

蛹虫草对锌的耐性与富集特征

程显好*, 盖宇鹏, 孙慧涌, 柏新富, 张秋胜

(鲁东大学生命科学学院, 烟台 264025)

摘要:在培养基内添加不同量的锌,研究其对蛹虫草子实体的形成、子实体和菌丝体生物量、子实体多糖含量和葡萄糖含量的影响,以及蛹虫草子实体和菌丝体对锌的富集能力。结果表明锌对上述各项都有影响。液体培养条件下,锌浓度在 453—906 mg/L 范围内可以促进菌丝体生长,锌浓度超过 4077 mg/L 时,菌丝生长受到抑制。培养基锌的浓度在 4077 mg/L 以下时,蛹虫草菌丝体锌的富集量随着液体培养基锌浓度的提高而提高。固体培养条件下,锌含量在 226—453 mg/kg 范围内可以促进蛹虫草子实体生长,并且在此含量范围内,蛹虫草子实体中葡萄糖含量较高。培养基锌含量在 680—906 mg/kg 时,子实体多糖含量较高。培养基锌含量在 2038 mg/kg 以下时,蛹虫草子实体中锌的富集量随着培养基锌含量的提高而提高,在培养基锌含量为 2038 mg/kg 时,子实体中锌的含量达到 28570 mg/kg(干重)。

关键词:子实体;菌丝体;锌;超积累

Zinc tolerance and accumulation characteristics of *Cordyceps militaris*

CHENG Xianhao*, GE Yupeng, SUN Huiyong, BAI Xinfu, ZHANG Qiusheng

College of Life Science, Ludong University, Yantai 264025, China

Abstract: To investigate the influence of zinc on the growth and composition of *Cordyceps militaris*, the growth rate and the contents polysaccharide, glucose and zinc were analyzed for both mycelia and fruiting body grown in submerged culture and solid state culture supplemented with Zn^{2+} . Here, we report that increasing Zn^{2+} alters the growth rate, the contents of both glucose and polysaccharide, and zinc enrichment. Our results show that zinc influences the formation of fruiting body, the biomass of fruiting body and mycelia, the contents of polysaccharide and glucose in fruiting body, and zinc enrichment in mycelia and fruiting body of *C. militaris*. In submerged culture, zinc at 453—906 mg/L increased mycelia growth. When higher than 4077 mg/L, zinc functions to inhibit mycelia growth. Under the concentration of 4077 mg/L, increasing the concentration of zinc in the medium could enhance the Zn^{2+} content in mycelia. Fruiting body growth was found increased at highest rate when the medium was supplemented with Zn^{2+} at 226—453 mg/kg. And the improved growth was associated with higher amount of glucose in *C. militaris*. The synthesis of polysaccharide increased when fruiting body of *C. militaris* was grown in media supplemented with Zn^{2+} at 680—906 mg/kg. Under the concentration of 2038 mg/kg of supplemented Zn^{2+} , the content of zinc in fruiting body of *C. militaris* elevated along with increasing amount of zinc in media. The zinc content in fruiting body of *C. militaris* reached the highest level (28570 mg/kg (dry weight)) when 2038 mg/kg of Zn^{2+} was supplemented in the medium.

Key Words: fruiting body; mycelium; zinc; hyperaccumulate

20 世纪 70 年代以后,大型真菌对重金属的生物富集现象开始受到关注,研究表明大型真菌比绿色植物更容易积累高浓度的 Cd、Pb 和 Hg 等重金属^[1]。国外报道较多的是有关野生大型真菌子实体中重金属的含

基金项目:食用菌技术“泰山学者”建设工程专项经费资助项目;鲁东大学人才基金资助项目(LY20063304);鲁东大学食用菌技术创新团队基金资助项目

收稿日期:2009-06-10; **修订日期:**2009-11-09

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: chengxianhao@sohu.com

量和子实体对重金属的生物富集特征,如在蘑菇属大型真菌中 Cd 含量可达到 100—300 mg/kg 干质量,在 Pb 冶炼厂附近许多种类的大型真菌中 Pb 含量达到 100—300 mg/kg 干质量。一些能富集 Cu 的大型真菌种类中,Cu 含量达到 100—300 mg/kg 干质量^[2]。研究表明不同大型真菌种类吸收重金属的能力不同,具有种的特异性和地域性。国内近年来报道较多的则是在人工栽培的条件下大型真菌对重金属的生物富集特性,如雷敬敷和杨德芬^[3]和施巧琴等^[4]研究了香菇、双孢蘑菇、木耳和凤尾菇、金针菇栽培过程中,对培养料中添加的 Cu、Zn、Pb 和 Cd 的富集作用,黄建成等^[5]研究了姬松茸生产栽培过程,重金属 Hg、As、Pb 和 Cd 在子实体中的富集规律。

