

贾 辉,孔雅丽. 硒、硅复配对六妹羊肚菌菌丝形态及子实体呈味品质的影响[J]. 江苏农业科学,2023,51(22):153–161.
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2023.22.022

硒、硅复配对六妹羊肚菌菌丝形态 及子实体呈味品质的影响

贾 辉,孔雅丽

(甘肃民族师范学院化学与生命科学系,甘肃合作 747000)

摘要:以六妹羊肚菌(*Morchella sextelata*)为试材,采用大棚划区试验,设置3个硒水平(0、10、20 mg/L,分别记为 Se_0 、 Se_1 、 Se_2)与3个硅水平(0、30、60 mg/L,分别记为 Si_0 、 Si_1 、 Si_2)的复配组合处理,探索硒、硅复配对六妹羊肚菌菌丝体形态及子实体呈味物质的影响,为硒、硅应用于羊肚菌的田间生产提供理论依据。结果表明,硒–硅复配可影响羊肚菌菌丝形态、呈鲜氨基酸(Glu、Asp)含量、呈味核苷酸(5′-XMP、5′-GMP、5′-IMP、5′-CMP、5′-AMP)含量及挥发性物质含量。较高的Se水平处理使得菌丝螺旋程度增加、菌丝变细。整体而言,相应Se处理(Se_1Si_0 、 Se_1Si_1 、 Se_1Si_2 、 Se_2Si_0 、 Se_2Si_1)呈鲜氨基酸、呈味核苷酸及醛、醇、烃、酸等挥发性物质的含量较高,当Se、Si水平最高时则不利于提高六妹羊肚菌的整体风味品质。主成分及层次聚类分析结果表明,呈味贡献率受指标间含量高低的影响,Se是决定呈味差异的主要因子。此外,研究进一步表明,处理间的鲜浓浓度值(EUC)、呈味品质评分值(TQV)变化规律高度一致,均以 Se_1Si_2 处理最高。综上,10 mg/L Se与60 mg/L Si复配处理(Se_1Si_2)效果较佳,其可提升羊肚菌子实体非挥发性、挥发性呈味物质含量,EUC、TQV较其他硒硅处理分别显著($P<0.05$)提高19.61%~72.99%、16.69~68.49百分点。

关键词:六妹羊肚菌;硒–硅复配;菌丝形态;核苷酸;风味物质

中图分类号:S646.706 **文献标志码:**A **文章编号:**1002–1302(2023)22–0153–09

羊肚菌(*Morchella* spp.)属于囊菌亚门(Aseomycotina)羊肚菌科(Morchellaceae)羊肚菌属(*Morchella*)中最著名的食用蕈菌,因其菌盖表面由不规则交叉皱褶网格似羊肚而得名^[1–3]。羊肚菌富含多种人体必需氨基酸、风味物质以及微量元素,味道鲜美。羊肚菌也是重要的药用菌,其含有多

糖、黄酮、脂肪酸及多种维生素^[4],具有提高机体免疫力、抗癌症、抗病毒、降血脂及补益气等多种功效^[5],因此广受美食爱好者追捧。目前,羊肚菌的来源分为野生和人工栽培,然而随着生态环境的恶化,野生羊肚菌极为珍贵且价格高昂,因此现今供应市场的羊肚菌主要为人工产业化栽培^[6]。目前,我国羊肚菌规模化、产业化栽培的品种主要为黑脉羊肚菌(*M. importuna*)、梯棱羊肚菌(*M. septimelata*)、六妹羊肚菌(*M. sextalata*)及七妹羊肚菌(*M. eximia*),其中以六妹羊肚菌栽培技术较为成

收稿日期:2023–05–12

基金项目:甘肃省省级引导科技创新发展专项(编号:2018ZX–01)。

作者简介:贾 辉(1981—),男,甘肃武威人,博士,副教授,主要从事羊肚菌种植技术与优良菌种研发。E-mail:jiah66@163.com。

[43] Uma E, Sathiyadash K, Loganathan J, et al. Tree species as hosts for arbuscular mycorrhizal and dark septate endophyte fungi [J]. Journal of Forestry Research, 2012, 23(4): 641–649.

[44] 吴佳育,胡 伟,杨智宇,等. 菌根真菌与植物根部微生态系统中不同真菌相互作用研究进展[J]. 河南农业科学, 2022, 51(2): 1–9.

[45] Gianinazzi – Pearson V, Smith S E, Gianinazzi S, et al. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular – arbuscular mycorrhizas [J]. New Phytologist, 1991, 117(1): 61–74.

[46] 张晨曦,田明慧,杨 硕,等. 酸性土壤中丛枝菌根真菌菌剂多样性对玉米产量及其磷钾吸收的影响[J]. 中国农业科学, 2022, 55(15): 2899–2910.

[47] Zhang S J, Lehmann A, Zheng W S, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi increase grain yields: a meta – analysis [J]. New Phytologist, 2019, 222(1): 543–555.

[48] 白灯莎. 买买提艾力,张少民,孙良斌. 接种丛枝菌根真菌对脱毒马铃薯微型薯生长及产量的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2011(1): 80–82.

[49] Agbodjato N A, Assogba S A, Babalola O O, et al. Formulation of biostimulants based on arbuscular mycorrhizal fungi for maize growth and yield [J]. Frontiers in Agronomy, 2022, 4: 894489.

[50] 狄晨璐. 丛枝菌根真菌对设施草莓品质及产量的影响[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2021.

熟,栽种分布最广、产量最高^[7]。

目前,关于羊肚菌的研究主要集中于分子系统发育分析、野生资源驯化、仿生栽培、菌丝培养基配方、发酵技术、人工栽培环境优化、多糖提取技术、抗氧化生理机制等方面^[6,8]。在人工栽培中,相关研究主要涉及培养基质对羊肚菌生长、生物活性成分含量及产量的影响。如沈彤等的研究表明,以生土、羊粪和菌糠组合施用可显著提高菌柄直径、菌柄长度、菌盖直径和单菇质量,子实体水分、粗纤维、必需氨基酸和呈味氨基酸的含量较高,粗多糖、粗脂肪的含量较低^[9]。宋崑等研究发现,以草炭、香菇菌糠和有机肥组培作为培菌基质材料,土壤微生物数量(细菌、真菌、放线菌)、土壤理化性质及土壤酶活性发生显著变化,其中以香菇菌糠和有机肥组配处理的羊肚菌钙、钾、镁含量最高^[10]。目前,关于外源矿质养分对羊肚菌生长及其风味品质形成的研究鲜有涉及。

硒(Se)、硅(Si)皆是生物体代谢所必需的微量元素,具有抗氧化、激活免疫应答和拮抗环境胁迫等功能^[11]。许乃霞等的研究表明,Se、Si 复配可以有效促进南粳 46 返青,促进根系生长、提高根系活力和抗氧化酶活性,还可通过增加水稻穗数从而提高产量^[12]。张明辉等研究发现,Se、Si 复配具有协同作用,可调节 Cd 转运基因的表达,促进小麦根系细胞壁和细胞器整合 Cd 以及减少 Cd 向地上部转移,从而显著降低 Cd 对小麦的毒害作用^[13]。上述研究为农业生产中 Se、Si 的应用提供了一定的理论依据,但主要集中于胁迫环境下对农作物生长的缓解效应,对食用菌尤其是药食用菌的发育形态及品质形成鲜有涉及^[2]。基于此,本研究探索了 Si、Se 复配对六妹羊肚菌菌丝体形态、风味物质组成的影响。研究结果可为硒、硅应用于羊肚菌的田间生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地点与供试材料

