

# 白毒鹅膏菌人工驯化及毒力变异试验

何介元<sup>1</sup> 杨仲亚<sup>2</sup> 毛朝明<sup>2</sup> 辛又川<sup>2</sup> 何梅英<sup>3</sup>

(广东河源慢性病防治站 河源 517000)<sup>1</sup> (四川省卫生防疫站 成都 610000)<sup>2</sup>

(深圳市罗湖区卫生防疫站 深圳 518002)<sup>3</sup>

**摘要:** 我们对白毒鹅膏菌 [*Amanita verna* (Bull.: Fr.) Pers. ex vitt] 进行组织分离获得了菌丝体纯培养, 采用3种栽培培养基作出菇比较试验, 以杂木屑、麦皮、干牛粪组成的培养料菌丝生长最好, 并发现依次为天然(干品)→母种→菌丝的减毒变异, 对出菇生态作了观察, 可见子实体原基形成, 可惜未见出菇效应。

**关键词:** 白毒鹅膏菌, 毒蘑菇, 驯化, 减毒变异

**中图分类号:** Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2002) 03-0070-03

## AMANITA VERNA: CULTIVATION AND TOXICITY VARIATION DETERMINATION

HE Jie-Yuan<sup>1</sup> YANG Zhong-Ya<sup>2</sup> MAO Chao Ming<sup>2</sup> XIN You-Cuan<sup>2</sup> HE Mei-Ying<sup>3</sup>

(Public Health and Anti-Chronic Disease Station of Heyuan, Guangdong 517000)<sup>1</sup>

(Public Health and Anti-epidemic Station of Sichuan, Chengdu 610000)<sup>2</sup>

(Public Health and Anti-epidemic Station of Luo hu Shen, zhen 518002)<sup>3</sup>

**Abstract:** Tissues of *Amanita verna* were cultivated in 3 kinds of media. The tests showed that the medium consisting of wheat bran, mixed sawdust and dry cow dung was the optimum one. The result revealed that the toxicity reduced in following order: dry specimen→parental strain→secondary spawn. The protocarpic tissues were observed but no fruit-body formation.

**Key words:** *Amanita verna*, Poisonous mushroom, Cultivation, Toxicity reduction

白毒鹅膏菌是目前世界上天然毒素最毒的蘑菇之一。2000年3月17日下午9名湖北籍民工在广州鹿湖公园山上, 采到2kg白毒鹅膏菌, 吃后相继发生中毒, 先后死亡8名, 致死率为89%, 惟一幸存者李××出院后却怪病缠身, 几乎不能行走。早在1984年我们试图通过栽培, 大量收集样品, 以便开展对其毒素的提取, 寻找防治方法和有效物质的研究利用, 分别于广东河源、四川成都两地采集样本, 组织分离, 子实体栽培及动物毒力试验等, 现将结果报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

子实体采集于1984年9月3日四川峨眉山莲花石(海拔2000~2500m)林间地带,

收稿日期: 2001-05-13, 修回日期: 2001-10-12

采到野生白毒鹅膏菌,经组织分离所获母种,于1984年10月12日异地广东河源进行人工栽培试验(菌号8403)。

## 1.2 方法

**1.2.1 菌种分离培养基(g):** (1) 马铃薯 20, 葡萄糖 5, 琼脂 1.5~2, 自然 pH。(2) 米汁 (12-14 波美), 酵母膏 2, 琼脂 1.5~2。米釉汁制取是大米 500g, 加水 500mL 蒸饭, 待冷加糖化菌经 24h 糖化, 再加水 1000mL 过滤取汁即得。

**1.2.2 出菇培养基(g):** (1) 杂木屑 60, 麦皮 20, 米糠 20, 蔗糖 2, 熟石膏 2; (2) 杂木屑 60, 麦皮 20, 米糠 10, 干牛粪 10, 蔗糖 2, 熟石膏 2; (3) 稻秆(干) 60, 切成 2cm~3cm 长条, 干牛粪 20, 麦皮 10, 米糠 10, 蔗糖 2, 熟石膏 2。

## 1.3 母种分离方法

采用常规分离方法,将子实体表面消毒后,切取菌盖或菌柄组织块,置试管培养基上 28℃ 培养。

## 2 结果

### 2.1 菌丝体培养

**2.1.1** (1) 25℃~28℃ 恒温箱内作挡光培养,另加瓶盛水保湿。24h 幼菌丝呈淡黄白相间生长并向四周扩展。经 25℃~28℃ 培养 3~5d, 菌落大小为 1.7×2.2cm, 可见气生菌丝爬壁,但长势不旺,底部培养基呈碎裂处可见白色新生菌丝,老化时可见明显褐色菌落边缘。整片布满白色菌丝成膜状、石花状和白色分泌液。面部中央有明显菌核。老化时为浅褐色。状似云芝褐、白、黄相间。菌落边缘层叠质坚韧,个别有色素。膜状物(0.3×2cm)伸延和分泌红色液体。(2) 经 25℃~28℃ 培养,除肉眼可见菌落生长较(1)稍小外,其余未见有特殊。菌种在 6℃~10℃ 保存 2~3 个月后仍旺盛,但连续转种 3 代以上则明显减弱或不生长。