虽然研究发现大型真菌具有较强的富集重金属的能力,但具有重金属超量积累能力的大型真菌报道很少。Stijve 等^[6]发现紫星裂盘菌(*Sarcosphaera coronaria*)对砷具有超富集能力,而 Jan Boroviccka 等^[7]发现松果鹅膏菌(*Amanita strobiliformis*)和角鳞白鹅膏菌(*Amanita solitaria*)对银具有超富集能力,尤其是在松果鹅膏菌中,银的积累可以达到 1253 mg/kg 干重。具有锌超积累能力的大型真菌国际上还未见报道。

蛹虫草[*Cordyceps militaris* (L.) Link],又称北冬虫夏草,是我国名贵中药材,分类上属于子囊菌门(Ascomycota)、粪壳菌纲(Sordariomycetes)、肉座菌目(Hypocreales)、麦角菌科(Clavicipitaceae)、虫草属(*Cordyceps*),是虫草属真菌的模式种。现代药物研究表明,蛹虫草中含有核苷类、多糖类、虫草酸(D-甘露醇)、甾醇类以及氨基酸和微量元素等主要成分,与冬虫夏草基本相同^[8]。因为天然蛹虫草来源稀少、生长环境要求苛刻,所以人工培养蛹虫草就成为研究热点。现在比较成熟的人工培养方式一种是液体发酵获得菌丝,另一种为固体培养获得子座。目前蛹虫草的人工培养已进入了产业化阶段。

本文针对锌对蛹虫草子实体的生长以及成分含量的影响,以及蛹虫草菌丝体、子实体对锌的耐性和积累特性进行了研究。

1 材料与方法

1.1 菌种

蛹虫草(*C. militaris*)菌种购于中国工业微生物菌种保藏管理中心。

1.2 培养基与试剂

试管斜面培养基:葡萄糖 2%,酵母提取物 0.5%,蛋白胨 0.6%,琼脂 1.5%,pH 5.5—6.5。

液体培养基:葡萄糖 2%,酵母提取物 0.5%,蛋白胨 0.6%,pH 5.5—6.5。

固体培养基:大米 50g,酵母提取物 1g 或蛋白胨 1g,自来水 75ml,pH 5.5—6.5。

1.3 液体种子的制备

将保藏菌种接入试管斜面培养基中,25℃培养 8d,将活化好的菌种接入液体培养基中,每瓶接 0.5cm²大小的菌种一块,用 500ml 摇瓶装 150ml 液体培养基,25℃,150r/min 摇床中培养 120 h。

1.4 蛹虫草菌丝体的液体培养

在液体培养基添加 ZnSO₄·7H₂O,使培养基中 Zn 的浓度分别为 453—4530 mg/L 共 10 个实验组和 1 个空白对照组(表 1)。每组 4 个重复,用 500ml 摇瓶装 200ml 液体培养基,按接种量 5% 接入液体种子,然后置于 25℃,150 r/min 摇床中培养 120 h。过滤,将过滤后的菌丝体用蒸馏水洗 3 次,60℃烘箱中烘至恒重,称干重。并测定其中的锌含量。

1.5 蛹虫草子实体培养

用 350ml 罐头瓶中培养子实体,用食用菌专用封口膜封口。每瓶中培养基装量 51 g(干计)。固体培养基中 Zn 的含量设定 226—2265 mg/kg 共 10 个实验组和一个空白对照组(表 2)。每个实验组 4 个重复。培养基中添加 Zn 时,先把 ZnSO₄·7H₂O 溶于 50ml 水中溶解后,再添加到培养基中拌匀。

每瓶接入液体种子 10ml,先于 25℃暗培养 4d,然后转入 12h/12h 散射光照周期,22℃条件下培养。在培养过程中定期喷洒无菌水以保持培养室内湿度为 80%—90%。每天观察记录生长情况。