试验于 2021 年 11 月至 2022 年 3 月在甘肃民族师范学院食用菌棚中进行。供试羊肚菌物种为六妹羊肚菌,采用 PDA 培养基接种 *M. sextelata* 纯培养物,然后在 PDA 培养基和 16 ~ 18 ℃ 超净台中进行传代培养 14 d,之后转移到聚乙烯包裹菌种外援袋,外援袋干基质量为 400 g(70% 麦麸、15% 锯末、10% 谷壳、1% 石膏和 4% 基脚土),外援袋于 16 ~ 18 ℃、75% 湿度环境中培养 2 周^[14]。供试硒、

硅分别为亚硒酸钠(Na_2SeO_3)、九水硅酸钠($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$),两者均为分析纯,均购自北京索莱宝科技有限公司。试验棚中土壤为棕壤,土壤理化性质:pH 值 6.56,有机质、全氮、全磷、全钾的含量分别为 28.59、1.43、11.62、3.74 g/kg,碱解氮、速效磷、速效钾的含量分别为 86.74、23.58、117.65 mg/kg。

1.2 试验设计

试验采用 2 因素 3 水平完全随机设计,2 因素分别为施硒、施硅;其中施硒水平分别为 0、10、20 mg/L,分别记为 Se_0 、 Se_1 、 Se_2 ;施硅水平分别为 0、30、60 mg/L,分别记为 Si_0 、 Si_1 、 Si_2 。试验共设置 9 个复合处理。每个处理 3 次重复,共 27 个小区。棚内小区为长方形,每个小区面积 18 m²(长 4.5 m、宽 4.0 m),小区间被 50 cm 宽的深沟拦隔。

2021 年 12 月 9 日菌种施用前土表撒施尿素(90 kg N/hm²),采用旋耕机对土壤进行深度细耕(30 cm),棚上方搭建遮阳网,棚四周自然通风。将具有大量菌核的外援袋(3 袋/m²)基质平撒于土表面,并覆 1 层细土(2 cm),喷洒细水雾湿润上层细土以保证菌丝的发育。菌种播种 20 d 后将相应处理的硒、硅溶于 5 L 水中进行隔离式喷施,第 2 次、第 3 次硒-硅复合肥喷施于播菌后 60 d 和子实体锥形期(约播菌后 100 d)。其他管理同六妹羊肚菌的田间管理措施,试验周期 136 d。

1.3 样品采集及测定分析

1.3.1 六妹羊肚菌菌核形成和菌丝体生长测定 根据 Liu 等的方法^[15]采用无菌水配制成的相应硒、硅无菌溶液。采用 PDA 培养基接种 *M. sextelata* 纯培养物,然后 PDA 培养基在 16 ~ 18 ℃ 超净台中进行传代培养 21 d。从传代培养基中挑取 1 环(6 mm)菌丝体移至另一 PDA 培养基中,按照相应硒、硅处理每天加入 1 mL 无菌溶液,PDA 培养第 7 天下午使用变焦立体显微镜(NSW-20P-260, Carton, Japan)观察菌丝发育情况。

1.3.2 六妹羊肚菌子实体呈鲜氨基酸及核苷酸的含量测定 呈鲜氨基酸基包括天冬氨酸(Asp)和谷氨酸(Glu)。称取 500 mg 子实体粉碎干品于水解管中,加入 5 mL 分析纯盐酸(6 mol/L),之后吹入纯氮气封管。将封口的水解管置于 110 ℃ 保温箱中水解 24 h,之后取出冷却至室温开管,采用去离子水定容至 50 mL。准确吸取 10 mL 定容液,采用氮吹仪二次吹氮,在 60 ℃ 环境下,吹脱至干燥。加入 2 mL HCl 溶液(0.02 mol/L)采用液旋涡器充分混匀,过

0.26 μm 滤膜,终液采用全自动氨基酸分析仪(LC-10ADvp,日本岛津公司)测定。

本试验测定的核苷酸为全核苷酸组分:5'-胞苷酸(5'-CMP)、5'-鸟苷酸(5'-GMP)、5'-肌苷酸(5'-IMP)、5'-黄苷酸(5'-XMP)、5'-腺苷酸(5'-AMP)。称取 1 000 mg 子实体粉碎干品,加入 25 mL 去离子水,静置 10 min,100 $^{\circ}\text{C}$ 沸水浴 60 s,冷却至室温后高速(15 000 r/min)离心 10 min,取上清,底部沉淀以相同方法重提一次,合并 2 次上清液,并过 0.22 μm 微孔滤膜,滤液以去离子水定容至 50 mL,采用高效液相色谱仪(Shimadzu LC-30AD,日本岛津公司)进行检测,色谱条件、反应程序参考 Liu 等的研究^[16]。

1.3.3 六妹羊肚菌子实体挥发性物质含量测定

采用顶空固相微萃取气质联用仪(HS-SPME-GC-MS)对六妹羊肚菌鲜采子实体的挥发性成分进行测定。称取 10.00 g 左右羊肚菌新鲜子实体,加入 50 mL 去离子水,采用实验室小型破壁机打成 6.5 μm 匀浆,准确抽取 1 000 mg 匀浆置入微萃取顶空瓶(Shimadzu 18-09-1306,日本岛津公司)中,并加入 5 mL 去离子水和 10 μL 1,2-二氯苯(100 mg/L),于 55 $^{\circ}\text{C}$ 暖箱孵化 15 min。采用固相微萃取头 45 $^{\circ}\text{C}$ 萃取 0.5 h 以富集挥发性化合物,在装备有 SH-Rxi-5Sil MS 型毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm ,日本岛津公司)的气相色谱-质谱联用仪(GC-MS 2010SE,日本岛津公司)进样口 230 $^{\circ}\text{C}$ 条件下解吸附 3 min,GC-MS 色谱条件、质谱条件参考兰秀华等的研究^[17]。挥发性物质含量采用面积归一化法进行相应定量分析,各挥发性物质组分含量=分离组分峰面积/总峰面积 \times 100%。

1.4 数据处理与统计分析

羊肚菌等鲜浓度值(EUC)、呈味品质评分值(TQV)计算如下^[18]:

EUC 以谷氨酸钠(MSG)含量表示,单位为 gMSG/100 g, $EUC = \sum a_i b_i + 12.18 \sum a_i b_i \sum a_j b_j$ 。

式中: a_i 为呈鲜氨基酸(Asp、Glu)的质量分数; b_i 为呈鲜氨基酸相对 MSG 的鲜味值(Asp 为 0.077, Glu 为 1.000); a_j 为呈鲜 5'-核苷酸(5'-IMP、5'-GMP、5'-XMP、5'-AMP)的质量分数; b_j 为呈鲜 5'-核苷酸的鲜味值(5'-GMP 为 2.30, 5'-IMP 为 1.00, 5'-XMP 为 0.61, 5'-AMP 为 0.18);12.18 为呈鲜氨基酸与呈鲜核苷酸的协作常数。

