

外源硒对巴西蘑菇子实体数量和形态特征的影响

翁伯琦^{1a*}, 江枝和^{1b}, 雷锦桂^{1b}, 肖淑霞², 王义祥^{1a}, 唐翔虬^{1b}

(1. 福建省农业科学院, a. 农业生态研究所; b. 食用菌开发应用研究中心, 福州 350013; 2. 福建省食用菌技术推广总站, 福州 350003)

摘要: 用扫描电子显微镜观察 Se 处理的巴西蘑菇的形态特征。结果表明, 添加 30 mg kg⁻¹ 外源 Se 的巴西蘑菇孢子的长、宽和数量分别比对照增加 20.92%、5.41% 和 114.13%, 差异极显著 ($P < 0.01$); 10 和 20 mg kg⁻¹ Se 处理的囊状体最大直径、最小直径和数量分别比对照增加 34.78%、7.73%、13.40%、15.26% 和 27.78%、33.33% ($P < 0.01$), 菌丝宽平均比对照增加 45.90% 和 50.82% ($P < 0.01$)。扫描电镜观察到 Se 处理的孢子、囊状体、菌丝表面纹饰结构发生不同程度改变。

关键词: 巴西蘑菇; 硒; 孢子; 囊状体; 菌丝

中图分类号: S646.116.01

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2009)06-0583-06

Effects of Exogenous Selenium on Topography and Quantitative Characters of *Agaricus brasiliensis* S. Wasser Fruit Bodies

WENG Bo-qi^{1a*}, JIANG Zhi-he^{1b}, LEI Jin-gui^{1b}, XIAO Shu-xia²,
WANG Yi-xiang^{1a}, TANG Xiang-qiu^{1b}

(1a. Agricultural Ecology Institute; 1b. The Research Center of Edible Fungi Development and Application, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China; 2. Fujian General Station of Technology Popularization for Edible Fungus, Fuzhou 350003, China)

Abstract: The effects of exogenous Se on the topography and quantitative characters of *Agaricus brasiliensis* S. Wasser fruit bodies were studied under scanning electronic microscope (SEM). When exogenous Se was 30 mg kg⁻¹ the length, width and number of spores of *Agaricus brasiliensis* S. Wasser increased by 20.92%, 5.41% and 114.13%, respectively, and had significant difference ($P < 0.01$) to the control. When treated with 10 and 20 mg kg⁻¹ Se, the maximum and minimum diameters and number of the cystidium increased by 34.78% and 7.73%, 13.40% and 15.26%, 27.78% and 33.33% ($P < 0.01$), respectively, and the minimum width of the mycelium increased by 45.90% and 50.82% ($P < 0.01$), respectively. The morphological structures of the spore, cystidium and mycelium varied under SEM.

Key words: *Agaricus brasiliensis* S. Wasser; Se; Spore; Cystidium; Mycelium

巴西蘑菇(*Agaricus brasiliensis* S. Wasser)是一种名贵的食药兼用真菌, 营养丰富, 子实体含多糖 6.85%, 蛋白质 28.70%, 粗脂肪 2.88%。每 100 g 蛋白质含 19.22 mg 氨基酸, 其中人体必需氨基酸 9.1 mg, 占氨基酸总量的 47.33%^[1]。食用味道鲜美, 具有食疗保健功能, 它含有多种活性多糖、核酸

及各类氨基酸、脂肪酸、矿物质和微量元素等物质, 具有抗癌、抗病毒、补肾护肝以及提高机体免疫力等功效^[2-10]。另外, 利用微量元素在食用菌内生物转化, 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

收稿日期: 2009-01-17 接受日期: 2009-05-19

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2007BAD89B13); 福建省科技厅项目(2008N0026); 福建省农业科学院科技创新团队建设基金项目(STIF-Y01)资助

* 通讯作者 Corresponding author

径。本研究用扫描电镜观察不同浓度 Se 处理的栽培巴西蘑菇子实体菌盖皮和菌褶表面结构,探讨 Se 处理对巴西蘑菇子实体的数量特征和结构的变化,为巴西蘑菇的硒生物转化和营养学机理研究提供科学参考。

1 材料和方法

1.1 供试材料

巴西蘑菇(*Agaricus brasiliensis* S. Wasser) J1 由福建省农业科学院食用菌开发应用研究中心提供。试验采用的培养料配方为:稻草 35.7%、棉子壳 35.7%、麦皮 13.29%、牛粪 14.29%、 KH_2PO_4 0.02%、 CaCO_3 1%、pH 调至 8。

