控机制还有待于进一步的研究。

Ca 是细胞内第二信使,调控着多种重要的生理生化防御反应,维持细胞的正常生理功能^[27]。Fe 作为 SOD、POD、CAT、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)等抗氧化酶类的激活剂^[28],促进食用菌菌丝体及子实体的生长^[23]。Se 是 GPX 的活性中心,对机体抗氧化能力有重要影响^[29]。Mn 是生物维持正常生命活动必需的矿质元素之一,大多数真菌线粒体中含有以 Mn 为辅基的超氧化物歧化酶(Mn-SOD)分子,可有效清除 $O_2^{\cdot-}$ ^[30]。本研究发现 Ca、Fe、Mn、Se 均能提高抗氧化酶活力,降低 ROS 积累,提高菌丝生理性状。Zn 也是微生物生长所必需的矿质元素,是 Cu,Zn-SOD 活性中心的一个辅基^[31]。但本研究发现, $ZnSO_4$ 对草菇退化菌株抗氧化酶活性影响不显著,这与何卓晶等^[31]的研究结果相一致,具体原因还有待进一步研究。

综上所述,在培养基中添加 $MnSO_4$ 、 Na_2SeO_3 、

$CaSO_4$ 或 $FeSO_4$, 均能提高草菇退化菌株的菌丝生长速度和生物量,降低 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 等 ROS 的含量,并增加 GSH、GSSG 含量及 SOD、CAT、GPX、GR 等抗氧化酶的活力。其中, $MnSO_4$ 的效果最佳。然而,本文使用的 5 种矿质元素均未将退化菌株 D1、D2 的菌丝性状恢复至 D0 的状态,可能是因为单一矿质元素无法满足退化菌种的复壮需求,在后续研究中,我们将尝试对多个矿质元素进行复配,以期达到更好的复壮效果。本文可为草菇菌种退化和复壮研究提供一定的基础和参考。

REFERENCES

- [1] 张芳艺, 罗小芳, 黄惠芸, 曾华贞, 胡宇欣, 谢宝贵, 江玉姬, 陈炳智. 草菇子实体多肽提取工艺及其抗氧化活性[J]. 菌物学报, 2023, 42(2): 584-596.
ZHANG FY, LUO XF, HUANG HY, ZENG HZ, HU YX, XIE BG, JIANG YJ, CHEN BZ. Extraction technology and antioxidant activities of polypeptides from fruiting bodies of *Volvariella volvacea*[J]. *Mycosystema*, 2023, 42(2): 584-596 (in Chinese).
- [2] 李丹青, 王杰. 草菇菌种退化相关分子标记的筛选[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2015, 43(8): 195-201.
LI DQ, WANG J. Screening of molecular markers associated with degeneration of *Volvariella volvacea* strains[J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2015, 43(8): 195-201 (in Chinese).
- [3] MANSOOR S, ALI WANI O, LONE JK, MANHAS S, KOUR N, ALAM P, AHMAD A, AHMAD P. Reactive oxygen species in plants: from source to sink[J]. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 2022, 11(2): 225.
- [4] BLAGOSKLONNY MV. Aging: ros or tor[J]. *Cell Cycle (Georgetown, Tex)*, 2008, 7(21): 3344-3354.
- [5] RAJPUT VD, HARISH, SINGH RK, VERMA KK, SHARMA L, QUIROZ-FIGUEROA FR, MEENA M, GOUR VS, MINKINA T, SUSHKOVA S, MANDZHIEVA S. Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress[J]. *Biology*, 2021, 10(4): 267.
- [6] HANSCH R, MENDEL RR. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B,

