

铅对大球盖菇抗氧化系统的影响

陈 莉

(运城学院 生命科学系, 山西 运城 044000)

摘 要: 通过液体培养基培养研究了不同浓度铅(Pb)(0、50、150、200、300 $\mu\text{mol/L}$)对大球盖菇抗氧化系统的影响。结果表明:随着Pb浓度的增加,脯氨酸、可溶性总糖含量先略微升高后逐渐下降;在试验浓度范围内,大球盖菇菌体过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性呈现先上升后下降的变化趋势,并都在Pb浓度为150 $\mu\text{mol/L}$ 达到峰值;而200~300 $\mu\text{mol/L}$ 的Pb则显著抑制POD和CAT酶活性的表达。

关键词: 大球盖菇; 铅; 抗氧化系统

中图分类号: S 646.1⁺9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)22-0166-03

大球盖菇(*Stropharia rugoso-annulata*)是联合国粮农组织向发展中国家推荐的人工种植的食用菌之一,也是国际菇类贸易市场十大品种之一。其口感柔和清香、脆嫩可口,营养价值很高,且其碳水化合物中的微量元素硒和锌有较强的富集和转化作用,食用其可增强人们对这2种微量元素的吸收^[1-3]。

随着人类社会的不断发展,环境污染问题日益严重,无论是“污染生态学”,还是“环境保护生态学”都把重金属做为优先污染物进行研究^[3],其中铅(Pb)、铬(Cr)、镉(Cd)又是污染较为严重的3种重金属,它们主要造成土壤污染和水体污染^[4]。前人做了不少关于铅、铬、镉

等对植物形态、生理生化效应及植物对其污染耐性机制等方面研究工作,主要以农作物和蔬菜为研究对象,而关于其对食用真菌影响的报道较少,该试验研究了不同浓度铅对大球盖菇抗氧化系统的影响。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试菌种引自河南省青丰县食用菌技术推广中心所用化学试剂均为分析纯。

PDA培养基(20%土豆浸汁1 000 mL,蔗糖20 g,蛋白胨2 g,磷酸二氢钾2 g,硫酸镁1.5 g,pH自然)分装于300 mL锥形瓶,每瓶50 mL,高压灭菌。分别向PDA液体培养基中加入100 mmol/L乙酸铅母液,使培养基中Pb浓度分别为0、50、150、200、300 $\mu\text{mol/L}$,将菌种接种后25~28℃恒温摇床培养7 d,振荡频率为120 r/min。

作者简介:陈莉(1980-),女,山西运城人,硕士,讲师,研究方向为生物技术。

收稿日期:2010-08-15

Study on Optimization of Extraction of Polysaccharide from the Root of *Agaricus bisporus* Stipe Using Response Surface Method

WANG Hong-lei, WANG Hong-yan, DING Qiang, ZOU Ji-hua

(Yantai Academy of China Agricultural University, Yantai Shandong 264670)

Abstract: By water to material ratio, extraction temperature and extraction time as independent variables, the extraction rate of polysaccharide as response value, based on the single factor, according to Box-Behnken experimental design using response surface method on the ultrasonic extraction process of *Agaricus bisporus* Stipe of the polysaccharide were studied. The results showed that the optimum conditions was the extraction temperature of 30.53℃, extraction time of 30.58 min, the ratio of water to material of 44.94:1, then the maximum extraction rate of the polysaccharides was 20.15%. After 3 times the parallel validation experiments showed that the model was reasonable and reliable, can nicely forecasts ultrasonic extraction of polysaccharides yield of *Agaricus bisporus* Stipe.