TQV 为非挥发性物质与挥发性香气物质的综合得分值,计算公式: $TQV = \sum R_A (EUC \times V_A) \times 100\%$ 。式中: V_A 为挥发性香气物质(醛、醇、烃、酸、酮及挥发性物质总量)含量; R_A 为 V_A 的可用占比参考值,其中醛、醇、烃、酸、酮均为 0.1,挥发性物质总量为 0.5。

用 Excel 2013 对相关试验数据进行初步整理,用 SPSS 22 软件进行方差分析、主成分分析(PCA)与显著性检验,采用 Origin 11 软件完成图形绘制。

2 结果与分析

2.1 硒、硅复配对羊肚菌菌丝体形态的影响

由图 1 可知,在变焦立体显微镜下,六妹羊肚菌菌丝体晶亮、形态宽、扁平,且呈半螺旋扭曲状。同一 Se 水平下,随着 Si 水平的提高,其菌丝体形态无明显变化。而在同一 Si 水平下,随着 Se 水平的提高,在 Se₀、Se₁ 水平下的菌丝体形态也无明显变化,然而 Se₂ 水平下螺旋程度增加;尤其是在 Se₂Si₀ 处理中,同为 100 μm 视角下,其菌丝螺旋程度增加、菌丝更细(图 1-G)。

2.2 硒、硅复配对羊肚菌子实体呈鲜氨基酸含量的影响

由图 2 可知,天冬氨酸、谷氨酸的呈鲜氨基酸组分含量的峰值整体出现在较高 Si 或较高 Se 处理中。各处理的 Asp 含量表现为 Se₀Si₀ < Se₀Si₂ < Se₀Si₁ < Se₁Si₀ < Se₂Si₀ < Se₂Si₂ < Se₁Si₂ < Se₁Si₁ < Se₂Si₁,其中与 Se₀Si₀ 处理相比,Se₀Si₂ 处理提高 17.90%,但二者间无显著差异,其他硒-硅处理则较 Se₀Si₀ 处理显著提高 39.25%~92.10%。同一 Se 水平下,各 Si 水平的 Glu 含量表现为 Si₀ < Si₁ < Si₂,其中 Si₂ 处理均显著大于 Si₀ 处理、Si₁ 处理;整体而言,各处理 Glu 含量表现为 Se₁Si₀ < Se₀Si₀ < Se₀Si₁ < Se₂Si₀ < Se₁Si₁ < Se₂Si₁ < Se₀Si₂ < Se₂Si₂ < Se₁Si₂,其中与 Se₁Si₂ 处理相比,其他硒-硅处理显著降低 17.20%~54.77%。

2.3 硒、硅复配对羊肚菌子实体呈鲜 5'-核苷酸组分含量的影响

由图 3 可知,羊肚菌子实体呈鲜 5'-核苷酸组分含量中,各组分含量表现为 5'-黄苷酸(5'-XMP) < 5'-鸟苷酸(5'-GMP) < 5'-肌苷酸(5'-IMP) < 5'-胞苷酸(5'-CMP) < 5'-腺苷酸(5'-AMP),其中 5'-XMP、5'-GMP、5'-IMP、5'-CMP

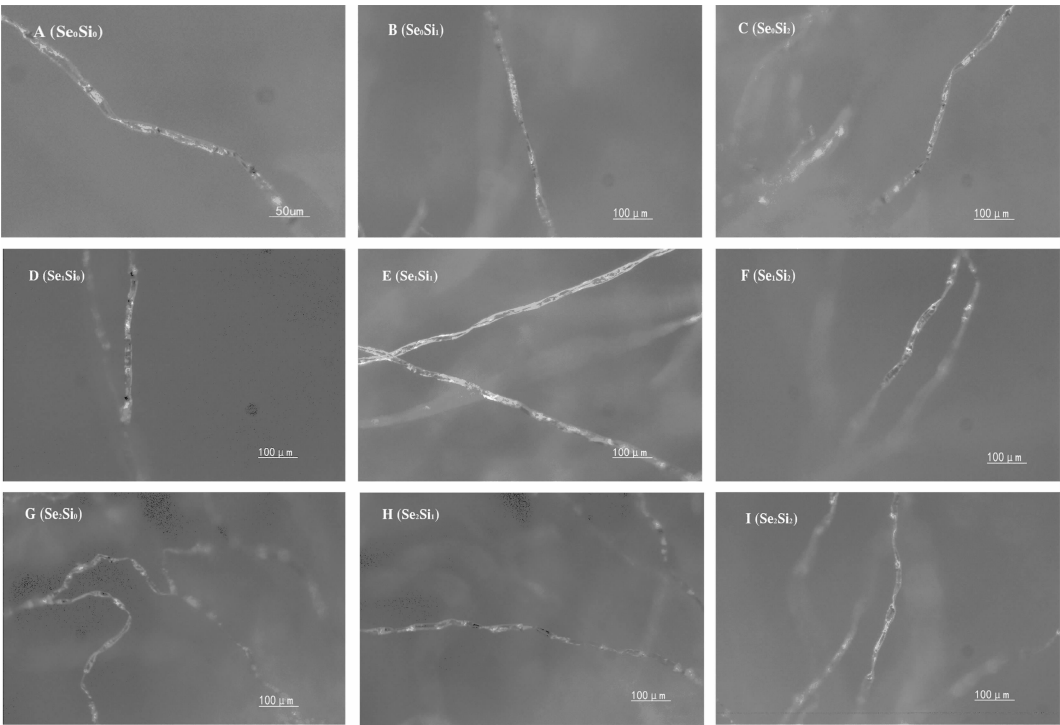
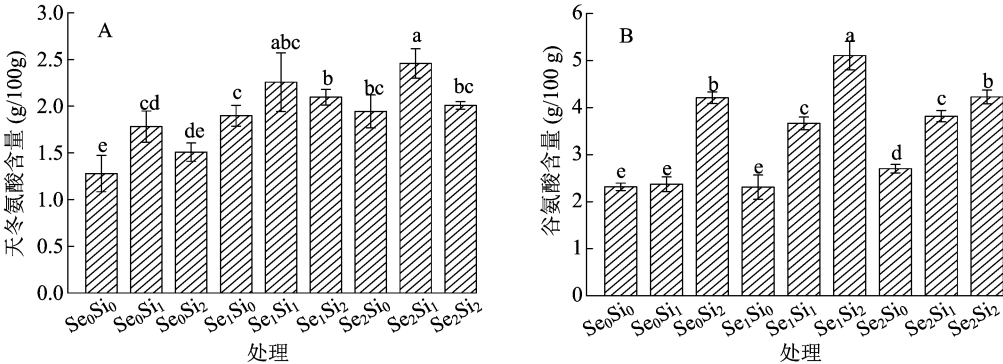


