

# 姬松茸镉累积特性研究： Ⅱ 镉胁迫对菌丝及子实体生长发育的影响

黄建成，余应瑞，应正河，李开本

(福建省农科院植物保护研究所，福建 福州 350013)

**摘 要:**通过测定菌丝生长速度和子实体中镉含量,研究重金属 Cd 胁迫对姬松茸菌丝和子实体生长发育的影响。结果表明,菌丝生长速度随镉浓度的增加而明显受到抑制, $EC_{50}$  为  $20.237\ 5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。姬松茸子实体镉的富集随培养料中外源镉浓度的增加而明显递增,符合 MICHAELIS MENTEN 曲线回归模型;当培养料中镉添加量低于  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,子实体内镉的富集系数相同;当外源镉浓度超过  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,富集系数降低,培养料外源镉浓度至  $80\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,其富集系数降至 12;镉浓度超过  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,子实体数量显著减少;镉浓度在  $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  以上,菌丝体发育为畸形菇。因此初步认为,姬松茸子实体生长发育耐镉的临界值为  $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。不同浓度镉胁迫其菌盖镉的富集量均比菌柄高出 3 倍左右。

**关键词:**姬松茸; Cd 胁迫; 菌丝; 子实体; 生长发育

**中图分类号:**X172 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)01-0078-04

## Accumulation Characteristic of Cadmium in Agaricus Blazei Murrill Ⅱ. Effects of Cd Stress on Growth and Development of Mycelium and Fruit Body

HUANG Jian-cheng, YU Ying-rui, YING Zheng-he, LI Kai-ben

(Institute of Plant Protection, Fujian Academy of Agriculture Sciences, Fuzhou 350013, China)

**Abstract:** Through measuring the growth rate of mycelium and cadmium (Cd) content in fruit body, the effects of Cd stress on the mycelium and fruit body of Agaricus Blazei Murrill were studied. The results showed that the growth rate of mycelium was retarded significantly with the increase of Cd concentration in PDA with  $EC_{50}$   $20.237\ 5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . The accumulation of Cd in fruit body increased obviously with the increase of Cd in medium material, and the relationship between them coincided with MICHAELIS MENTEN curvilinear regression equation  $Y = 1\ 387.163\ 1X/(X+31.579\ 2)$  ( $F=438.338\ 0^{**}$ ,  $P=0.000\ 1$ ). The accumulation coefficient of Cd in fruit body was invariable when the content of Cd added in medium material was less than  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , while, which was decreased when Cd added was more than  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  and decreased to 12 when Cd added in medium material amounted to  $80\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Number of fruit body was significantly decreased as the content of Cd added in medium material was more than  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , and the mycelium developed and formed abnormal fruit body as Cd added was about  $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Thus, it was suggested that  $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  was the critical concentration of Cd for development of fruit body. The accumulation of Cd in cap was three times more than that in stipe under different contents of Cd stress.

**Keywords:** Agaricus Blazei Murrill; Cd stress; mycelium; fruit body; growth and development

姬松茸(agaricus blazei murrill)又名巴西蘑菇,富含蛋白质、氨基酸、微量元素及多糖和糖的复合体,具有很高的营养价值和药用价值<sup>[1]</sup>。李开本等<sup>[2]</sup>(1999)通过取样测定分析研究发现姬松茸具有很强的富集重金属镉的能力,黄建成等<sup>[3]</sup>(2006)通过分析研究发现

栽培原料、培养料、配方组成对姬松茸镉的富集起重要作用。镉一旦通过食物链在人体内富集,直接影响人体健康<sup>[4]</sup>。FAO/WHO 联合专家委员会将 Cd 列为仅次于黄曲霉毒素和 As 的优先研究的食品污染物<sup>[5]</sup>。为此解决姬松茸生产过程中镉污染问题是实现姬松茸可持续发展的关键技术措施。为实现这一目标,作者对福建省姬松茸主产区培养料、覆土土壤中镉污染状况进行调查取样分析,稻草、干牛粪、过磷酸钙中的镉