1.2 试验方法

试验用亚硒酸钠购于国药集团化学试剂有限公司。将亚硒酸钠制成 0、10、20、30、40 和 50 mg kg^{-1} 6 个浓度,将不同浓度的亚硒酸钠水溶液按照 1:1.8 的料水比分别与培养料拌匀后装入塑料袋,每处理 3 个重复,每重复 18 袋,每袋料

150 g,高压灭菌。巴西蘑菇的接种、栽培管理和测试样品的采收方法参照江枝和等^[1]的方法。

1.3 测定方法

电镜样品制备和电镜观察,孢子、囊状体、菌丝数量特征的测定与统计分析方法参照江枝和等^[1]的方法。

2 结果和分析

2.1 对巴西蘑菇孢子大小和数量的影响

由表 1 可知,用 10、20、30、40 和 50 mg kg^{-1} Se 处理的巴西蘑菇孢子长分别比对照提高 6.08%、9.25%、20.92%、10.22% 和 7.30%,孢子数量分别增加 14.13%、78.37%、114.13%、206.85% 和 71.31%,且与对照的差异均达显著水平($P < 0.05$)。随着 Se 浓度的增加,巴西蘑菇孢子的数量和长度均呈现先增后减的趋势,以 40 mg kg^{-1} Se 处理的最大。孢子宽度的变化趋势相似,但 50 mg kg^{-1} Se 处理的比对照减少 5.11%,与对照的差异达到极显著($P < 0.01$)。

表 1 添加外源硒对巴西蘑菇孢子长、宽和个数的影响

Table 1 Effect of exogenous Se on the length, width and number of *Agaricus brasiliensis* spores

Se (mg kg^{-1})	孢子数 Number of spores	孢子长度 Spore length (μm)	孢子宽度 Spore width (μm)
0	4.67 ± 0.58D	4.12 ± 0.00dC	3.7 ± 0.06cB
10	5.33 ± 0.58D	4.36 ± 0.06cB	3.76 ± 0.06bcAB
20	8.33 ± 0.58BC	4.46 ± 0.08cB	3.85 ± 0.13 abAB
30	10.00 ± 1.00bB	4.97 ± 0.06aA	3.90 ± 0.03aA
40	14.33 ± 0.58A	4.53 ± 0.16bB	3.74 ± 0.03bcAB
50	8.00 ± 1.00cC	4.42 ± 0.00bcB	3.52 ± 0.07dC

同列数据后不同大小写字母分别表示 0.01 和 0.05 水平的差异显著,下同。Data followed different capital and small letters within column present significant difference at 0.01 and 0.05 level, respectively. The same as following Tables.

2.2 对囊状体大小及数量的影响

由表 2 可知,随着 Se 浓度的增加,巴西蘑菇囊状体最小直径和个数均呈现先增加后减的趋势,均以 20 mg kg^{-1} Se 处理时最大,分别比对照增加 15.26% 和 33.33%,当 Se 浓度 $\geq 30 \text{ mg kg}^{-1}$ 时,囊状体最小直径和数量减少,且均低于对照。由表 2 还可看出,囊状体最大直径以 10 mg kg^{-1} Se 处理的,比对照增加 34.78%,差异达极显著水平;随着 Se 浓度的增加,囊状体最大直径逐渐减小,当 Se 浓度 $\geq 30 \text{ mg kg}^{-1}$ 时,囊状体最大直径分别比对照减少 3.38%、3.38% 和 5.31%,其中 50 mg kg^{-1} Se 处理与对照的差异达显著水平。

2.3 对菌丝大小的影响

由表 3 可知,巴西蘑菇子实体菌皮菌丝最大和最小宽度随 Se 浓度的增加呈现先增后减的趋势,但两者拐点时的 Se 浓度不同。菌丝最大宽度以 30 mg kg^{-1} Se 处理的,与对照的差异达极显著水平;而菌丝最小宽度以 20 mg kg^{-1} Se 处理最大,比对照增加 50.82%。

2.4 对菌皮、菌褶表面结构的影响

电镜观察显示(图版 I: 1~6),未经 Se 处理的孢子表面光滑、清晰、形态未发生改变,担孢子与担子未分离。当 Se 处理浓度 $\leq 20 \text{ mg kg}^{-1}$ 时,部分孢子本体向内凹陷,大小不均,形态各异,有的近球形,