图1 硒、硅复配对羊肚菌菌丝体形态的影响



柱上不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。图3、图6同

图2 硒、硅复配对羊肚菌子实体呈鲜氨基酸含量的影响

及 5'-AMP 分别占总 5'-核苷酸含量的 0.44% ~ 2.23%、6.16% ~ 11.13%、7.12% ~ 19.88%、30.77% ~ 39.45% 及 35.75% ~ 52.26%。各 5'-核苷酸组分含量最大的 4 个处理为 Se₁Si₀、Se₁Si₁、Se₁Si₂、Se₂Si₁。其中 5'-GMP、5'-IMP 组分含量以 Se₁Si₁ 处理较高,各处理 5'-GMP 含量表现为 Se₀Si₀ < Se₀Si₁ < Se₀Si₂ < Se₂Si₀ < Se₁Si₀ < Se₂Si₁ < Se₁Si₂ < Se₂Si₂ < Se₁Si₁,但两两处理间均无显著差异,而其他硒-硅处理的 5'-IMP 含量较 Se₁Si₁ 处理显著降低 16.60% ~ 79.99%。而 5'-CMP 含量则以 Se₂Si₁ 处理最高,各处理表现为 Se₀Si₁ < Se₀Si₀ < Se₀Si₂ < Se₂Si₀ < Se₁Si₀ < Se₂Si₂ < Se₁Si₁ < Se₁Si₂ < Se₂Si₁,除 Se₁Si₂ 处理外,其他硒-硅处理均显著低

于 Se₂Si₁ 处理;类似的,5'-AMP 含量除 Se₁Si₂ 和 Se₂Si₁ 处理外,其他硒-硅处理均显著低于 Se₁Si₀ 处理;而 5'-XMP 含量,与 Se₁Si₂ 处理相比,其他硒-硅处理显著降低 21.09% ~ 89.50%。就 5'-核苷酸总量而言,各处理表现为 Se₀Si₀ < Se₀Si₁ < Se₀Si₂ < Se₂Si₀ < Se₂Si₂ < Se₁Si₀ < Se₁Si₁ < Se₁Si₂ < Se₂Si₁,其中与 Se₂Si₁ 处理相比,其他硒-硅处理降低 5.76% ~ 50.06%。

2.4 硒、硅复配对羊肚菌子实体挥发性物质含量的影响

由表 1 可知,基于 HS-SPME-GC-MS 对六妹羊肚菌新鲜子实体共鉴定出 34 种挥发性物质,其中醛类 9 种,醇类 6 种,烃类 7 种,酸类、其他类各 4

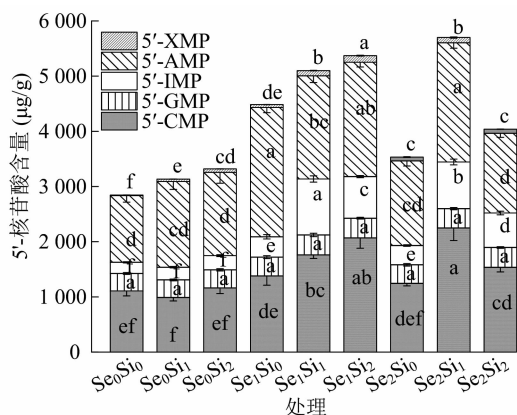


图3 硒、硅复配对羊肚菌子实体鲜 5'-核苷酸组分含量的影响

种,含硫类、酮类各 2 种。就一级组分含量而言,以醛类(54.75% ~ 65.86%)、醇类(12.41% ~ 24.08%)的含量最高;就单组分而言,以 3-甲基丁醛(19.56% ~ 22.47%)、2-甲基丁醛(14.96% ~ 16.49%)、2-甲基丙醛(14.27% ~ 21.08%)、3-甲基-1-丁醇(4.61% ~ 13.35%)及 2-甲基-1-丙醇(1.76% ~ 7.26%)的含量较高,且这 5 个单组分归属于醛类、醇类。此外,六妹羊肚菌新鲜子实体中均含有的醛类物质还有 2-丁烯醛、苯乙醛、3-甲基丁醛、正己醛及苯甲醛,这些醛类物质能够产生独特的香味,如苯甲醛具有杏仁甜香味,2-丁烯醛具有蜂蜜香味,正己醛具有青草鲜嫩香气味,它们共同赋予羊肚菌丰富的芳香气息。六妹羊肚菌新鲜子实体中相对含量最高的酮类化合物为丙酮(0.74% ~ 9.58%),它具有独特的羊肚菌香味;含有水果香味的 2-庚酮含量为 0.44% ~ 2.06%。新鲜子实体中醇类物质相对含量较高,其中硒-硅处理显著改变了具有蘑菇味的 2-甲基-1-丙醇的含量,Se₁Si₀ 和 Se₂Si₀ 处理的子实体含量最高,分别为 7.12% 和 7.26%;同时具有醇香气息的 3-甲基-1-丁醇、1-壬醇含量在硒-硅处理下也产生了明显差异。新鲜子实体中相对含量较高的烃类是柠檬烯(橘香味),其相对含量为 0.95% ~ 2.21%。此外,新鲜子实体中还检测出一些其他化合物,如乙酸乙酯、己基戊基醚等酯醚类物质,这些物质也会对六妹羊肚菌新鲜子实体的整体风味产生影响。就相关硅处理而言,不同一级组分、单组分含量中不同 Si 水平处理表现不一;就相关硒处理而言,不同 Se 水平下挥发性物质含量亦存在一定差异,除酮类外(酮类峰值为 Se₂Si₀ 处理),其他一级组分含量峰值主要集中于 Se₁ 处理(Se₁Si₀、Se₁Si₁、Se₁Si₂)。就子实体挥发性物质总含量而言,各处理