表 1 锌对蛹虫草菌丝体生物量的影响及菌丝体的锌含量

Table 1 The effect of zinc on mycelia biomass and zinc content in mycelia

培养基中 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 添加量 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ concentrations in medium /%	折合成 Zn 添加量 Zinc concentrations in medium /(mg/L)	菌丝体干重 Dry weight of mycelia /(g/bottle)	干菌丝体中锌的含量 Zinc contents in mycelia dry weight /(mg/kg)
0.0	0	1.93 ± 0.07 a	—
0.2	453	2.41 ± 0.06 b	9812
0.4	906	2.37 ± 0.13 b	13222
0.6	861	2.27 ± 0.25 a	18456
0.8	1812	2.15 ± 0.21 a	19345
1.0	2265	2.08 ± 0.19 a	22544
1.2	2718	2.04 ± 0.17 a	37341
1.4	3171	1.96 ± 0.17 a	39562
1.6	3624	1.83 ± 0.07 a	41209
1.8	4077	1.73 ± 0.13 b	43321
2.0	4530	1.62 ± 0.10 b	43578

—:未检出, $P < 0.05$

1.6 子实体生物量的测定

培养 90d 时,采收子实体。每瓶子实体于 60℃ 烘箱中至烘干至恒重,称量其干重。

1.7 子实体中多糖与还原糖含量的测定

取样品 0.5g,在研钵中研成粉末,在索氏提取器中用蒸馏水抽提 8h,将抽提液于 500ml 容量瓶中定容。苯酚-硫酸法^[9]测定样品中多糖含量。以生物传感分析仪(SBA-40D 型)测定葡萄糖的含量。

1.7 锌含量的测定

称取 1g 左右的烘干至恒重的菌丝体或子实体,于 100 ml 的小烧杯中,加入混酸 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ (3:1) 20 ml 后加热消化 40 min,定量转移并定容至 100 ml,稀释至适当浓度后以原子吸收分光光度计(AA320N 型)进行锌的测定。

1.8 统计方法

对经不同处理的菌丝体和子实体干重分别与对照组进行方差分析,方差分析采用 LSD 统计软件。结果以“均值 ± 标准差”的形式表示。

2 结果与分析

2.1 锌对液体培养的蛹虫草菌丝体生长的影响及菌丝体对锌的富集作用

在液体培养条件下,蛹虫草对锌的耐受性较高。在所试验的锌浓度的范围内,培养基中加入锌的量在 453—906 mg/L 之间时,菌丝体生物量与对照组有显著性差异,能够促进菌丝生长。培养基锌浓度在 1359—3624 mg/L 之间时,菌丝体生物量与对照组没有显著性差异,没有影响菌丝体的生长。培养基锌浓度在 4077—4530 mg/L 之间时,则抑制了菌丝体的生长。

培养基中锌的添加,对菌丝体外观形态也会发生影响。对照组菌丝体在液体培养基中呈均匀分散状态,培养基锌浓度在 2718 mg/L 以下时,菌丝一直保持均匀分散状态,但培养基锌浓度超过 3171 mg/L 时,菌丝体在摇瓶内会聚集成条状,见图 1。菌丝的聚集可能与较高的离子浓度下细胞表面的电荷性质发生改变有关。

液体培养条件下蛹虫草菌丝体对锌的积累能力较强,随着培养基锌浓度的提高,菌丝体富集锌的量也逐渐增大。在液体培养基中,菌丝体悬浮于培养液中,对于锌的富集既有细胞内积累,也有胞外吸附。进行菌丝体锌含量测定时,菌丝体过滤之后虽然用去离子水洗过 3 次,仍无法保证菌丝体表面吸附的锌离子清除干净,所以测得的菌丝体锌含量不等于菌丝体胞内锌的富集量。实验中发现,液体培养的菌丝体中锌的含量高于固体培养的子实体中锌的含量,这可能与菌丝体的表面吸附有关。