Key words: response surface method; *Agaricus bisporus*; polysaccharide

1.2 试验方法

可溶性总糖的测定采用蒽酮比色法^[5]；过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[5-9]；过氧化氢酶(CAT)活性测定采用紫外分光光度法^[7-8]；脯氨酸(Pro)含量测定采用茚三酮显色法^[9-10]。

2 结果与分析

2.1 可溶性总糖含量

不同浓度 Pb 对菌丝胞内可溶性总糖含量(mg · g⁻¹FW)的试验中得知,随着 Pb 浓度的增加菌丝体胞内可溶性总糖的含量呈先升高后降低趋势,50 μmol/L 的 Pb 处理时略上升,其后随浓度上升总糖含量逐渐降低,在 300 μmol/L 处降至最低值。可溶性总糖含量差异显著性检验结果 *F* 值显示,不同 Pb 浓度存在极显著差异(表 1、2),故认为不同 Pb 浓度对大球盖菇胞内可溶性总糖含量有一定影响。

表 1 不同 Pb 浓度下可溶性总糖含量方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	方差
浓度间	5.986	4	1.496	403.71 **
误差	0.037	10	0.004	
总变异	6.023	14		

表 2 不同 Pb 浓度对可溶性总糖含量影响

浓度/μmol · L ⁻¹	均值	α=0.05	α= 0.01
50	2.043	a	A
CK	1.983	a	A
150	1.253	b	B
200	0.880	c	C
300	0.407	d	D

由表 2 可知,除 50 μmol/L Pb 处理的可溶性总糖含量相对于对照组略有上升外,其它处理组可溶性总糖含量均随 Pb 浓度上升而减少。50 μmol/L Pb 的可溶性总糖含量虽略增大但与对照组无明显差异;300 μmol/L Pb 的可溶性总糖含量与其它组均存在极显著差异,为试验浓度处理组中可溶性单糖含量最低值,仅为对照组的 20.5%。

2.2 脯氨酸(Pro)含量

脯氨酸是植物在逆境胁迫下体内积累的重要渗透调节物质之一,主要以游离状态广泛存在于植物中,具有易于水合的趋势或具有较强的水合能力^[11]。脯氨酸积累是植物体抵抗渗透胁迫的有效方式之一,对维持植物体内水分平衡有积极作用,可作为植物抗逆性的一项生理生化指标^[12]。

不同浓度 Pb 对菌丝胞内脯氨酸含量(μg · g⁻¹FW)的影响中得知,随培养基中 Pb 浓度的增加菌丝体胞内脯氨酸的含量逐渐降低,在 300 μmol/L 处降至最低值。脯氨酸含量差异显著性检验结果显示,不同 Pb 浓度存在极显著差异(表 3、4),故认为不同 Pb 浓度对菌丝胞内脯氨酸含量有一定影响。

由表 4 可知,除 50 μmol/L Pb 处理的脯氨酸含量相对于对照组略有上升,其它处理脯氨酸含量均随 Pb 浓

度上升而减少。300 μmol/L Pb 处理的脯氨酸含量为对照组的 43.03%。50 μmol/L Pb 处理组脯氨酸含量虽略增大但与对照组无明显差异,与其它组存在显著差异。

表 3 不同 Pb 浓度下脯氨酸含量方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	方差
浓度间	29.472	4	7.368	11.703 **
误差	6.296	10	0.629	
总变异	35.768	14		

表 4 不同 Pb 浓度对脯氨酸含量影响

浓度/μmol · L ⁻¹	均值	α= 0.05	α= 0.01
50	6.127	a	A
CK	5.260	ab	A
150	4.440	bc	AB
200	3.110	cd	BC
300	2.263	d	C

2.3 过氧化物酶(POD)活性

过氧化物酶(POD)是酶保护系统中的重要组成^[13]部分,与植物的抗逆境能力密切相关,能清除体内的活性氧,有利于植物维持体内活性氧产生和猝灭的动态平衡,从而阻抑膜脂过氧化的进程^[14]。

从不同浓度 Pb 对菌丝胞内 POD 活性(△OD₄₇₀/min · g⁻¹FW)的影响中得知,随培养基中 Pb 浓度的增加菌丝体胞内 POD 的活性呈现先上升后下降的趋势,在 Pb 浓度为 150 μmol/L 处 POD 活性达到最大值,随后随浓度增大,菌丝体内 POD 活性显著下降。POD 活性差异显著性检验结果显示,不同 Pb 浓度间均存在极显著差异(表 5、6),故认为不同 Pb 浓度对菌丝胞内 POD 活性有一定影响。