收稿日期:2007-01-05

基金项目:福建省重大招标项目(2003-N-011)

作者简介:黄建成(1964—),男,副研究员,研究方向为食(药)用菌育种与栽培。E-mail:huangjc12@sina.com

含量分别为 0.036~0.08、0.20~0.50、0.50~0.56  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 而以水稻土、菜园土作为覆土材料的表层土壤镉含量为 0.03~0.17  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。本研究拟通过开展镉胁迫对姬松茸菌丝和子实体生长发育的研究, 总结出姬松茸子实体镉的累积特性, 为姬松茸生产全面达到绿色标准提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 镉胁迫对菌丝生长试验

#### 1.1.1 供试菌株

姬松茸菌株 N-2, 为福建省农科院植物保护研究所保藏。

#### 1.1.2 接种块的制备

取试验菌种(母种), 挑取一小块于斜面 PDA 培养基上, 适温(25  $^{\circ}\text{C}$ )下培养, 待长满管时, 转接斜面培养基上, 进行培养至满管。挑取斜面前端培养基转接到相同的直径为 90 mm 的平板培养基上。(每个培养皿上加入 20 mL 的 PDA 培养基), 把培养皿放于适宜的温度(25  $^{\circ}\text{C}$ )下培养, 当菌落直径 4~6 cm 时, 在同一直径的圆圈上, 使用直径为 9 mm 打孔器打出相同的菌丝块。

#### 1.1.3 试验处理

设 6 个处理, 分别追加外源镉浓度为 0、5、10、20、40、80  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 4 次重复。按试验设计的要求在制作的 PDA 培养基中分别加入镉后制成平板培养基, 在同一时间内接入已准备好的直径大小相同、生长一致的菌丝块, 在 25  $^{\circ}\text{C}$  下恒温培养。当菌落直径 1~2 cm 时, 在菌落边缘画线作为生长起始线。在相同的适宜条件下继续培养, 当最快的快长满培养皿时, 再画一条终止线。用尺子测量起始线与终止线之间的距离, 计算菌丝生长速度, 统计抑制率[(CK 的菌落半径-处理的菌落半径)/CK 的菌落半径 $\times 100\%$ ], 用 DPS 数据处理系统软件<sup>[6]</sup>求出线性回归方程、 $\text{EC}_{50}$  及  $\text{EC}_{90}$ 。

### 1.2 镉胁迫对子实体发育试验

#### 1.2.1 供试菌株

姬松茸菌株 N-2, 为福建省农科院植物保护研究所保藏。

#### 1.2.2 培养料配方

配方为: 稻草 70%, 干牛粪 23%, 过钙 2.5%, 碳铵 2.5%, 石灰 1%, 石膏 1%。

#### 1.2.3 试验处理

以  $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$  分析纯(含量 99%)配制成 5 个不同梯度镉溶液: 5、10、20、40、80  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  喷施在培

养料上, 以不喷镉溶液的基础基质为对照 (CK), 每处理培养料 10 kg, 栽培面积 0.35  $\text{m}^2$ 。

#### 1.2.4 栽培方法

同文献[3]。

#### 1.2.5 试验取样

按适宜采收期采收, 计算子实体朵数, 在 60  $^{\circ}\text{C}$  下烘干。

#### 1.2.6 镉测定方法

同文献[3]。

#### 1.2.7 富集系数

计算方法同文献[8]。

#### 1.2.8 数据处理

曲线方程拟合采用 DPS 数据处理系统软件<sup>[6]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 镉胁迫对菌丝生长的影响