2.2 锌对蛹虫草子实体形成的影响

培养基中锌的含量在适宜的范围内时,锌对蛹虫草子实体的形成有促进作用。培养基中锌含量在 226—

1585 mg/kg 之间时,子实体形成的时间缩短,结果见表 2。

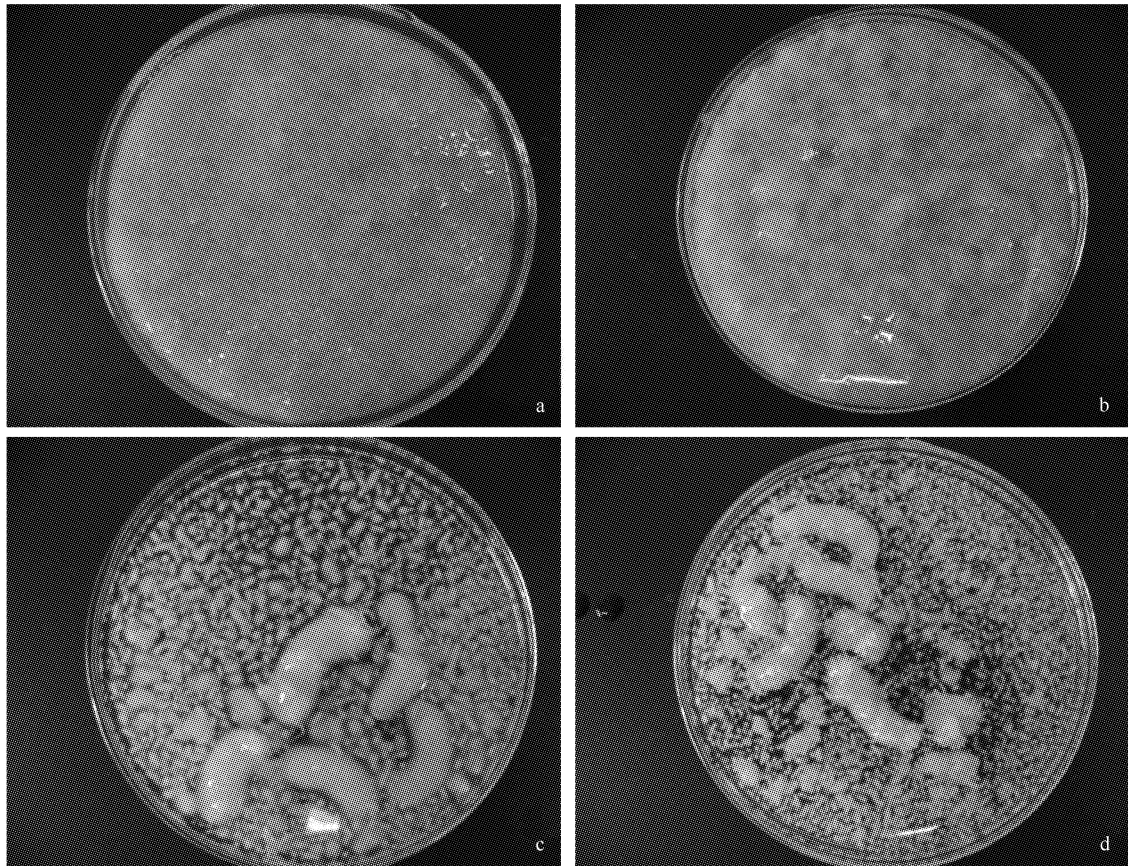


图 1 锌对蛹虫草液体培养菌丝形态的影响

Fig. 1 Morphologic change of mycelium in *C. militaris* in submerged culture with different Zn content in media

a: CK; b: 锌浓度 2718 mg/L; c: 锌浓度 3171 mg/L; d: 锌浓度 4530 mg/L

表 2 培养基中锌添加量对蛹虫草子实体的影响

Table 2 The effect of Zn on fruiting body

培养基中锌添加量 Zn concentrations in medium		子实体形成时间 Fruiting body formation time /d	子实体干重 Dry cell weight of fruiting body (g/ bottle)	子实体中多糖含量 Polysaccharide contents in fruiting body /%	子实体中 葡萄糖含量 Reducing sugar contents in fruiting body /%	子实体中锌的含量 Zinc contents in fruiting body /(mg/kg)
ZnSO ₄ ·7H ₂ O /%	Zinc /(mg/kg)					
0.00	0	13	2.71 ± 0.77 a	3.77	0.0851	1146
0.10	226	12	3.83 ± 0.20 b	4.95	0.0845	3278
0.20	453	11	3.87 ± 0.34 b	5.38	0.1350	4888
0.30	679	8	3.10 ± 0.54 a	12.49	0.0530	3464
0.40	906	8	2.63 ± 0.35 a	10.38	0.0520	6316
0.50	1132	8	1.97 ± 0.14 a	3.96	0.0566	7272
0.60	1359	8	1.95 ± 0.38 a	4.22	0.0575	10859
0.70	1585	8	0.77 ± 0.41 b	4.07	0.0470	18441
0.80	1812	18	0.75 ± 0.23 b	4.47	0.0540	21592
0.90	2038	20	0.34 ± 0.17 b	5.73	0.0433	28570
1.00	2265	22	0.23 ± 0.10 b	5.44	0.0510	24018