有的呈短椭圆形;部分担孢子与担子未分离。当用 40 mg kg⁻¹ Se 处理时,孢子表面被粘膜包裹,粘膜上有破洞,难以分辨孢子形态特征;50 mg kg⁻¹ Se 处理

的孢子表面所包裹的粘膜破碎、模糊、部分向内凹陷,形态不一。

表 2 添加外源硒对巴西蘑菇囊状体直径和数量的影响

Table 2 Effect of exogenous Se on diameter and number of *Agaricus brasiliensis* cystidia

Se (mg kg ⁻¹)	囊状体数 Number of cystidia	最大直径 Max. diameter (μm)	最小直径 Min. diameter (μm)
0	17.33 ± 0.58bB	4.14 ± 0.07cC	3.21 ± 0.06bB
10	23.00 ± 1.00aA	5.58 ± 0.006aA	3.70 ± 0.06aA
20	24.00 ± 1.00aA	4.46 ± 0.16bB	3.64 ± 0.06aA
30	18.00 ± 1.00bB	4.00 ± 0.06cdC	3.01 ± 0.030cC
40	14.33 ± 0.58cC	4.00 ± 0.06cdC	2.99 ± 0.09cC
50	11.67 ± 0.58dD	3.92 ± 0.14dC	2.69 ± 0.07dD

表 3 添加外源硒对巴西蘑菇菌丝宽度的影响

Table 3 Effect of exogenous Se on width of *Agaricus brasiliensis* mycelium

Se (mg kg ⁻¹)	最大宽度 Max. width (μm)	最小宽度 Min. width (μm)
0	1.30 ± 0.04aA	0.62 ± 0.02bB
10	1.31 ± 0.02aA	0.89 ± 0.02aA
20	1.33 ± 0.05aA	0.92 ± 0.07aA
30	1.36 ± 0.04aA	0.51 ± 0.06cC
40	1.03 ± 0.02bB	0.50 ± 0.02cC
50	0.69 ± 0.05cC	0.41 ± 0.02dC

从图版 I: 7~12 可以看出,未经 Se 处理时,囊状体表面纹饰明显、清晰,形态未发生改变。用 10 mg kg⁻¹ Se 处理的囊状体中间表面纹饰较小、模糊,间隙之间粘连有粘膜。20 mg kg⁻¹ Se 处理的囊状体纹饰表面,尤其中间部分模糊;30 mg kg⁻¹ Se 处理的囊状体部分表面纹饰模糊。40 mg kg⁻¹ Se 处理的囊状体表面部分纹饰加深,出现沟壑,部分表面层层堆砌有“黄花菜”般细小单核体。50 mg kg⁻¹ Se 处理的囊状体表面似密布蜘蛛网,大小单核体堆砌粘连,纹饰较模糊。

从图版 I: 13~18 可以看出,未经 Se 处理时,菌丝上皱褶纵横,呈长扁形,大小不一致。10 mg kg⁻¹ Se 处理的菌丝粗壮,呈树枝状,有的表面光滑,有的表面形成深浅不均的纹饰。20 mg kg⁻¹ Se 处理的菌丝皱褶纵横,菌丝瘦弱,形态各异,扭结变形,大小不一致。30 mg kg⁻¹ Se 处理的菌丝大部分粗壮,部分褶皱、扁平,表面带有细小单核体。40 mg kg⁻¹ Se 处理的菌丝粗壮,部分表面有破洞,带有细小单核体,纹饰不明显。50 mg kg⁻¹ Se 处理的菌丝形态发生明显改变,菌丝瘦弱,纹饰粗大,大小

