

# Cadmium – ein Wachstumsfaktor für den Schiefknolligen Anischampignon *Agaricus abruptibulbus* (Peck) Kauffmann

Cadmium as a Growth Factor for the Mushroom *Agaricus abruptibulbus* (Peck) Kauffmann

Hans-Ulrich Meisch, Anne-Ruth Scholl und Johannes A. Schmitt

Fachbereich 15.2, Biochemie, der Universität des Saarlandes, D-6600 Saarbrücken 11

Z. Naturforsch. **36 c**, 765–771 (1981); eingegangen am 9. Juni 1981

Cadmium, *Agaricus*, Mushrooms, Mycelium, Zinc

Mycelium of *Agaricus abruptibulbus*, a mushroom which is known to accumulate cadmium, has been isolated and cultivated under definite conditions on agar plates or in a liquid medium in the absence and in presence of cadmium acetate. In presence of 0.5–1.0 mg/l Cd, mycelial growth of *A. abruptibulbus* is enhanced to 80% compared to the Cd-free controls, while above 4 mg Cd/l, the metal began to be inhibitory. The growth promoting effect of Cd was found to be independent from the supply of the organism with zinc.

During growth in presence of Cd, an efficient uptake of the metal into the mycelium took place, a maximal 300 fold enrichment being observed with 10 mg Cd/l. Similar tests were performed with zinc, thereby showing a correlation between the uptake of both elements by the mushroom.

## 1. Einleitung

Bedingt durch ein zunehmendes Umweltbewußtsein hat die Frage nach Aufnahme und Anreicherung von toxischen Schwermetallen durch lebende Organismen in den letzten Jahren einen großen Stellenwert erhalten. Im Rahmen solcher Untersuchungen stieß man zuweilen auf außergewöhnliche Metallgehalte, die nicht auf eine Umweltkontamination, sondern auf natürliche Anreicherungsmechanismen zurückzuführen sind [1, 2]. Ein solches Beispiel liefern verschiedene Pilze aus der Gruppe der Champignons mit extremen Cadmiumgehalten, wobei dieses Phänomen sogar als taxonomisches Merkmal erkannt wurde [3, 4]. Dabei fand sich weder ein Zusammenhang zwischen den Cd-Gehalten im Boden und denjenigen der Pilze noch eine Korrelation zwischen den Konzentrationen an Cadmium und den verwandten Metallen Kupfer und Zink in den Pilzfruchtkörpern [3]. Hierher gehören die Champignonarten *Agaricus macrosporus* (Großsporiger Champignon) und *A. abruptibulbus* (Schiefknolliger Anischampignon). Bei ersterem wurde das Cadmium gegenüber dem Boden um fast 300fach angereichert (nativer Cd-Gehalt im Mittel 58 mg/kg Trockenmasse), während für Zink der Anreicherungsfaktor bei 2 und für Kupfer

bei 10 lag [3]. Angesichts dieser spezifischen Cd-Anreicherung erhebt sich die Frage, ob das Metall für einige Champignonarten einen Wachstumsfaktor darstellt. Um dies prüfen zu können, wurden zunächst unter sterilen Bedingungen Myzelkulturen angelegt, um deren Wachstum unter spurenanalytischer Kontrolle mit definierten Cd-Zusätzen beurteilen zu können. Als Indikator für eine mögliche Wirkung des Cadmiums sollte zum einen die Trockengewichtsbildung des vegetativen Myzels in Flüssigkultur, aber auch der zeitliche Wachstumszuwachs des Pilzmyzels auf Agaroberflächen herangezogen werden. Interessant war weiterhin die Verfolgung der Cd-Aufnahme vom Nährsubstrat ins Myzel und deren Beeinflussung durch das nahe verwandte Zink.