表 1 硒、硅复配对羊肚菌子实体挥发性物质的 HS-SPME-GC-MS 分析结果

种类	挥发性物质名称	含量(%)									
		Se ₀ Si ₀	Se ₀ Si ₁	Se ₀ Si ₂	Se ₁ Si ₀	Se ₁ Si ₁	Se ₁ Si ₂	Se ₂ Si ₀	Se ₂ Si ₁	Se ₂ Si ₂	Se ₂ Si ₂
醛类	2-甲基丙醛	15.61 ± 0.16c	18.04 ± 0.57b	15.56 ± 0.73cd	14.27 ± 0.58e	21.08 ± 1.06a	15.69 ± 0.33c	14.76 ± 0.71de	18.71 ± 0.65b	17.68 ± 0.42b	
	2-丁烯醛	1.62 ± 0.23ab	1.67 ± 0.21ab	1.83 ± 0.18ab	1.69 ± 0.27ab	1.74 ± 0.09ab	1.94 ± 0.18a	1.58 ± 0.16b	2.08 ± 0.27a	1.69 ± 0.31ab	
	3-甲基丁醛	22.47 ± 2.01a	21.33 ± 1.28a	21.99 ± 1.72a	19.99 ± 1.23a	19.58 ± 0.95a	21.27 ± 1.33a	20.37 ± 0.88a	20.13 ± 1.36a	19.56 ± 1.53a	
	2-甲基丁醛	15.48 ± 0.43b	15.49 ± 1.01ab	15.61 ± 0.67ab	14.80 ± 0.49b	16.49 ± 0.49a	16.08 ± 0.41ab	15.39 ± 0.53b	15.64 ± 0.64ab	15.85 ± 0.73ab	
	正己醛	3.19 ± 0.15c	3.55 ± 0.17b	3.48 ± 0.19bc	3.11 ± 0.19c	4.55 ± 0.32a	4.37 ± 0.46a	3.26 ± 0.51bc	3.21 ± 0.25bc	3.08 ± 0.21c	
醇类	正戊醛	0.56 ± 0.08bc	0.49 ± 0.11c	0.67 ± 0.08bc	0.63 ± 0.06bc	1.34 ± 0.08a	0.01 ± 0.01e	0.74 ± 0.13b	0.20 ± 0.07d	0.59 ± 0.05bc	
	苯甲醛	0.02 ± 0.01d	0.13 ± 0.01c	0.69 ± 0.03b	0.16 ± 0.02c	0.71 ± 0.03b	0.74 ± 0.01b	0.76 ± 0.04b	0.16 ± 0.03d	1.17 ± 0.03a	
	正壬醛	0.41 ± 0.05a	0.29 ± 0.03bc	—	—	0.23 ± 0.03c	0.35 ± 0.03ab	—	0.38 ± 0.02a	0.34 ± 0.04ab	
	苯乙醛	0.07 ± 0.02bc	0.07 ± 0.02bc	0.04 ± 0.01c	0.10 ± 0.01b	0.14 ± 0.02a	0.09 ± 0.02b	0.08 ± 0.01b	0.06 ± 0.03bc	0.09 ± 0.01b	
	合计	59.41 ± 0.93b	61.06 ± 0.76b	59.87 ± 1.02b	54.75 ± 0.47d	65.86 ± 0.79a	60.54 ± 1.34b	56.94 ± 0.76c	60.57 ± 0.93b	60.05 ± 2.01b	
醇类	2-甲基-1-丙醇	5.23 ± 0.52c	4.27 ± 0.31d	6.41 ± 0.57ab	7.12 ± 0.26a	4.63 ± 0.52cd	5.55 ± 0.38b	7.26 ± 0.54a	6.59 ± 0.33a	1.76 ± 0.29e	
	3-甲基-1-丁醇	4.61 ± 0.26d	5.09 ± 0.61d	7.09 ± 0.81c	13.35 ± 1.07a	10.49 ± 0.52b	9.92 ± 1.47b	6.93 ± 0.95c	7.35 ± 0.63c	6.96 ± 0.46c	
	1-己醇	0.74 ± 0.09c	2.25 ± 0.37a	1.18 ± 0.23b	1.10 ± 0.16b	2.28 ± 0.34a	3.41 ± 0.96a	1.43 ± 0.28b	1.15 ± 0.29b	2.77 ± 0.41a	

表 1(续)

挥发性物质		含量(%)									
种类	名称	Se ₀ Si ₀	Se ₀ Si ₁	Se ₀ Si ₂	Se ₁ Si ₀	Se ₁ Si ₁	Se ₁ Si ₂	Se ₂ Si ₀	Se ₂ Si ₁	Se ₂ Si ₂	
醇类	1-戊醇	1.52±0.34a	—	0.59±0.14c	1.02±0.06b	1.41±0.29a	1.92±0.20a	1.77±0.34a	—	—	
	1-壬醇	0.52±0.13e	0.59±0.06e	1.53±0.27cd	1.19±0.23d	2.31±0.21ab	2.43±0.18a	1.76±0.42bcd	1.91±0.35abc	0.53±0.11e	
	芳樟醇	—	0.24±0.03b	—	0.30±0.03b	0.07±0.01c	—	—	—	0.39±0.05a	
	合计	12.62±0.26e	12.44±0.45e	16.80±1.21d	24.08±0.66a	21.19±1.04b	23.23±1.49ab	19.15±0.73c	17.00±0.52d	12.41±0.91e	
烃类	柠檬烯	0.98±0.06d	1.42±0.05b	0.99±0.08cd	0.95±0.07d	2.21±0.21a	1.49±0.14b	1.18±0.11c	1.58±0.20b	1.05±0.03cd	
	长叶烯	0.35±0.02d	0.32±0.02d	0.35±0.03d	0.39±0.06cd	0.87±0.13a	0.91±0.05a	0.43±0.05bc	0.92±0.03a	0.51±0.04b	
	二氯苯	—	0.38±0.02d	0.37±0.04d	0.49±0.05bc	—	0.79±0.08a	0.38±0.03d	0.59±0.05b	0.43±0.03cd	
	萘	0.36±0.04cd	0.62±0.11a	0.42±0.03bc	0.31±0.03d	0.55±0.03a	0.31±0.03d	0.45±0.05b	0.34±0.02d	0.55±0.04a	
酸类	十四烷	0.61±0.04a	0.39±0.03d	0.26±0.02e	—	—	—	0.35±0.07d	0.41±0.03c	0.53±0.02b	
	十五烷	0.19±0.01d	0.25±0.05cd	—	0.25±0.09bc	0.41±0.05a	0.43±0.06a	0.23±0.02cd	—	0.34±0.03ab	
	正戊烷	0.25±0.03c	—	0.32±0.03bc	—	0.54±0.05a	0.37±0.02b	—	—	0.33±0.02b	
	合计	2.74±0.25d	3.38±0.24c	2.71±0.31de	2.39±0.09e	4.58±0.30a	4.30±0.26a	3.02±0.25cd	3.84±0.46ab	3.74±0.29bc	
含硫类	乙酸	1.02±0.15b	0.37±0.04e	0.75±0.13cd	0.42±0.05e	0.96±0.16bc	2.05±0.28a	0.68±0.11d	1.01±0.12b	0.56±0.07d	
	2-甲基丙酸	0.62±0.06b	0.73±0.11ab	0.42±0.01c	0.44±0.06c	0.75±0.12ab	0.98±0.13a	0.29±0.03d	0.48±0.07c	0.91±0.09a	
	3-甲基丁酸	0.49±0.08d	0.52±0.06d	0.16±0.04e	0.47±0.10d	0.49±0.06d	0.71±0.06b	0.61±0.04bc	1.25±0.14a	0.51±0.08cd	
	2-甲基丁酸	0.23±0.03d	0.17±0.03de	0.14±0.02e	0.23±0.04d	0.34±0.03c	0.69±0.11a	0.42±0.06b	0.47±0.05b	0.26±0.08cd	
酮类	合计	2.36±0.15c	1.79±0.16ef	1.47±0.22f	1.56±0.14f	2.54±0.08c	4.43±0.32a	2.00±0.11de	3.21±0.09b	2.24±0.23cd	
	二甲基二硫	2.11±0.29b	2.17±0.33b	1.46±0.17c	2.13±0.25b	2.93±0.64ab	4.06±0.49a	0.97±0.21d	0.73±0.15d	2.21±0.61b	
	二甲基三硫	0.27±0.02f	0.51±0.01e	0.31±0.06f	0.61±0.11de	3.15±0.57a	0.99±0.23cd	1.25±0.09c	2.03±0.09b	0.89±0.13d	
	合计	2.38±0.18d	2.68±0.23cd	1.77±0.11e	2.74±0.19c	6.08±0.54a	5.05±0.31b	2.22±0.27d	2.76±0.25cd	3.10±0.32c	
其他类	丙酮	2.69±0.18e	2.25±0.13e	0.74±0.09f	3.75±0.45d	5.86±0.61c	6.29±0.38c	9.58±1.02a	7.66±0.68b	3.42±0.54d	
	2-庚酮	0.84±0.23bcd	1.13±0.15b	2.00±0.19a	0.62±0.09cd	0.81±0.12c	2.06±0.24a	0.44±0.17e	0.93±0.09bc	1.75±0.11a	
	合计	3.53±0.31e	3.38±0.54ef	2.74±0.19f	4.37±0.38d	6.67±0.89b	8.35±1.43ab	10.02±0.95a	8.59±0.68a	5.17±0.52cd	
	乙酸乙酯	1.10±0.04a	1.22±0.15a	1.05±0.14a	1.04±0.09a	1.24±0.11a	1.29±0.18a	1.17±0.05a	1.12±0.05a	1.06±0.07a	
薄层类	己基戊基醚	0.47±0.11ab	0.41±0.03b	0.43±0.07b	0.42±0.03b	0.57±0.04a	0.53±0.06a	0.50±0.04ab	0.51±0.07ab	0.51±0.06ab	
	2-戊基呋喃	0.21±0.02d	0.23±0.04cd	0.20±0.02d	0.23±0.01d	0.39±0.05a	0.34±0.03ab	0.25±0.03cd	0.28±0.05bc	0.31±0.03ab	
	薄荷醇呋喃	0.03±0.01c	0.03±0.01c	0.05±0.01c	0.24±0.05b	0.19±0.02b	0.61±0.04a	0.04±0.01c	0.54±0.04a	0.23±0.04b	
	合计	1.81±0.09d	1.89±0.11cd	1.73±0.08d	1.93±0.08cd	2.39±0.22ab	2.77±0.23a	1.96±0.19bcd	2.45±0.17ab	2.11±0.17bc	