不同浓度的镉胁迫对菌丝生长速度的影响见图 1、图 2。结果表明, 随着镉浓度的增大, 菌丝日长速明显放慢。说明镉对菌丝的生长有明显的抑制和毒害作用。从图 2 还可看出, 接种后 15 d, 无镉培养基, 其菌丝已开始扭结成米粒状的菌丝体, 添加外源镉后, 菌丝生长明显受到抑制, 菌丝生长稀疏、纤细、变黄, 且未发现扭结, 培养基颜色变深, 这是镉对菌丝产生毒害作用的表征。以抑制率(Y)与 Cd 浓度(X)进行回归分析, 其回归方程  $Y=0.9692+1.5548X$  ( $r=0.98883^{**}$ ,  $P=0.00141$ ),  $\text{EC}_{50}$  为 20.2375  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $\text{EC}_{90}$  为 135.0253  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

### 2.2 镉胁迫对子实体镉的富集

以不同浓度的镉溶液处理培养料, 结果发现, 姬松茸子实体镉的富集随培养料中所追加的镉浓度的增加而快速递增。对于实体中的镉富集与培养料中镉含量的关系进行模拟, 结果表明, 子实体中的镉含量与培养料中镉含量符合 MICHAELIS MENTEN 模型, 曲线回归方程  $Y=b_iX/(a+X)$ 。曲线关系方程为  $Y=$

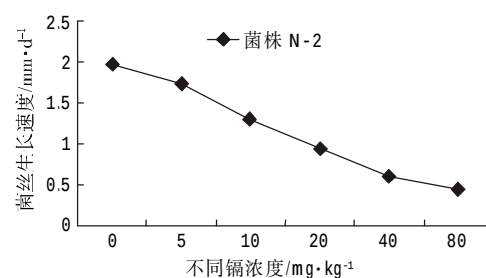


图 1 镉胁迫对菌丝生长速度的影响

Figure 1 Effects of Cd stress on growth rate of mycelium

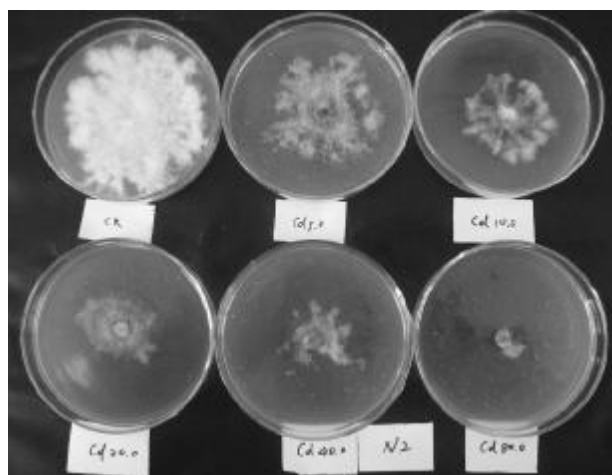


图 2 镉胁迫下姬松茸菌丝的生长  
Figure 2 Growth of mycelium under Cd stress

1 387.163 1 X/(X+31.579 2),  $F=438.338 0^{**}$  ( $P=0.000 1$ ) (图 3), 方程检验均达极显著水平, 说明培养料中镉含量对子实体中镉的富集起重要作用。从图 3、4 中还可看出, 培养料中外源镉追加量低于  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 子实体中镉的富集速度急剧上升, 当外源镉浓度超过  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 其富集趋缓, 富集系数由 35 倍降至 24 倍, 随外源镉浓度的不断提高至  $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 其富集系数则降至 12 倍(图 4)。表明姬松茸子实体对镉的积累有一定的限度, 高浓度对子实体镉的积累有明显抑制作用。外源镉胁迫对子实体镉的富集量在本试验中最高可达  $980 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 最高富集量是对照的 40 倍, 说明姬松茸有很强富集镉的能力。雷敬敷等亦发现, 当培养料严重污染时香菇对 Cd 的累积效应比较突出<sup>[7]</sup>。施巧琴等发现, 当在培养料中添加  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Cd 时, 香菇、金针菇、木耳等食(药)用菌子实体中 Cd 的含量是培养料中不添加 Cd 所得到的子实体中 Cd 的 200 多倍<sup>[8]</sup>。