不规则。

3 讨论

硒是一种重要的生命元素,1957 年就被证明为动物所必需^[12]。随着对 Se 营养作用研究的不断深入,硒对植物的作用受到越来越多的关注。国内外有关硒对植物生理功能的研究,主要涉及硒对植物生长、发育、代谢、品质及逆境抗性等方面;但硒的作用机制仍然不清楚,硒是否为植物营养所必需仍有待于深入研究。近年来在农牧业中的应用已得到广泛重视,作物施硒可提高食物链硒水平,改善品质,增强抗逆性和提高产量,尤其在缺硒、低硒地区,通过植物积累硒作为一个“硒释放系统”供给人和动物或归还土壤。食用菌通过有效富硒能力将其结合到大分子活性物质上,转化为有机硒多糖和硒蛋白,可提高硒的有效性降低其毒性^[13]。目前,硒对食用菌生长及品质的影响已有一些报道。何丽灿等^[14]研究了硒对平菇 (*Pleurotus ostreatus*) 菌丝体 CAT、POD 及 PPO 活性的影响,结果表明 30、60 mg L⁻¹ 的硒明显提高菌丝体内 CAT、PPO 活性,超过 90 mg L⁻¹ 时, CAT、PPO 活性下降;低于 30 mg L⁻¹ 时 POD 活性较强,超过 60 mg L⁻¹,

POD 活性明显受到抑制。王尚荣^[15]研究了不同浓度 Na_2SeO_3 对白灵菇(*Pleurotus nebrodensis*)菌丝体、子实体发育和产量的影响。何冬兰等^[16]研究表明适宜的 Se 可促进灵芝(*Ganoderma lucidum*)菌丝生长和胞外蛋白酶、纤维素酶、淀粉酶的活性,而高浓度 $\text{Se}(\geq 1.5 \text{ mmol/L})$ 对蛋白酶活性有抑制作用。何焕清等^[17]对赤灵芝(*Ganoderma lucidum*)和紫灵芝(*Ganoderma japonicum*)的富硒情况进行了研究。本研究应用统计学方法对不同 Se 处理下巴西蘑菇的孢子、囊状体和菌丝的数量特征进行了分析,结果表明:添加适量的硒可提高巴西蘑菇孢子、囊状体和菌丝的大小和数量,过量硒对巴西蘑菇产生一定毒害作用。 30 mg kg^{-1} Se 处理的孢子长度平均比对照增加 20.92%,宽度增加 5.41%,孢子数量增加 114.13%,与对照的差异达显著水平;10 和 20 mg kg^{-1} Se 处理的巴西蘑菇囊状体最大直径平均分别比对照增加 34.78% 和 7.73%,数量增加 27.78% 和 33.33%,菌丝最小宽度增加 45.90% 和 50.82%,与对照的差异均达极显著水平。当 Se 浓度 $> 30 \text{ mg kg}^{-1}$ 时,巴西蘑菇囊状体和菌丝的大小显著减小。

关于硒与植物(食用菌)器官形态和内部结构的关系报道较少。有研究表明,逆境条件下硒处理能有效地清除植物细胞中累积的自由基,使叶绿体膜免受脂质过氧化损伤,光合功能保持较强,从而使机体的正常生长和代谢保持正常^[18]。江枝和等的研究表明,高浓度的硒镧配施导致巴西蘑菇孢子形态发生严重改变,甚至全部萎缩,囊状体表面纹饰模糊^[11]。本研究结果表明,添加外源硒对巴西蘑菇孢子、囊状体以及菌丝的形态特征有一定的影响。当 Se 浓度 $\leq 30 \text{ mg kg}^{-1}$ 时,部分担孢子与担子仍未分离;囊状体部分表面纹饰出现较大模糊;菌丝皱褶纵横,甚至扭结变形。Se 浓度 $\geq 40 \text{ mg kg}^{-1}$ 时,粘膜上有破洞甚至破碎,难以分辨孢子形态特征;囊状体部分表面层层堆砌有“黄花菜”般细小单核体,菌丝表面部分有破洞,纹饰不明显。但 Se 处理对巴西蘑菇囊状体、菌盖皮菌丝和孢子影响的作用机理的还有待进一步的研究。

参考文献

[1] 林炎金, 江枝和, 陈大新. 姬松茸的营养成分研究初探 [J]. 食用菌, 1997, 16(5): 11-11.
[2] Takaku T, Kimura Y, Okuda H. Isolation of an antitumor compound from *Agaricus blazei* Murill and its mechanism of action [J]. J Nutr,