注:同行数据后标有不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$);“—”表示未检出。

表现为 $Se_0Si_0 < Se_0Si_1 < Se_0Si_2 < Se_2Si_2 < Se_1Si_0 < Se_2Si_0 < Se_2Si_1 < Se_1Si_2 < Se_1Si_1$, 且 Se_0Si_0 (84.85%)、 Se_0Si_1 (86.62%)、 Se_0Si_2 (87.09%)、 Se_2Si_2 (88.82%) 处理间差距较小。

2.5 硒、硅复配对羊肚菌子实体呈味物质的主成分分析(PCA)及层次聚类分析

2.5.1 PCA 采用最大方差法抽取 2 个主成分得到载荷因子图(图 4-A)和得分因子图(图 4-B)。从图 4-A 可以看出,第 1 主成分(PC1)为 56.32% 形成横轴,第 2 主成分(PC2)占 25.90% 构成纵轴。

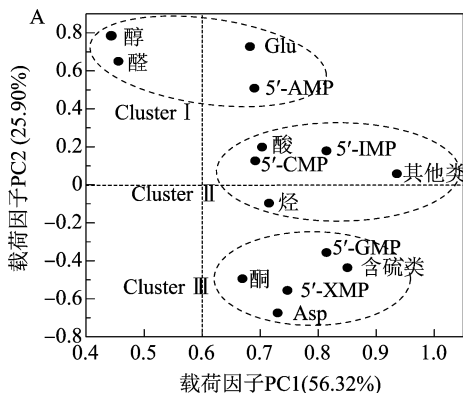


图4 基于 PCA 分析的子实体呈味氨基酸、核苷酸及挥发性物质含量集群及贡献率

2.5.2 层次聚类分析 采用层次聚类方法分析由鲜味氨基酸、5'-核苷酸组分和挥发性物质数据组成的融合数据集,并采用欧氏距离计算硒-硅处理下的羊肚菌新鲜子实体样本之间的间隔距离,得到树状图。由图 5 可知,当距离为 100 时,9 个硒-硅处理样本可分为 2 个集群, Se_0Si_0 、 Se_0Si_1 、 Se_0Si_2 、 Se_1Si_0 、 Se_2Si_0 为一个集群,剩下 4 个样本归为一个集群;当欧氏距离为 60 时,剩下 4 个样本中的 Se_2Si_2 独自分离;当欧氏距离为 40 时, Se_0Si_0 、 Se_0Si_1 、 Se_0Si_2 、 Se_1Si_0 归于一个紧密集群, Se_2Si_0 独自分离,而 Se_1Si_2 、 Se_2Si_1 亦归于一个小集群。总体而言,随着欧氏距离缩短,发现其聚合主要由 Se 水平决定。

2.6 硒、硅复配对羊肚菌子实体等鲜浓度值及呈味品质评分值的影响

由图 6-A 可知,在 EUC 中, Se_0 、 Se_1 水平下,随着 Si 水平升高,EUC 随之提高,且 Si_2 处理均显著大于 Si_0 处理、 Si_1 处理;而在 Se_2 水平下,则表现为 $Si_0 < Si_2 < Si_1$;整体来看,各硒-硅处理的 UEC 表现为 $Se_0Si_0 < Se_0Si_1 < Se_1Si_0 < Se_2Si_0 < Se_0Si_2 < Se_2Si_2 < Se_2Si_1 < Se_1Si_1 < Se_1Si_2$,其中与 Se_1Si_2 处理相比,其他硒-硅处理显著降低 19.61%~72.99%。各处理的 TQV 变化规律与 EUC 基本一致,也是 Se_1Si_2

簇 I (Cluster I) 由挥发性物质醛、醇、Glu 及 5'-AMP 共同组成,代表了含量较高的集合;簇 II (Cluster II) 由酸、烃、其他类、5'-CMP 及 5'-IMP 构成;簇 III (Cluster III) 由含量整体较低的酮、含硫类、5'-XMP、5'-GMP 及 Asp 组成。从图 4-B 可以看出,9 个硒-硅处理的得分因子提取出的 2 个 PC 共占 82.22%,表明六妹羊肚菌子实体呈鲜氨基酸、5'-核苷酸及挥发性物质含量对呈味贡献率达到了 82.22%。

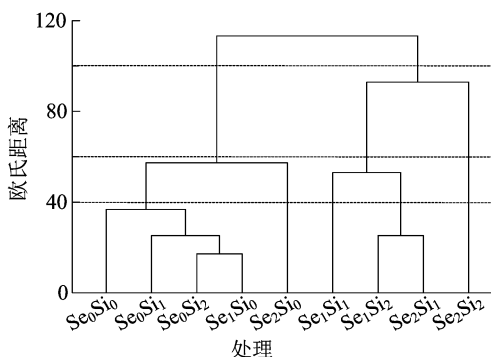
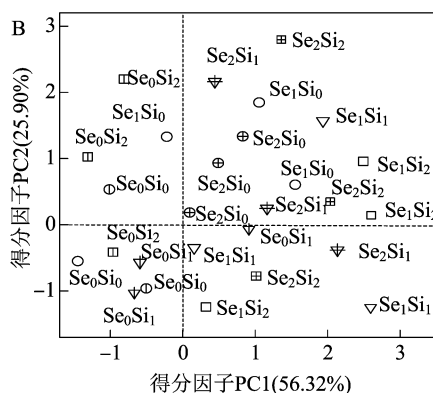