$P < 0.05$

子实体形成是大型真菌由无性营养生长转入有性繁殖的过程,也是菌丝发生细胞分化的过程。子实体形

成过程中的细胞分化的启动受许多因素影响,近年来研究发现氧化胁迫是导致真菌细胞分化的原因^[10-11]。培养基内锌含量的增大,会引起菌丝细胞内氧化胁迫压力的增大,而适度的氧化胁迫会导致细胞分化的发生,使子实体形成过早发生。表 2 所示,锌含量在 679—1585 mg/kg 范围内,子实体在第 8 天就形成,比对照组提前 5d。锌含量超过 1812 mg/kg 时,子实体发生延迟,比对照组推迟 5d 以上。是过高的锌含量抑制了菌丝生长,还是过度的氧化胁迫反而影响了细胞分化的启动,需要进一步分析。

2.3 锌对蛹虫草子实体生物量、成分的影响及子实体对锌的富集作用

表 2 中可见,培养基中锌含量为 226 mg/kg 和 453 mg/kg 时,子实体干重和对照组相比有显著差异,226 mg/kg 和 453 mg/kg 两个不同锌含量组相比,二者之间无显著性差异。说明培养基中添加适量的锌可以促进蛹虫草的子实体生物量的增长。培养基锌含量在 679—1359 mg/kg 之间时,子实体生物量和对照组相比无显著性差异,说明此锌含量范围内,子实体的生长量没有受到影响。培养基内锌含量达到 1585 mg/kg 以上时,子实体干重减少,和对照组相比有显著性差异,说明此条件下子实体的生长受到了抑制。

从图 2 中可见,培养基锌含量为 453 mg/kg 时,子实体生长形态正常,而培养基内锌含量为 1585 mg/kg 和 2265 mg/kg 时,子实体的形成减少,瓶内部分区域白色菌丝没有分化和组织化,菌丝颜色也没有发生变化,抑制了通常所说的“转色”现象。

蛹虫草对锌具有较高的耐受能力和富集能力。培养基锌含量达到 2265 mg/kg 时,菌丝仍能正常生长,子实体也仍能形成。随着培养基锌含量的提高,子实体中锌的含量也逐渐上升,在培养基锌含量达到 2038 mg/kg 时,子实体内锌的富集达到 28570 mg/kg,远远超过了“锌超积累植物”规定达到的临界浓度 10000 mg/kg。说明蛹虫草是一种潜在的锌超富集大型真菌。

子实体多糖含量和还原糖含量也受培养基中锌浓度的影响。培养基中锌含量 679 mg/kg 时,其多糖含量是对照组的 3 倍多。多糖成分中一部分是菌体的初级代谢产物,一部分是次级代谢产物。锌离子是影响的初级代谢的多糖部分,还是次级代谢产生的多糖部分,以及对多糖成分影响的机制还需要进一步研究。测得子实体葡萄糖含量在培养基锌含量为 453 mg/kg 时高于其它实验组,其对葡萄糖成分的影响机制也还需要进一步研究。

3 讨论

大型真菌的结构特性与高等植物相差较大,以超富集植物的 4 个标准如临界含量、转移系数、耐性特征、富集系数这四个特征来衡量和定义超富集大型真菌并不恰当。如超富集植物的地上部分的重金属含量要求高于根部该种重金属含量,对于大型真菌而言,因为地下部分的菌丝难以与土壤进行分离,所以很难测定。Jan Borovicka 等^[7]认为,对于大型真菌而言,只要满足了重金属富集能力能达到临界含量,而且重金属富集水平达到同样基质下生长的其它非超富集大型真菌的 100 倍以上,就可以定义为超富集大型真菌。