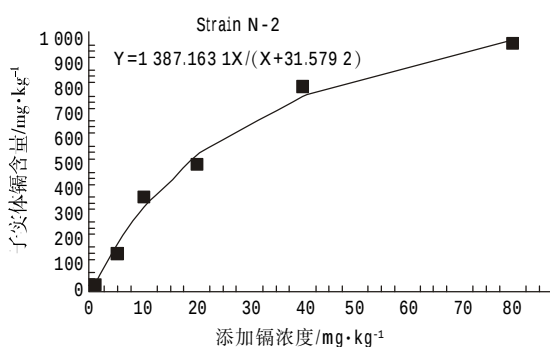


图 3 Cd 胁迫对菌株 N-2 子实体镉富集的影响  
Figure 3 Effect of Cd stress on Cd accumulations of fruit body in N-2 strains

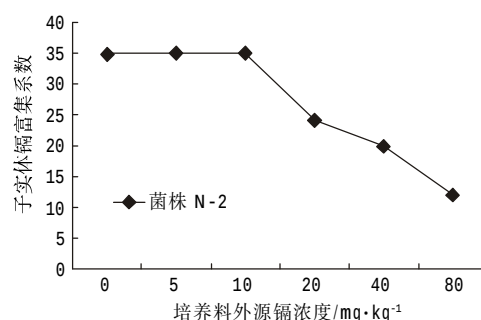


图 4 镉胁迫姬松茸子实体中镉的富集系数  
Figure 4 Effect of Cd stress on the accumulation coefficient of Cd in fruit body of agaricus blazei murrill

## 2.3 镉胁迫对子实体发育的影响

从图 5 可以看出, 镉溶液浓度超过  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 对姬松茸生长开始产生毒害, 子实体数量开始减少。当镉浓度超过  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 子实体生长发育严重受阻, 表现为子实体数量显著减少。而对姬松茸生长严重毒害的镉浓度大约在  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  以上, 菌丝体均生长发育为畸形菇。因此也可初步认为, 姬松茸子实体生长发育耐镉的临界值为  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

## 2.4 镉胁迫对子实体不同部位中镉的迁移和积累

姬松茸受镉的胁迫, 子实体随基质镉浓度增加而递增。镉伴随菌丝体运送营养物迁移至子实体组织细胞, 大量镉积累在生命旺盛的菌盖部位。因此, 菌盖含量高于菌柄, 其菌盖富集量均比菌柄高出 3 倍左右(图 6)。Seeger 的研究还发现, Cd 在菌褶中含量是菌盖中含量的 5 倍以上<sup>[5]</sup>。Melgar M J 通过对西班牙的一些食(药)用菌中镉含量的分析发现, 大孢蘑菇含有较高的镉水平, 其中子实层为其他部位的近两倍<sup>[9]</sup>。此外, Cd 在被检测的其他食药菌子实层中平均含量也为其他部位的 Cd 平均含量的 2~3 倍。据 Fa-landyszj 等观察, 四孢蘑菇菌盖中 Ag 的富集同样高于菌柄。食药菌子实层中 Cd 含量高于其他部位, 可能是因为子实体中功能部位含有较多的 Cd 结合蛋