## 2. Material und Methoden

*Isolierung des Pilzmyzels.* Zur Isolierung des Myzels wurde ein Fruchtkörper des Schiefknolligen Anischampignons (*Agaricus abruptibulbus* (Peck) Kauffmann) mit einem nativen Cd-Gehalt von 53 mg Cd/kg Trockengewicht (Herkunft: Kreis Blieskastel, östliches Saarland) herangezogen. Aus dem Inneren des Stiels schnitt man unter sterilen Bedingungen mit einem Skalpell mehrere Stückchen Pilzfleisch heraus und überführte sie in Petrischalen mit Malzagar. Die Inkubation im Dunkeln bei 21 °C erbrachte nach 10 Tagen einen etwa 1 cm breiten

Sonderdruckanforderungen an Dr. H.-U. Meisch.  
0341-0382/81/0900-0765 \$ 01.00/0



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

Hof von auswachsenden Myzelfäden. Nach weiterer Überimpfung und Sterilkontrolle wurde ein kleines Stück myzelbewachsenen Agars in ein Flüssigmedium eingetragen, wo es nach 4–6 Tagen unter den Bedingungen wie oben aushypfte und nach weiteren 6–8 Tagen Tochterkolonien bildete.

**Kultivierung der Pilze.** Das für die Anzucht des Impfmateri als und für die Wachstumsversuche auf Agarplatten verwendete Medium hatte die folgende Zusammensetzung:

Malzextrakt (Oxoid) 20 g/l; Purified Agar (Oxoid) 15 g/l.

Spurenelemente (mg/l): Fe (als Fe(III)-citrat) 1,00;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  1,56;  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  7,20;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  8,79; pH = 6,0.

Cadmium wurde immer als Cd-Acetat angeboten. Alle Chemikalien waren von Merck, Darmstadt (Reinheitsgrad p. a. oder suprapur). Gezüchtet wurde das Myzel auf Petrischalen (Polystyrol, 9 cm Ø) mit je 40 g Agarmedium pro Platte. Als Impfmateri al wurden aus der äußeren Randzone der Myzelfelder Agarwürfel von 3 mm Kantenlänge ausgestant und jeweils einer davon als Inoculum in das Zentrum einer Agarplatte übertragen. Kultiviert wurde bei 21 °C im Dunkeln.

Als Flüssigmedium diente eine Malzextraktlösung folgender Zusammensetzung: Malzextrakt und Spurenelemente wie oben, dazu  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  836 mg/l;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  478 mg/l; pH 5,6. Die Züchtung des Pilzmyzels erfolgte in 100 ml Erlenmeyerkolben (Pyrex-Glas), die je 12,5 ml der Nährlösung enthielten, bei 21 °C im Dunkeln. Beimpft wurde mit einer Myzelkolonie von 1,5–2 mm Ø aus einer Vorkultur in Flüssigmedium.

**Reinigung der Nährlösung.** Zur Entfernung von Cd-Spuren wurde die für die Wachstumsversuche von *A. abruptibulbus* in Flüssigkultur verwendete Nährlösung nach Koch und Koch-Dedic [5] durch Ausschütteln mit Dithizon in Chloroform bei pH 7 gereinigt. Danach setzte man die Spurenelemente steril hinzu und substituierte zusätzlich Cobalt und Molybdän (0,02 mg/l  $\text{CoCl}_2$  und 0,01 mg/l  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Der pH-Wert der Lösung wurde schließlich mit 2 N HCl auf 5,6 eingestellt.

**Analytische Verfahren.** Die Flächen der Myzelkulturen auf Agarplatten wurden zu bestimmten Zeiten auf der Rückseite der Petrischalen anmarkiert und nach Versuchsende planimetrisch ausgewertet (Ott-Planimeter, Noniuseinheit = 4 mm<sup>2</sup>).