2001, 131(5): 1409-1413.
[3] Mizuno M, Minato K, Ito H, et al. Anti-tumor polysaccharide from the mycelium of liquid-cultured *Agaricus blazei* Mill. [J]. Biochem Mol Biol Int, 1999, 47(4): 707-714.
[4] Menoli R C, Mantovani M S, Ribeiro L R, et al. Antimutagenic effects of the mushroom *Agaricus blazei* Murrill extracts on V 79 cells [J]. Mutat Res, 2001, 496(1/2): 5-13.
[5] Sorimachi K, Ikehara Y, Maezato G, et al. Inhibition by *Agaricus blazei* Murill fractions of cytopathic effect induced by western equine encephalitis (WEE) virus on VERO cells *in vitro* [J]. Biosci Biotechn Biochem, 2001, 65(7): 1645-1647.
[6] Sorimachi K, Akimoto K, Ikehara Y, et al. Secretion of TNF-alpha, IL-8 and nitric oxide by macrophages activated with *Agaricus blazei* Murill fractions *in vitro* [J]. Cell Struct Funct, 2001, 26(2): 103-108.
[7] Ohno N, Furukawa M, Miura N N, et al. Antitumor beta glucan from the cultured fruit body of *Agaricus blazei* [J]. Biopharm Bull, 2001, 24(7): 820-828.
[8] Miyashita T, Reed J C. Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene [J]. Cell, 1995, 80(2): 293-299.
[9] Jiang Z H(江枝和), Weng B Q(翁伯琦), Wang Y X(王义祥), et al. Effect of irradiation with ^{60}Co radiation on mycelial ultrastructure of *Agaricus blazei* Murill [J]. J Chin Elect Microscop Soc(电子显微学报), 2006, 25(5): 435-440.(in Chinese)
[10] Jiang Z H(江枝和), Weng B Q(翁伯琦), Huang J M(黄俊民), et al. Effects of ^{60}Co ray irradiation on the contents of Er, Dy, Tb, P, K and trace elements in fruitbodies of *Agaricus blazei* Murill [J]. J Chin Elect Microscop Soc(电子显微学报), 2005, 24(3): 221-225.(in Chinese)
[11] Jiang Z H(江枝和), Weng B Q(翁伯琦), Wang Y X(王义祥), et al. Multiple effects of Se and La on morphological and quantitative characters of *Agaricus brasiliensis* fruit bodies [J]. Mycosystema(菌物学报), 2008, 27(5): 679-687.(in Chinese)
[12] Schwarz K, Foltz C M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration [J]. J Amer Chem Soc, 1957, 79: 3292-3293.
[13] Hu G Y(胡国元). Study on the submerged culture of Se-accumulating *Flammulina velutipes* [J]. J Hubei Inst Nation(湖北民族学院学报), 2000, 18(2): 31-34.(in Chinese)
[14] He L C(何丽灿), Ou B Z(区炳庄), Liang H D(梁火焯). Effect of Selenium on the activity of Catalase, Peroxidase and Polyphenol oxidase in mycelium of *Pleurotus ostreatus* [J]. J Foshan Univ (Nat Sci)(佛山科学技术学院学报: 自然科学版), 2003, 21(3): 73-75.(in Chinese)
[15] Wang S R(王尚荣). Research on the Se accumulation cultivation technology of *Pleurotus nebrodensis* [J]. Acta Edulis Fungi(食用菌学报), 2003, 10(4): 43-46.(in Chinese)
[16] He D L(何冬兰), Huang D R(黄大容), Liu S T(刘士鏞). The effects of selenium on the mycelium growth and extracellular enzyme activity of *Ganoderma lucidum* [J]. Edible Fungi China(中国食用菌), 2004, 24(2): 42-43.(in Chinese)

- [17] 何焕清, 赖穗春, 何裕志, 等. 赤灵芝、紫灵芝富硒栽培比较测验初报 [J]. 广东农业科学, 2006(1): 53-54.
- [18] Yu N(于颖), Liu Y Y(刘元英), Luo S G(罗盛国), et al. Effects of selenium on soybean chloroplast ultra-structure and microelement content of soybean leaves under continuous cropping stress [J]. Chin J Appl Ecol(应用生态学报), 2003, 14(4): 573-576. (in Chinese)

图版说明

SP: 孢子 Spore; CY: 囊状体 Cystidia; MY: 菌丝 Mycelium.
标尺 = 1 μm

图版 I

1~6. 分别为 0、10、20、30、40 和 50 mg kg^{-1} 硒处理的巴西蘑菇孢子形态;

7~12. 分别为 0、10、20、30、40 和 50 mg kg^{-1} 硒处理的巴西蘑菇囊状体形态;

13~18. 分别为 0、10、20、30、40 和 50 mg kg^{-1} 硒处理的巴西蘑菇菌丝形态.