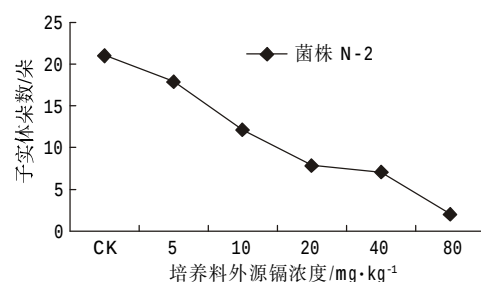


图 5 外源镉胁迫对子实体发育的影响  
Figure 5 Effect of added Cd on development of fruit body

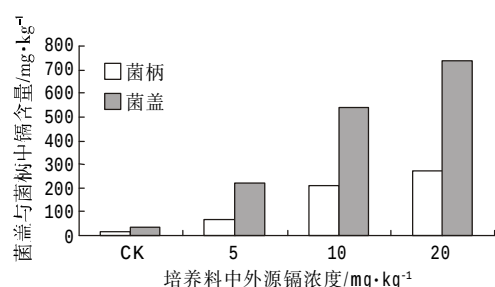


图 6 镉胁迫下子实体菌盖与菌柄中镉富集量

Figure 6 The contents of Cd in cap and stipe of fruit body under Cd stress

白的缘故,另外,高含量的 Cd 仅在蘑菇属样品中存在,说明具有品种特异性<sup>[10]</sup>。由此,通过选择低污染培养料和覆土材料来降低子实体内镉的富集量,选择粗柄型菌株应用于生产栽培来降低子实体镉含量是实现姬松茸低镉栽培的重要措施。

### 3 结论

镉胁迫下姬松茸菌丝生长受到明显抑制,菌丝生长稀疏、纤细、变黄,EC<sub>50</sub> 为 20.237 5 mg·kg<sup>-1</sup>,菌丝发育受阻,子实体镉的富集随培养料中所追加的镉浓度的增加而快速递增,不同菌株在培养料中镉添加量低于 10 mg·kg<sup>-1</sup>,子实体内镉的富集速度急剧上升,当外源镉浓度达 20 mg·kg<sup>-1</sup>,其富集趋缓,镉浓度提高至 80 mg·kg<sup>-1</sup>,其富集系数由 35 降至 12。镉浓度超过 10 mg·kg<sup>-1</sup>,子实体数量显著减少。镉浓度大约在 40 mg·kg<sup>-1</sup> 以上,菌丝体生长发育为畸形菇。因此也可初步认为,姬松茸子实体生长发育耐镉的临界值为 40 mg·kg<sup>-1</sup>。不同浓度镉胁迫其菌盖镉的富集量均比菌

柄高出 3 倍左右。研究发现不同菌株间菌盖与菌柄之比是不同的,如细柄菌株的菌盖与菌柄比为 55:45,而粗柄型菌的菌盖与菌柄比为 50:50。因此,在生产栽培过程中应加强对培养料中镉污染的监测,选择低污染的栽培原料组成生产配方是降低姬松茸子实体镉富集量的关键技术措施,而选择粗柄型菌株应用于生产栽培是实现低镉栽培又一重要措施。

### 参考文献:

- [1] 郭倩,周昌艳,宋春艳.姬松茸研究进展[J].食用菌学报,2004,11(2): 59-64.
- [2] 李开本,陈体强,徐洁,等.巴西蘑菇富镉特性研究初报[J].食用菌学报,1999,6(1):55-57.
- [3] 黄建成,李开本,何锦星,等.姬松茸镉累积特性研究 I.培养料镉污染对子实体的效应[J].福建农业学报,2006,21(3):257-260.
- [4] 徐承水.环境中有害微量元素对人体健康的影响[J].广东微量元素科学,1999,6(10):1-3.
- [5] 邢增涛,王晨光,潘迎捷,等.食用菌中重金属的研究进展[J].食用菌学报,2000,7(2):58-64.
- [6] 唐启义,冯明光.实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M].北京:科学出版社,2002.5.
- [7] 雷敬敷,杨德芬.食用菌的重金属含量及对重金属的富集作用研究[J].中国食用菌,1990,9(6):14-17.
- [8] 施巧琴,林琳,陈哲超,等.重金属在食用菌中的富集及其对生长代谢的影响环境[J].真菌学报,1991,10(4):301-310.
- [9] Melgar M J, Alonso J, Pere-lopez M, et al. Influence of some factors in toxicity and accumulation of Cadmium from edible wild macro-fungi in north west Spain[J]. J Environ Sci Health,1998,33(4):439-455.
- [10] Falandyse J, Darusiewicz D. Bioconcentration factors(BCF) of silver in wild *Agaricus campestris*.bull[J]. Environ Contant Toxicol, 1995, 55: 122-129.