- Cl)[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2009, 12(3): 259-266.
- [7] 王贺祥, 刘庆洪. 食用菌栽培学[M]. 2 版. 北京: 中国农业大学出版社, 2014: 35-43.
WANG HX, LIU QH. *Mushroom Cultivation*[M]. 2nd ed. Beijing: China Agricultural University Press, 2014: 35-43 (in Chinese).
- [8] 白鹏. 食用菌菌种退化的原因与相应对策[J]. 农民致富之友, 2019(10): 81.
BAI P. Causes and countermeasures of degradation of edible fungi strains[J]. *Nongmin Zhifuzhiyou Yuekan*, 2019(10): 81 (in Chinese).
- [9] 姜慧. 大球盖菇菌种退化成因及林下栽培研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学硕士学位论文, 2020.
JIANG H. Studies on the degradation and cultivation under forest of *Stropharia Rugoso-annulata*[D]. Urumqi: Master's Thesis of Xinjiang Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [10] 王博. 双孢蘑菇营养菌丝老化现象的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2010.
WANG B. Study on senescence of vegetative mycelium of *Agaricus bisporus*[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Agricultural University, 2010 (in Chinese).
- [11] 范丽军, 沈颖越, 蔡为明, 金群力, 冯伟林, 宋婷婷, 李良英. 矿物质 Ca 元素对金针菇菌丝生长的影响[J]. 食药菌, 2020, 28(6): 421-424.
FAN LJ, SHEN YY, CAI WM, JIN QL, FENG WL, SONG TT, LI LY. Effect of mineral Ca on mycelial growth of *Flammulina filiformis*[J]. *Edible and Medicinal Mushrooms*, 2020, 28(6): 421-424 (in Chinese).
- [12] 孙淑静, 单书凯, 李钊锋, 郭艳艳, 陈文星, 胡开辉. 不同微量元素对斑玉蕈菌丝生长及酶活的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2015, 44(6): 639-645.
SUN SJ, SHAN SK, LI ZF, GUO YY, CHEN WX, HU KH. Effects of trace elements on the mycelial growth and enzyme activities of *Hypsizygus marmoreus*[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2015, 44(6): 639-645 (in Chinese).
- [13] 安学明, 陈超, 刘小霞, 负建民, 李彦虎, 赵风云. 草菇继代培养中菌种退化对子实体营养成分的影响[J]. 菌物学报, 2020, 39(2): 390-397.
AN XM, CHEN C, LIU XX, YUN JM, LI YH, ZHAO FY. Effects of degeneration of cultivated strains on fruiting body nutrients of *Volvariella volvacea* during subculture[J]. *Mycosystema*, 2020, 39(2): 390-397 (in Chinese).
- [14] 沈林林, 周世豪, 詹家绥, 王甜, 蔡铭铭. 一种收集纯净菌丝的方法: CN108715813A[P]. 2018-10-30.
SHEN LL, ZHOU SH, ZHAN JS, WANG T, CAI MM. A method of collecting pure mycelium: CN108715813A[P]. 2018-10-30 (in Chinese).
- [15] SUN SJ, DENG CH, ZHANG LY, HU KH. Molecular analysis and biochemical characteristics of degenerated strains of *Cordyceps militaris*[J]. *Archives of Microbiology*, 2017, 199(6): 939-944.
- [16] 程志虹, 王文沛, 谭强飞, 张凡红, 负建民, 赵风云. 外源甘露醇复壮草菇退化菌株的研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(11): 30-35.
CHENG ZH, WANG WP, TAN QF, ZHANG FH, YUN JM, ZHAO FY. Degraded strains of *Volvariella volvacea* rejuvenated by exogenous mannitol[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(11): 30-35 (in Chinese).
- [17] 孔梓璇, 王巧莉, 程志虹, 负建民, 张素玮, 赵风云. 外源氨基酸对草菇退化菌种复壮的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(20): 30-36.
KONG ZX, WANG QL, CHENG ZH, YUN JM, ZHANG WW, ZHAO FY. Effect of exogenous amino acids on the rejuvenation of degraded strains of *Volvariella volvacea*[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2021, 47(20): 30-36 (in Chinese).
- [18] 刘小霞, 安学明, 负建民, 包瑞星, 叶晨光, 赵风云. 改变培养基碳源复壮草菇退化菌种[J]. 菌物学报, 2020, 39(7): 1312-1321.
LIU XX, AN XM, YUN JM, BAO RX, YE CG, ZHAO FY. Rejuvenation of *Volvariella volvacea* degeneration strains by changing medium carbon source[J]. *Mycosystema*, 2020, 39(7): 1312-1321 (in Chinese).
- [19] 马元伟, 王荣, 高强, 刘敏祥, 鲍大鹏, 汪滢. 外源氨基酸的添加对恢复或预防丝状真菌退化的研究[J]. 生物学杂志, 2017, 34(2): 108-111.
MA YW, WANG R, GAO Q, LIU MX, BAO DP, WANG Y. Rejuvenation and preventing degradation of filamentous fungi by adding exogenous amino acids[J]. *Journal of Biology*, 2017, 34(2): 108-111 (in Chinese).
- [20] 暴增海, 马桂珍, 徐晓红. 微量元素对食用菌产量和品质的影响[J]. 世界农业, 2002(7): 38-40.
BAO ZH, MA GZ, XU XH. Effects of trace elements on the yield and quality of edible fungi[J]. *World Agriculture*, 2002(7): 38-40 (in Chinese).
- [21] 许修宏, 郝钢, 袁立. 不同无机盐对木耳菌种老化的影响[J]. 东北农业大学学报, 2012, 43(8): 119-122.
XU XH, HAO G, YUAN L. Effect of different