试验得知 150 μmol/L Pb 处理的 POD 活性为最大值,300 μmol/L Pb 处理的 POD 活性为最小值。150 μmol/L Pb 处理的 POD 活性与其它浓度达极显著差异,为对照组的 1.864 倍。

表 5 不同 Pb 浓度下 POD 活性方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	方差
浓度间	0.009	4	0.002	197 530.5 **
误差	0.001	10	0.001	
总变异	0.009	14		

表 6 不同 Pb 浓度对 POD 活性影响

浓度/μmol · L ⁻¹	均值	α= 0.05	α= 0.01
150	0.086	a	A
50	0.056	b	B
CK	0.046	c	C
200	0.026	d	D
300	0.016	e	E

2.4 过氧化氢酶(CAT)活性

CAT 是植物抵御活性氧伤害的一种重要酶类,在清除 O₂⁻、H₂O₂,阻止或减少羟基自由基方面起着重要的作用^[15]。从不同浓度 Pb 对菌丝胞内 CAT 活性(△OD₄₇₀/min · g⁻¹鲜重)的影响中得知,随培养基中 Pb 浓度的增加,菌丝胞内 CAT 的活性先上升后降低,其活

性均高于对照组,并在 150 $\mu\text{mol/L}$ 达最大值。CAT 活性差异显著性检验结果显示,不同 Pb 浓度间均存在极显著差异(表 7、8),故认为不同 Pb 浓度对菌丝体内 CAT 活性有一定影响。

表 7 不同 Pb 浓度下 CAT 活性方差分析				
变异来源	平方和	自由度	均方	方差
浓度间	0.178	4	0.045	2 287.249 **
误差	0.001	10	0.001	
总变异	0.178	14		

表 8 不同 Pb 浓度对 CAT 活性影响			
浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	均值	$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
150	0.420	a	A
50	0.316	b	B
200	0.206	c	C
300	0.152	d	D
CK	0.128	e	E

试验得出,不同浓度 Pb 处理后 CAT 活性均有所上升,在浓度 150 $\mu\text{mol/L}$ 处 CAT 活性达最大值后有所下降。150 $\mu\text{mol/L}$ Pb 处理的 CAT 活性与其它浓度达极显著差异,大约为对照组的 3.271 倍。

3 结论与讨论

试验中 Pb 在 50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时,菌丝体内可溶性总糖含量和脯氨酸含量略微上升,且与对照组均无极显著差异,说明较低浓度 Pb 胁迫(50 $\mu\text{mol/L}$)对大球盖菇胞内总糖与脯氨酸含量影响不大。而 100 ~ 300 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内这 2 项指标含量显著下降,并且各浓度间差异显著,说明此浓度区间 Pb 已开始对大球盖菇产生毒害作用,并较显著的影响了大球盖菇的生长发育。

该研究的大球盖菇菌丝体内 POD 活性随 Pb 浓度呈先上升后下降的趋势,在 150 $\mu\text{mol/L}$ 处达到峰值,且不同 Pb 浓度达 1%极显著水平。CAT 活性在试验浓度梯度下均比对照有所增加,在 150 $\mu\text{mol/L}$ 处增大至最高值,多重比较得出各浓度间 CAT 活性差异极显著,表明在 50 ~ 150 $\mu\text{mol/L}$ Pb 胁迫下大球盖菇抗氧化酶系统发挥了较好的抗氧化作用,可以很好地防御 Pb 毒害,使菌丝体自由基浓度维持在正常水平内。当 Pb 浓度达 200、300 $\mu\text{mol/L}$ 时,POD 活性显著下降,低于对照组水平,CAT 活性呈相同趋势,当 Pb 浓度达 300 $\mu\text{mol/L}$,CAT 活性已接近对照组水平。可知 Pb 胁迫已影响到