Zur Bestimmung des Myzeltrockengewichts in Flüssigkulturen wurde das Myzel abgesaugt, viermal mit dest. Wasser, zweimal mit EDTA-Lösung (1 mg EDTA/ml) und zweimal mit bidest. Wasser gewaschen. Das letzte Waschwasser wurde jeweils auf die Abwesenheit von Cadmium überprüft. Dann wurde bei 80 °C 24 h getrocknet und ausgewogen. Im Anschluß an die Trockengewichtsbestimmung wurden die Cd- und Zn-Gehalte ermittelt. Dazu wurde das trockene Myzel bzw. auch die gebildeten Primordien in verschlossenen Glasgefäßen (25 ml) unter Zusatz von 1 ml 65-proz.  $\text{HNO}_3$  (suprapur, Merck) 180 min bei 80 °C aufgeschlossen. Die klare Lösung wurde nach Verdünnung auf 10 ml mit bidest. Wasser direkt zur Metallanalyse verwendet.

Die Metallbestimmung erfolgte mittels Atomabsorptionsspektroskopie im Gerät 420 der Fa. Perkin-Elmer (Bodenseewerk Überlingen) mit Flammenansatz (Azetylen/Luft) bzw. mit Graphitrohrküvette HGA-74.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Flüssigkulturen

Zunächst wurde *Agaricus abruptibulbus* unter den vorher ausgetesteten optimalen Wachstumsbedingungen (pH 5,6; 21 °C, Dunkelkultur) in Flüssigmedium gezüchtet und der Einfluß verschiedener Zusätze an Cd-Acetat auf das Myzeltrockengewicht untersucht. Hierzu wurde ein Konzentrationsbereich zwischen 0,1 und 10 mg Cd/l ( $\cong 9 \times 10^{-7}$ – $9 \times 10^{-5}$  M) gewählt. Nach 32tägigem Wachstum ergab sich eine deutliche Abhängigkeit der Myzelbildung vom Cd-Angebot (Abb. 1): Durch geringe Cd-Zusätze wurde das Wachstum spürbar gefördert, wobei sich ein optimaler Effekt im Bereich zwischen 0,5 und 1 mg Cd/l abzeichnete. Maximal wurden mit 0,75 mg Cd/l ( $\cong 7 \times 10^{-7}$  M) 97% mehr Trockengewicht gebildet als in den Kontrollen. Im Bereich zwischen 1,0 und 2,5 mg Cd/l nahm das Myzelwachstum zwar wieder ab, lag aber noch über demjenigen der Kontrollen, während in Kulturen, die mehr als 4 mg Cd/l enthielten, das Wachstum zunehmend gehemmt wurde. Um den Effekt der Cd-bedingten Wachstumssteigerung statistisch abzusichern, wurden die Versuche mit je 10 Kontrollen und 10 Kulturen mit 0,5 mg Cd/l unter sonst gleichen Bedingungen wiederholt und nach einer Wachstumszeit von 27 Tagen ausgewertet. Hierbei

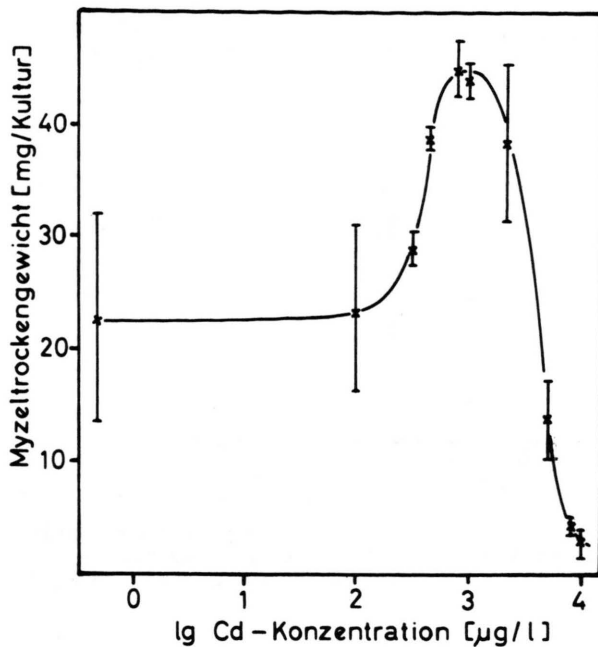


Abb. 1. Myzeltrockengewicht von *A. abruptibulbus* in Abhängigkeit verschiedener Cd-Konzentrationen in Flüssigkultur; Kulturbedingungen: 32 Tage bei 21 °C im Dunkeln; Mittelwerte und Standardfehler aus je 3 Versuchen.