蕈菌与其它绿色植物相比,由于其地上部分生长期短暂,其标本采集具有强烈的时间限制,往往只有几天就死亡、腐烂,所以用常规的筛查重金属超积累植物的方式筛查重金属超积累蕈菌并不完全适合,这也是目前重金属超积累蕈菌报道很少的原因之一。

根据修复植物在某一方面的修复功能和特点可将植物修复分为 3 种基本类型:植物提取修复,植物稳定修复和植物挥发修复。蕈菌的子实体形成条件比较苛刻,条件不适宜时难以形成地上部分的大型子实体,就使用其实施提取修复、挥发修复时较困难。但蕈菌菌丝体的扩散较快、比表面积较大,在用来进行稳定修复时会有较好的效果。Pletsch 等^[12]比较全面地概括了大型真菌在富集重金属中的应用,指出利用大型真菌进行环境生物修复是环境修复研究中一项新颖的生物技术方法。蛹虫草作为一种潜在的锌的超积累蕈菌,它在土壤中的生长繁殖,可以改善土壤微环境,促进其它生物在锌污染的土壤中的正常生长发育。值得注意的是蛹虫草作为一种药用真菌,作为污染环境修复材料,还是存在较大的健康风险,因为一旦用于环境修复,生长出的子实体是不能用做药材的。和其它非食用、药用的超富集植物相比,可食性超富集植物如果用于环境修复,因为存在安全隐患,所以需要有严格的管理要求。



图2 锌对蛹虫草子实体形成的影响

Fig. 2 Effect of Zn on Fruiting body formation of *C. militaris*

a: CK; b: 锌含量 453 mg/kg; c: 锌含量 1585 mg/kg; d: 锌含量 4530 mg/kg

国际上已发现的 18 种锌超积累植物中, 锌积累能力在 2.5% 以上的只有 5 种^[13], 最高的是发现于德国的 *T. caerulescens*, 锌积累达到 3.96%, 其次是发现于非洲的 *Dichapetalum gelonioides*, 锌积累达到 3%。蛹虫草锌积累达到 2.85%, 和已经发现的锌超积累植物相比, 锌的积累能力处于第 3 位, 是锌积累能力相对较高的生物种类。从已经报道的大型真菌中的锌含量的统计结果表明, 大型真菌中锌的浓度一般和土壤中的锌浓度接近, 或者稍微高一些。子实体中的锌的浓度大部分在 50—150 $\mu\text{mol/mol}$ 之间, 黑紫红菇 (*Russula atropurpurea*) 是唯一发现的可以富集锌的大型真菌, 子实体中锌的浓度可以达到 891 $\mu\text{mol/mol}$ ^[14]。其富集锌的浓度远远低于蛹虫草中的浓度。

培养基内添加适量的锌对蛹虫草的子实体的生长有重大影响, 如可明显缩短蛹虫草的子实体形成时间, 提高子实体的生物量等, 这对蛹虫草的工业化栽培具有重要参考意义。因为锌参与生物体很多种酶和功能蛋白的组成, 与许多基础性生理活动密切相关, 是许多功能蛋白如金属硫蛋白、核蛋白、受体等的组成成分, 可直接参与核酸及蛋白质合成, 对细胞的分裂生长作用重大。

目前对于生物的金属离子超积累机制还不完全了解, 高浓度的锌会引起氧化应激, 如活性氧簇的增加, 会引起细胞的氧化损伤, 以及细胞膜脂质的过氧化^[15-16]。从已有研究文献报道看, 植物中锌离子的解毒机制可能为细胞壁沉淀、液泡区室化分布和小分子化合物的螯合等。研究发现培养基中添加不同浓度的锌时, 蛹虫草子实体中的多糖含量和还原糖的量会发生变化, 这一变化是否与其解毒机制有关, 需要进一步研究。蛹虫草对高浓度锌的解毒机制是需要进一步探讨。

References:

- [1] An X L, Zhou Q X. Bioaccumulation of heavy metals in macrofungi and its application in ecological remediation. Chinese Journal of Applied