图5 基于子实体呈味氨基酸、核苷酸及挥发性物质的层次聚类分析

处理最高,其他硒-硅处理较其显著降低 16.69~68.49 百分点(图 6-B)。

3 讨论

硒、硅是植物生长发育必需的营养元素,同时也是重要的有益元素。目前,已广泛应用于缓解重金属、干旱、盐碱等非生物胁迫及提升作物品质中^[13,19]。然而关于 Se-Si 复配对食用菌菌丝形体及相关品质的研究较少。菌丝形态发育是反映食用菌菌丝活力和后期收获的重要表征^[20]。本研究结果表明,采用变焦立体显微镜观察发现, Si 或较

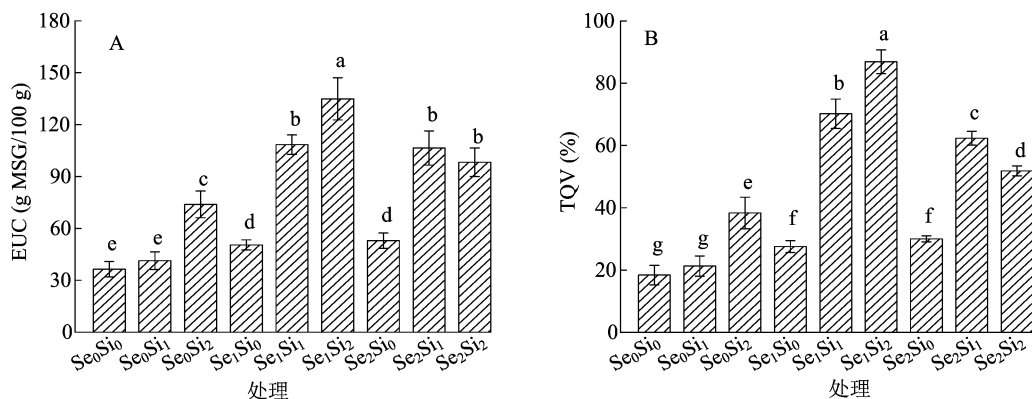


图6 硒、硅复配对羊肚菌子实体等鲜浓度值及呈味品质评分值的影响

低的 Se 水平对菌丝体形态无明显影响,而 Se₂ 水平下的菌丝体形态螺旋度提高,在 Se₂Si₀ 处理的菌丝螺旋程度最高,菌丝变细。这与前人关于硒对食用菌的研究结论基本趋于一致:Zhang 等的研究表明,赤灵芝的菌丝体形态对硒敏感,过高的硒浓度可使得菌丝变得更细、分枝数更多^[21]。这可能是由于无机形态的亚硒酸钠(Na₂SeO₃)呈高度氧化态,植物体内的流动物质呈稳定还原态,因此无机形式的硒具有一定的生理毒性,较多时则产生胁迫效应^[22]。

羊肚菌营养丰富、香味独特、味道鲜美,富含多种人体需要的氨基酸和有机锗,一直作为改善人体营养状况的高级补品^[4-5,23]。食用菌的特殊风味是广受欢迎的重要因素,其主要由子实体所含的非挥发性呈味物质(鲜味氨基酸、5'-核苷酸)与挥发性香气物质共同赋予^[24]。其中非挥发性成分决定了食用的味觉感受,其鲜味是氨基酸类鲜味物质和呈味核苷酸类物质共同作用的结果^[25]。本研究表明,六妹羊肚菌含有较高含量的 Glu 和 Asp,且 5'-核苷酸种类齐全,包含了 5'-CMP、5'-GMP、5'-IMP、5'-XMP、5'-AMP 共 5 个单核苷酸物质;与 Se₀Si₀ 处理相比,含有硒、硅其中一种组分的处理(Se₀Si₁、Se₀Si₂、Se₁Si₀、Se₁Si₁、Se₁Si₂、Se₂Si₀、Se₂Si₁、Se₂Si₂)均整体提高了呈鲜氨基酸(Glu、Asp)、呈味核苷酸(5'-XMP、5'-GMP、5'-IMP、5'-CMP、5'-AMP)的含量,且其峰值均整体出现在 Se₁Si₀、Se₁Si₁、Se₁Si₂、Se₂Si₁ 处理,表明这 4 个处理最有利于提高六妹羊肚菌子实体的食用口感。

挥发性物质是羊肚菌致香物质的主体,主要包括醛、醇、烃、酸、酮及含硫类化合物等,不同的化合物种类共同形成了羊肚菌的最终风味^[20,26]。羊肚菌子实体中所含有的挥发性成分也与品种、栽培措施以及气候环境条件等密切相关^[27]。兰秀华等在

川羊肚菌系列品种中鉴定出 38 种挥发性成分^[17]。李翔等采用 HS-SPME-GC-MS 对野生与人工栽培羊肚菌的挥发性成分进行检测,发现在野生、人工栽培羊肚菌菌盖分别检测出 42、24 种挥发性成分,且发现影响关键风味的物质种类及含量存在较大差异^[28]。本研究采用 HS-SPME-GC-MS 对硒-硅处理下的新鲜子实体样品所含有的挥发性化合物进行分析,共鉴定到 34 种挥发性风味物质,包括醛类 9 种、醇类 6 种、烃类 7 种、酸类和其他类各 4 种、含硫类和酮类各 2 种,其中醛类、醇类物质的含量较高,对风味影响较大;醛类、醇类化合物含有花香、果香等令人愉悦的风味,这些物质相互作用、相互弥补,构成了羊肚菌独特且迷人的风味^[17,29]。

本研究中,呈鲜氨基酸(Glu、Asp)、呈味核苷酸(5'-XMP、5'-GMP、5'-IMP、5'-CMP、5'-AMP)、醛、醇、烃、酸等一级组分及挥发性物质总含量较大值主要集中于含 Se 处理(Se₁Si₀、Se₁Si₁、Se₁Si₂、Se₂Si₀、Se₂Si₁),且 Se₂Si₂ 处理的相关含量均整体较低,表明较高水平的 Se 和较高水平的 Si 复配不利于改善六妹羊肚菌风味品质。由于不同硒-硅处理下的非挥发性呈味物质及挥发性香气物质含量未呈现出一致规律性,无法直接通过这些成分和含量进行准确判定。因此,通过 PCA 和层次聚类对不同样品进行综合评价,统计分析发现呈鲜氨基酸(Glu、Asp)、呈味核苷酸(5'-XMP、5'-GMP、5'-IMP、5'-CMP、5'-AMP)及相关挥发性物质组分对子实体风味的贡献率受指标含量高低影响,而 Se 水平主要决定了处理间的差异。研究进一步表明,各处理的 EUC、TQV 规律高度一致,均以 Se₁Si₂ 处理最高,其他处理较其分别显著降低 19.61%~72.99%、16.69~68.49 百分点。