Explanation of plate

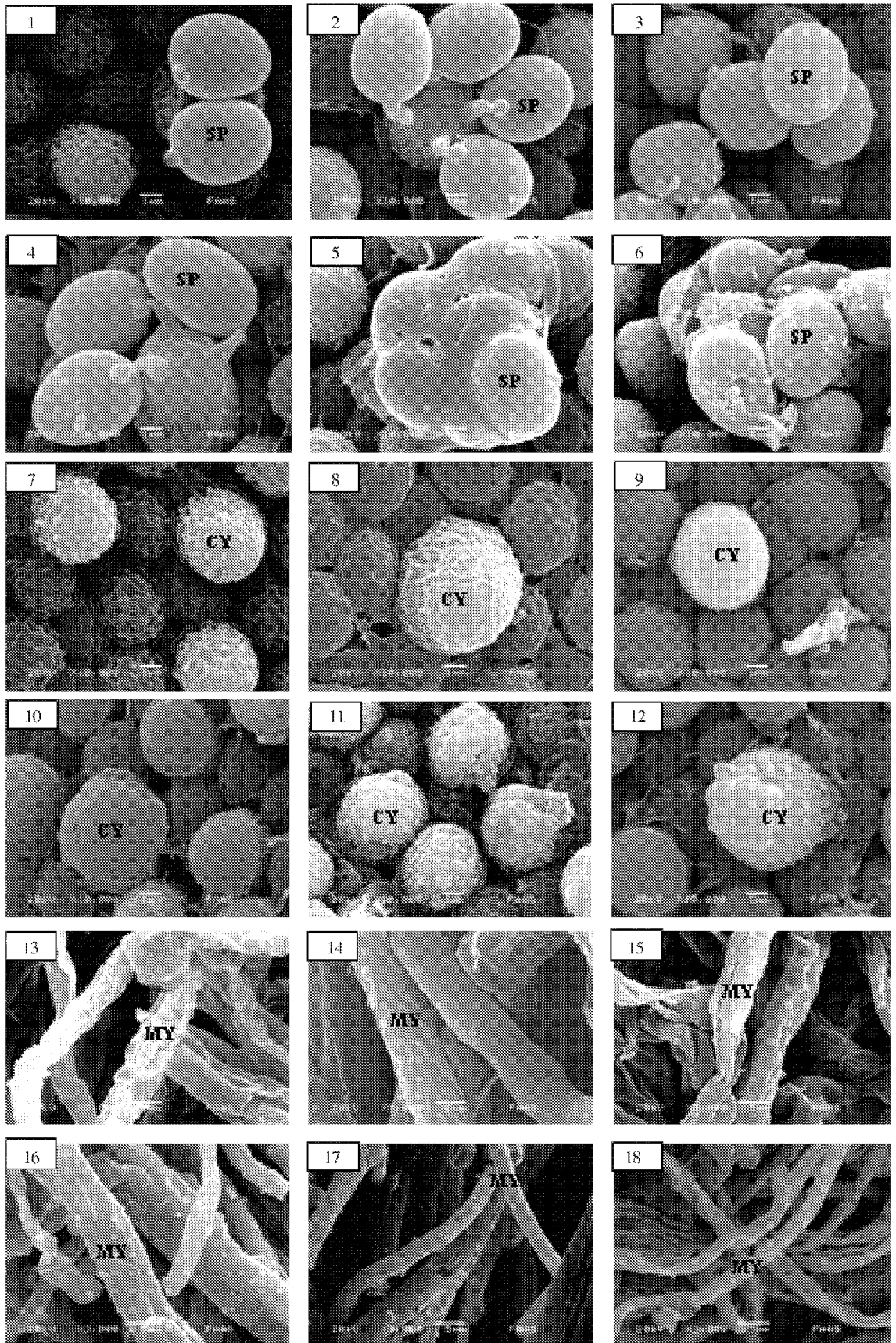
Plate I

1~6. Spore morphological structure treated with 0, 10, 20, 30, 40 and 50 mg kg^{-1} Se, respectively;

7~12. Cystidia morphological structure treated with 0, 10, 20, 30, 40 and 50 mg kg^{-1} Se, respectively;

13~18. Mycelium morphological structure treated with 0, 10, 20, 30, 40 and 50 mg kg^{-1} Se, respectively.

Bars = 1 μm



翁伯琦等: 图版 I

WENG Bo-qi, et al.: Plate I