erhielten die Kontrollen Myzeltrockengewichte von  $26,1 \pm 2,8$  mg/Kultur, während in Gegenwart von 0,5 mg Cd/l  $39 \pm 3,2$  mg TG gebildet wurden. Die so ermittelte, Cd-bedingte, 50-proz. Wachstumssteigerung wurde mittels t-Test auf Signifikanz geprüft und ergab mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $< 1\%$  eine hochsignifikante Unterscheidung der Mittelwerte beider Versuchsreihen. Somit ist ein wachstumsfördernder Einfluß des Spurenmetalls Cadmium auf das Myzel von *A. abruptibulbus* in Flüssigkultur als gesichert anzusehen.

### 3.2. Myzelkultur auf Agarplatten

Für die Versuche auf Agarplatten wurde ein Medium verwendet, das zuvor nicht von Cd-Spuren befreit worden war. Da Agar bei Normaltemperatur in Wasser schwerlöslich ist, versagt hier die Methode der Dithizon/Chloroform-Extraktion. Nach eigenen Messungen enthielt der käufliche Agar (Oxoid)  $36 \mu\text{g}$  Cd/kg und brachte somit in ein 1,5-proz. Kulturmedium 0,5  $\mu\text{g}$  Cd/l ein. Der Gesamtgehalt an Cd wurde im Agarmedium mit  $6 \mu\text{g}$  Cd/l ermittelt, eine Konzentration, die nach den Ergeb-

nissen der Flüssigkulturen noch keine signifikante Wachstumssteigerung hervorruft. Mit Ausnahme der Kontrollen wurden den Nährmedien vor dem Autoklavieren abgestufte Mengen an Cd-Acetat (0,05–10 mg Cd/l) zugesetzt, die Platten gegossen, beimpft und 17 Tage bei 21 °C im Dunkeln kultiviert. Die planimetrische Auswertung der Myzelflächen in Abhängigkeit von der Cd-Konzentration sowie nach verschiedenen Kulturtagen zeigt Abb. 2a. Man erkennt, daß 0,5–1 mg Cd/l das Myzelwachstum von *A. abruptibulbus* unabhängig von der Kulturdauer optimal fördern. Die Cd-bedingte Wachstumssteigerung des Myzels auf Agarplatten mit einem Cd-Gehalt von 0,5 mg/l hat am 15. Kulturtag mit 79% Zunahme gegenüber den Kontrollen ihren höchsten Wert erreicht, um danach wieder abzunehmen (Abb. 2b). Durch einen t-Test ließen sich auch hier die Unterschiede zwischen den Kontrollen und den Ansätzen mit 0,5 bzw. 1,0 mg Cd/l statistisch sichern ( $\alpha < 0,1\%$ ). Oberhalb 5 mg Cd/l setzte das Spurenmetall durch seine toxische Wirkung die Wachstumsraten herab.

### 3.3 Cd-Gehalt in Myzel und Primordien

Da der Cd-Gehalt natürlicher Substrate wildwachsender Champignonarten nur in einem sehr engen Bereich variiert [3], ließen sich anhand dieser Messungen keine Zusammenhänge zwischen dem Cd-Gehalt der Böden und demjenigen entsprechenden Pilzfruchtkörper erkennen. Es stellte sich daher die Frage, welchen Einfluß ein variiertes Cd-Angebot auf die Cd-Gehalte des unter Laborbedingungen gezüchteten Pilzgeflechts ausübt. Es wurde zunächst geprüft, in welchem Ausmaß das in Flüssigkultur herangezüchtete Myzel, das bei wildwachsenden Pilzen mit dem Substrat eng verflochten und somit einer Cd-Bestimmung nicht zugänglich ist, das Spurenelement anzureichern vermag. Im weiteren wurden auch Fruchtkörperansätze (Primordien), die sich auf Agarkulturen nach längerer Kulturzeit (90 Tage) gebildet hatten, mit einer Teflonpinzette vorsichtig von der Agaroberfläche abgelöst und auf ihren Cd-Gehalt untersucht (Tab. I). Tab. I. zeigt, daß sowohl der Cd-Gehalt des Myzels als auch derjenige der Primordien mit der Cd-Konzentration im Nährmedium kontinuierlich ansteigt. Nach Angebot von 10 mg Cd/l Nährmedium wurde im Myzel ein Cd-Gehalt von ca. 3 g Cd/kg Trockengewicht ermittelt, in den Primordien war die Konzentration