大球盖菇的抗氧化系统,至少在该试验浓度范围内高浓度 Pb(200 ~ 300 $\mu\text{mol/L}$)已影响 POD 的防御表达,推测此时浓度的 Pb 对 POD 酶有较大毒害作用,从而影响其活性。

Pb 能改变植物体内防御酶的活性,酶活性降低且处理时间越长作用越明显。这可能是自由基引起的伤害积累超过了防御酶系统的清除能力,抑制了活性^[19]。该研究表明,150 $\mu\text{mol/L}$ Pb 胁迫下大球盖菇菌丝体内 POD、CAT 活性均达最大值,当 Pb 浓度大于此浓度时,POD、CAT 活性开始呈下降趋势,可作为判断 Pb 毒害大球盖菇的生化指标,这也需要进一步的试验验证。

参考文献

[1] 许峰.大球盖菇富硒液体培养条件优化及抗氧化能力初步研究[J].泰安:山东农业大学,2006

[2] 张琪林 王红.大球盖菇液体培养富锌特性研究[J].农业与技术 2007(5): 58-59.

[3] 王宏铭 束文圣.重金属污染生态学研究现状与展望[J].生态学报 2005,25(3): 596-605.

[4] 王爱萍 周琪.人工湿地处理污水的研究[J].四川环境,2005 24(2): 76-80.

[5] 张志良 瞿伟菁.植物生理学试验指导[M].北京:高等教育出版社 2003: 123-124 127-128.

[6] 李如亮.生物化学试验[M].武汉:武汉大学出版社 1998.

[7] 王松华 张华.镉对灵芝菌丝抗氧化系统的影响[J].应用生态学报 2008,19(6): 1355-1361.

[8] 张宝元.过氧化氢酶活性的定量测定[J].科学教育,2007,6(4): 35-36.

[9] 张殿忠 汪沛洪.测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法[J].植物生理学通讯,1990 18(6): 58-60.

[10] 朱广廉 邓兴旺 左卫能.植物体内游离脯氨酸的测定[J].植物生理学通讯,1983,9(1): 77-83.

[11] 林洒风 李冠一.植物耐盐性研究进展[J].生物工程进展 2000,20(2): 20-25.

[12] 孙丽华 黄杨.粗蛋白、氨基酸组分与脯氨酸等与其耐寒性的研究[J].干旱区资源与环境 2006 20(6): 32-37.

[13] 蒋明义 郭绍川.水分亏缺诱导的氧化胁迫和植物的抗氧化作用[J].植物生理学通讯,1996 32(2): 144-150.

[14] 金明红 冯宗炜 张福珠.臭氧对水稻叶片膜脂过氧化和抗氧化系统的影响[J].环境科学,2000,21(3): 15-17.

[15] 杨淑慎.自由基与植物的衰老[J].西北植物学报 2002,2(3): 32-33.

[16] 唐咏.铅污染对辣椒幼苗生长及 SOD 和 POD 活性的影响[J].沈阳农业大学学报,2001,32(1): 26-28.

Effects of Lead(II) Stress on Antioxidant System in *Stropharia rugoso-annulata*

CHEN Li

(Department of Life Science Yuncheng University, Yuncheng, Shanxi 044000)

Abstract: The study on the effects of different concentration(0, 150, 200, 300 $\mu\text{mol/L}$) lead (Pb) on antioxidative system in *Stropharia rugoso-annulata* indicated that with increasing concentration of Pb, the praline and total polysaccharides increased first slightly and decreased then. With in the range of test Pb concentration, the activities of CAT and POD increased first and decreased then, with the peak at 150 $\mu\text{mol/L}$ of Pb, while 200 ~ 300 $\mu\text{mol/L}$ of Pb decreased the intensity of POD and CAT significantly.

Key words: *Stropharia rugoso-annulata*; lead; antioxidant system