- Ecology, 2007, 18 (8): 1897-1902.
- [2] Zhou Q X, An X L, Wei S H. Heavy metal pollution ecology of macrofungi: research advances and expectation. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19 (8): 1848-1853.
- [3] Lei J F, Yang D F. Contents of heavymetals in edible fungi and its enrichment. Edible Fungi of China, 1990, 9 (6): 14-17.
- [4] Shi Q Q, Lin L, Chen C Z, Chen S S, Xie B F, Wu S G, Chen J Y, Ke Y L, Li X M, Lin Y. Studies on the accumulation of heavymetals and their effect on the growth and metabolism in edible fungi. Mycosystema, 1991, 10 (4): 301-311.
- [5] Huang J C, Ying Z H, Yu Y R, Li K B. Accumulation rule of heavy metal and the controlling technique by *Agaricus blazei* Murrill. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2007, 23 (3): 406-409.
- [6] Stijve T, Vellinga EC, Hermann A. Arsenic accumulation in some higher fungi. Persoonia, 1990, 14(2): 161-166.
- [7] Borovicka J, Randa Z, Jelinek E, Kotrba P, Dunn C E. Hyperaccumulation of silver by *Amanita strobiliformis* and related species of the section Lepidella. Mycological Research, 2007, 3: 1339-1344.
- [8] Tang X Y, Ding X S. Study progress on *Cordyceps militaris*. Primary Journal of Chinese Materia Medica, 2002, 16 (4): 50-53.
- [9] Li Y, Shi W N, Tang Q J, Wu T, Guo C, Cai L Y, Xiong A Z. Determination of polysaccharides and mannitol in *Cordyceps sinensis* and *Cordyceps militaris* using colorimetric methods. Acta Edulis Fungi, 2007, 14(3): 53-57.
- [10] Hansberg W, Aguirre J. Hyperoxidant states cause microbial cell differentiation by cell isolation from dioxygen. Journal of Theoretical Biology, 1990, 142: 201-221.
- [11] Aguirre J, Rios-Momberg M, Hewitt D, Hansberg W. Reactive oxygen species and development in microbial eukaryotes. Trends in Microbiology, 2005, 13(3): 111-118.
- [12] Pletsch M, de Araujo B S, Charlwood B V. Novel biotechnological approaches in environmental remediation research. Biotechnology Advances, 1999, 17(8): 679-687.
- [13] Du S J, Qiu R L, Fang X H. Advances in biological mechanism of zinc hyper-accumulation in plants. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2005, 21(3): 174-178.
- [14] Borovička J, Randa Z. Distribution of iron, cobalt, zinc and selenium in macrofungi, Mycological Progress, 2007, 6(4): 249-259.
- [15] Bonnet M, Camares O, Veisseire P. Effects of zinc and influence of *Acremonium lolii* on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activities of ryegrass (*Lolium perenne* L. cv Apollo). Journal of Experimental Botany, 2000, 51(346): 945-953.
- [16] Candan N, Tarhan L. The correlation between antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in *Mentha pulegium* organs grown in Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} and Mn^{2+} stress conditions. Plant Science, 2003, 165: 769-776.

参考文献:

- [1] 安鑫龙,周启星. 大型真菌对重金属的生物富集作用及生态修复. 应用生态学报, 2007, 18(8): 1897-1902.
- [2] 周启星,安鑫龙,魏树和. 大型真菌重金属污染生态学研究进展与展望. 应用生态学报, 2008, 19 (8): 1848-1853.
- [3] 雷敬敷,杨德芬. 食用菌的重金属含量及食用菌对重金属富集作用的研究. 中国食用菌, 1990, 9 (6): 14-17.
- [4] 施巧琴,林琳,陈哲超,陈松生,谢必峰,吴松刚,陈静仪,柯毅龙,李贤明,林园. 重金属在食用菌中的富集及对其生长代谢的影响. 菌物学报, 1991, 10 (4): 301-311.
- [5] 黄建成,应正河,余应瑞,李开本. 姬松茸对重金属的富集规律及控制技术研究. 中国农学通报, 2007, 23 (3): 406-409.
- [8] 汤晓赞,丁选胜. 蛹草的研究进展. 基层中药杂志, 2002, 16 (4): 50-53.
- [9] 李颜,史薇娜,唐庆九,吴晔,郭澄,蔡令仪,熊爱珍. 比色法测定冬虫夏草和蛹虫草中多糖和甘露醇的含量. 食用菌学报, 2007, 14(3): 53-57.
- [13] 杜锁军,仇荣亮,方晓航. 植物超富集锌的生物学机制研究进展. 中国农学通报, 2005, 21(3): 174-178.