4 结论

本研究结果表明,硒、硅复配可影响羊肚菌菌丝形态及呈鲜氨基酸(Glu、Asp)、呈味核苷酸(5'-XMP、5'-GMP、5'-IMP、5'-CMP、5'-AMP)、挥发性物质含量。Si 或较低的 Se 水平(Se_0 、 Se_1)对菌丝体形态无明显影响,在 Se_2 水平下菌丝体形态螺旋度提高, Se_2Si_0 处理的菌丝螺旋程度最高、菌丝更细。就非挥发性呈味物质而言, Se_1Si_0 、 Se_1Si_1 、 Se_1Si_2 、 Se_2Si_1 处理的呈鲜氨基酸(Glu、Asp)、呈味核苷酸(5'-XMP、5'-GMP、5'-IMP、5'-CMP、5'-AMP)含量整体较高。HS-SPME-GC-MS 分析结果表明, Se_1 处理(Se_1Si_0 、 Se_1Si_1 、 Se_1Si_2)的醛、醇、烃、酸等一级组分及挥发性物质总含量最高,而 Se_2Si_2 处理下的相关指标含量均整体较低,表明较高的 Se、Si 水平不利于改善六妹羊肚菌的整体风味品质。主成分及层次聚类分析结果表明,上述指标的呈味贡献率受含量高低影响,Se 是决定呈味差异的主要因子。此外,研究进一步表明,处理间的 EUC、TQV 变化规律高度一致,均以 Se_1Si_2 处理最高,较其他硒-硅处理分别显著提高 19.61%~72.99%、16.69~68.49 百分点。

参考文献:

- [1] 杜习慧,赵琪,杨祝良.羊肚菌的多样性、演化历史及栽培研究进展[J].菌物学报,2014,33(2):183-197.
- [2] Liu Q Z, Ma H S, Zhang Y, et al. Artificial cultivation of true morels: current state, issues and perspectives [J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2018, 38(2): 259-271.
- [3] 张建军,贾乐,李广贤,等.羊肚菌生物学特性及生物活性研究进展[J].山东农业科学,2021,53(10):149-156.
- [4] Li Y T, Chen H Y, Zhang X. Cultivation, nutritional value, bioactive compounds of morels, and their health benefits: a systematic review [J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 10: 399.
- [5] Wu H S, Chen J, Li J L, et al. Recent advances on bioactive ingredients of *Morchella esculenta* [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2021, 193(12): 4197-4213.
- [6] 刘伟,何培新,时晓菲,等.我国羊肚菌栽培历程及相关基础研究进展[J].食药菌,2022,30(4):261-270.
- [7] 赵瑞,刘绍雄,马超.我国羊肚菌产业发展现状及市场分析[J].中国食用菌,2020,39(2):7-10.
- [8] 李梦桐,王楠,玛依拉·吐尔地别克,等.羊肚菌栽培及富硒控制技术研究进展[J].江苏农业科学,2021,49(6):20-27.
- [9] 沈彤,杜军,李鸣雷,等.不同栽培基质对羊肚菌产量和营养成分的影响[J].水土保持通报,2021,41(3):187-192.
- [10] 宋崑,王翔,马玉敏,等.羊肚菌不同菌基对土壤理化性质和微生物多样性的影响[J].山西农业科学,2022,50(3):378-385.

- [11] Consentino B B, Ciriello M, Sabatino L, et al. Current acquaintance on agronomic biofortification to modulate the yield and functional value of vegetable crops: a review [J]. Horticulturae, 2023, 9(2): 219.
- [12] 许乃霞,翁飞,杨益花,等.硒、硅复配剂叶面喷施对毯苗机插水稻返青期根系生长及产量形成的影响[J].江苏农业科学,2022,50(24):86-93.
- [13] 张明辉,时曼丽.硒、硅对镉胁迫下小麦生长、生理特性及镉分布的影响[J].江苏农业科学,2022,50(17):66-73.
- [14] Yuan B H, Li H, Liu L, et al. Successful induction and recognition of conidiation, conidial germination and chlamydospore formation in pure culture of *Morchella* [J]. Fungal Biology, 2021, 125(4): 285-293.
- [15] Liu H M, Xu J J, Li X, et al. Effects of microelemental fertilizers on yields, mineral element levels and nutritional compositions of the artificially cultivated *Morchella conica* [J]. Scientia Horticulturae, 2015, 189: 86-93.
- [16] Liu Q, Hu S J, Song Z B, et al. Relationship between flavor and energy status in shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) harvested at different developmental stages [J]. Journal of Food Science, 2021, 86(10): 4288-4302.
- [17] 兰秀华,谢丽源,许瀛引,等.羊肚菌挥发性物质综合评价和品质差异分析[J].食品科学,2019,40(14):270-275.
- [18] 谢丽源,兰秀华,彭卫红,等.不同生态环境对羊肚菌非挥发性呈味物质的影响[J].食品工业科技,2020,41(17):237-242.
- [19] 张明辉,时曼丽.硒、硅对镉胁迫下小麦生长、生理特性及镉分布的影响[J].江苏农业科学,2022,50(17):66-73.
- [20] 郑旋,康超,杨玲,等.不同培养条件对六妹羊肚菌菌丝形态的影响[J].中国食用菌,2020,39(12):53-62.
- [21] Zhang B, Tan W, Zhou J E, et al. Physiological changes and gene responses during *Ganoderma lucidum* growth with selenium supplementation [J]. PeerJ, 2022, 10: e14488.
- [22] Xu M M, Zhu S, Li Y R, et al. Effect of selenium on mushroom growth and metabolism: a review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 118: 328-340.
- [23] 肉斯塔木·艾买提,李敏奇,闫兴富,等.不同外源营养袋对羊肚菌产量的影响[J].北方园艺,2022(15):126-131.
- [24] 刘芹,崔筱,宋志波,等.不同成熟度平菇新鲜子实体中风味物质的比较分析[J].中国瓜菜,2022,35(9):38-47.
- [25] 刘芹,胡素娟,崔筱,等.不同干燥温度对金针菇挥发性特征和口感特性的影响[J].食品科学,2023,44(7):104-113.
- [26] Xu Y Y, Tang J, Wang Y, et al. Large-scale commercial cultivation of morels: current state and perspectives [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2022, 106(12): 4401-4412.
- [27] Xie C Q, Fan J M, Cao Z, et al. Composition and bioactivity of nano-*Morchella vulgaris* under different conditions [J]. Journal of Biobased Materials and Bioenergy, 2018, 12(6): 560-565.
- [28] 李翔,钟方友,凌云坤,等. HS/SPME-GC/MS 法比较分析野生与人工栽培羊肚菌挥发性成分[J].食品工业科技,2018,39(17):225-228,234.
- [29] Tu X M, Tang L, Xie G B, et al. Chemical composition of aromas and lipophilic extracts from black morel (*Morchella importuna*) grown in China [J]. Mycobiology, 2021, 49(1): 78-85.