**2.1.2** (1) 置室内自然温度(25℃~31℃) 散射光下培养。菌落面部肉眼可见有子实体原基突起多处。(0.3~0.6cm×0.05~0.1cm) 出现黑褐色或膜状发亮物间杂。培养基 1.2.1 (2) 底部可见平行扭结黄白色 0.1cm 大小的菌索生长,且有少量白色分泌液。培养基 1.2.1 (3) 菌丝镜下观察有隔膜,易为结晶紫染色,在试管和培养基交界处易污染,菌落边缘极似云芝子实体边缘。

### 2.2 出菇培养

**2.2.1 母种扩大:** 将试管母种转接于出菇培养基,28℃~31℃ 经 127d 培养,菌丝长满全瓶或 80%~90%, 见图 1、图 2。

**2.2.2 室内散射光瓶栽培养基,** 见 1.2.2 (1)、(2), 可见黄、白、黑间杂重叠生长的菌膜周围有白色或黄色分泌液,并可见爬壁现象和子实体原基物形成突起。培养基 1.2.2 (3) 经 210d 培养,菌丝生长为微弱显淡白色,瓶壁及表面均未见菌膜和子实体原基形成。

**2.2.3 室外土埋栽培于 1985.5.12 晴天 28℃,** 使用经 127d 菌龄菌丝分别土栽 6 个花盆



图1 固体母种扩大培养,经木腐菌培养基所获菌丝生长良好可见子实体原基形成



图2 固体母种扩大培养,经木腐菌培养基所获菌丝生长良好可见子实体原基形成

中,结果均未见出菇。生物学效率为零。

### 3 白毒鹅膏菌毒性变异观察

#### 3.1 供试样品来源

白毒鹅膏菌(干品)1985年采自峨眉眉山。白毒鹅膏菌母种菌丝液(P.D.A培养基)四川。白毒鹅膏菌丝(55℃~60℃)干品广东河源。动物由四川省卫生防疫站动物房提供,体重为18~22g,健康小白鼠,每组6只雌雄各半随机分组。

#### 3.2 试验方法

样本剪碎,捣碎加水煮沸5min,再加水至20mL按5g/kg滤液,灌胃观察5d未死者处死解剖,由肉眼观察中毒症状,肝、肾脏器。结果见表2。

表2 白毒鹅膏菌急性毒力试验

| 品名              | 来源          | 灌胃量<br>g/kg | 中毒表现                  | 每组动物死亡数(只) | 致死率<br>% | 解剖所见          |
|-----------------|-------------|-------------|-----------------------|------------|----------|---------------|
| 白毒鹅膏菌(干品)       | 1985年3月峨眉眉山 | 5           | 松毛、食欲下降<br>萎靡、反应迟钝、嗜睡 | 5          | 83       | 肝肾肿大、肠系膜充血    |
| 白毒鹅膏菌培养物(P.D.A) | 1984年9月峨眉眉山 | 10          | 食欲下降                  | 0          | 0        | 有3只肝肾肿大、肠系膜充血 |
| 白毒鹅膏菌菌丝(木腐菌)    | 1985年广东河源   | 5           | 未见异常                  | 0          | 0        | 未见异常          |
| 白毒鹅膏菌菌丝(麦粒)     | 1985年峨眉眉山   | 5           | 未见异常                  | 0          | 0        | 未见异常          |

## 4 讨论

所有生物都无一不在特定条件下生存,草也不例外,其中最主要的有温度、水分、空气湿度、营养、pH、和一定光照条件环境等才能繁殖菌丝,生长子实体。本试验提示,白毒鹅膏菌在木腐菌培养基上生长良好,在斜面菌丝生长迟缓(0.8~1mm/d),可见团状层叠生长。1.2.2(2)生长速度虽慢但不易老化,可作保存菌种之用。1.2.2(1)宜扩种之用。在1.2.2(3)草腐菌培养基上基本不生长。以上是腐生类型还是与其他生物共生,未见前人报道。

母种斜面遮光无子实体原基形成。在散射光下,可见有多处子实体原基形成,在28℃时,经连续3代转种,则长势明显下降或不生长。若在6℃~10℃中,则虽经1~2个月后仍可生长良好。着色变异,母种一般不着色,但偶见红色分泌液体,个别可整个形成红色或出现膜条状物,有些可出现淡黄色,此一颜色多变机理有待进一步摸索。

白毒鹅膏菌毒力急性试验表明,天然干品动物致死率为83%。这与人类的致死率大致相同。但经人工栽培后的毒力变异依次为天然(剧毒)→母种(减毒)→菌丝(基本不显毒性),是我们没有真正掌握毒草产毒条件,还是在生物界普遍存在着变异特性,有待进一步研究。21世纪是生物技术的重心,它提示白毒鹅膏菌极具有深远的研究和开发价值。

### 参考文献

[1] 何介元,黄祖星,何晓玲.微生物学通报,1996,23(2):67~69.