- inorganic salts on aging of *Auricularia auricular*[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2012, 43(8): 119-122 (in Chinese).
- [22] WEIL DA, BEELMAN RB, BEYER DM. Manganese and other micronutrient additions to improve yield of *Agaricus bisporus*[J]. Bioresource Technology, 2006, 97(8): 1012-1017.
- [23] 杨慧, 张美彦, 宋春艳, 刘建雨, 徐珍, 尚晓冬. 铁、锌、钙离子在三种食用菌菌丝体中的富集及对其生长的影响[J]. 食用菌学报, 2017, 24(2): 27-33.
- YANG H, ZHANG MY, SONG CY, LIU JY, XU Z, SHANG XD. Effects of Fe^{2+} , Zn^{2+} and Ca^{2+} on mycelium growth and its biological enrichment in mycelia of three edible mushrooms[J]. Acta Edulis Fungi, 2017, 24(2): 27-33 (in Chinese).
- [24] LIU QZ, ZHAO ZH, DONG H, DONG CH. Reactive oxygen species induce sclerotial formation in *Morchella importuna*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102(18): 7997-8009.
- [25] XIONG CH, XIA YL, ZHENG P, WANG CS. Increasing oxidative stress tolerance and subculturing stability of *Cordyceps militaris* by overexpression of a glutathione peroxidase gene[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(5): 2009-2015.
- [26] ZHANG JJ, HAO HB, WU XL, WANG Q, CHEN MJ, FENG ZY, CHEN H. The functions of glutathione peroxidase in ROS homeostasis and fruiting body development in *Hypsizygus marmoreus*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(24): 10555-10570.
- [27] ODIKETA JK, WHITEHALL S, ADEDOKUN OM. Biofortification of mushroom (*Pleurotus floridanus*) using calcium based supplements[J]. Journal of Mushrooms, 2020, 18(4): 287-291.
- [28] 岳丽娟. 铁胁迫对豌豆幼苗铁代谢、光合作用及抗氧化系统的影响[D]. 兰州: 兰州大学硕士学位论文, 2009.
- YUE LJ. The effect of iron stress on iron metabolism, photosynthesis and antioxidant system in *Pisum sativum* seedlings[D]. Lanzhou: Master's Thesis of Lanzhou University, 2009 (in Chinese).
- [29] XU MM, ZHU S, LI YR, XU S, SHI GY, DING ZY. Effect of selenium on mushroom growth and metabolism: a review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 118: 328-340.
- [30] 申进文, 张倩, 刘超, 龚凤萍, 邱立友, 戚元成. 锰离子对糙皮侧耳菌丝生长和生物学效率的影响[J]. 食用菌学报, 2015, 22(3): 30-33.
- SHEN JW, ZHANG Q, LIU C, GONG FP, QIU LY, QI YC. Effects of manganese ion on mycelial growth and biological efficiency of *Pleurotus ostreatus*[J]. Acta Edulis Fungi, 2015, 22(3): 30-33 (in Chinese).
- [31] 何卓晶, 王尊生, 李素霞, 袁勤生. Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 胁迫对蛹虫草(*Cordyceps militaris*)抗氧化酶活性及脂氧化水平的影响[J]. 药物生物技术, 2006, 13(1): 36-39.
- HE ZJ, WANG ZS, LI SX, YUAN QS. The effect of Cu^{2+} and Zn^{2+} stress on antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation level of entomogenous fungal species *Cordyceps militaris*[J]. Pharmaceutical Biotechnology, 2006, 13(1): 36-39 (in Chinese).