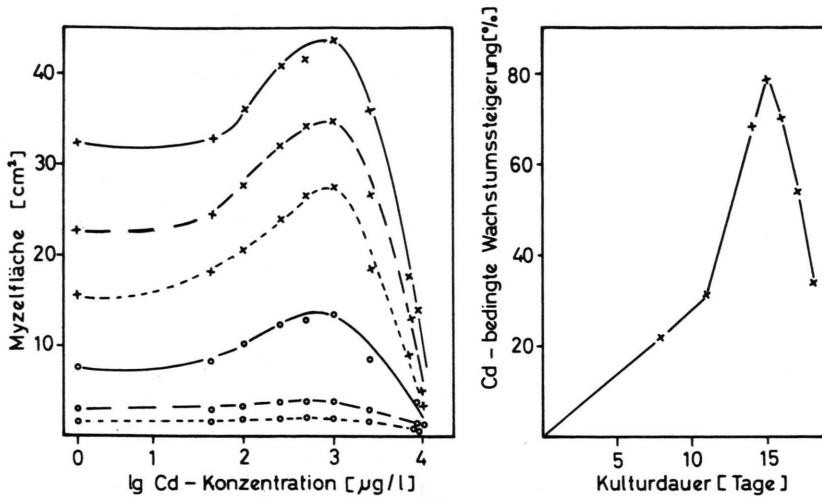


Abb. 2a. Ausbreitung des Myzels von *A. abruptibulbus* auf Agarplatten in Abhängigkeit von der Cd-Konzentration im Nährmedium nach verschiedenen Kulturzeiten. Bedingungen: Dunkelkultur bei 21 °C; Kulturdauer (Tage): ○ - - - ○, 8; ○ - - - ○, 11; ○ — ○, 14; x - - - x, 16; x - - - x, 17; x — x, 18. b. Cd-bedingte, proz. Wachstumssteigerung in Abhängigkeit von der Kulturdauer.

mit etwa 5,3 g Cd/kg sogar fast doppelt so hoch. Man erkennt zudem, daß die Cd-Gehalte der Primordien bei allen untersuchten Cd-Konzentrationen über denjenigen des vegetativen Myzels liegen (max. 7,5fach bei 1 mg Cd/l). Gegenüber dem Gehalt im Nährmedium wird Cd im Myzel bis zu 300fach, in den Primordien sogar bis zu 1000fach angereichert. Tab. I läßt weiterhin erkennen, daß sich bei dem für optimales Wachstum erforderlichen Cd-Angebot von 0,5–1 mg/l die Cd-Konzentrationen im Myzel zwischen 70 und 96 mg/kg bewegen. In diesem Bereich stagniert zunächst der

Cd-Gehalt im Pilzgewebe mit steigender Cd-Konzentration im Medium, um oberhalb 5 mg Cd/l wieder steil anzusteigen. Dies gilt gleichermaßen auch für die Cd-Gehalte in den Primordien.

### 3.4. Zusammenhang mit Zink

Um zu prüfen, ob Anreicherung und wachstumsfördernde Wirkung des Cadmiums in Myzel und Primordien von *A. abruptibulbus* auf einer Verwechslung dieses Elements mit dem chemisch nahe verwandten Zink beruhen, wurden die zuvor be-

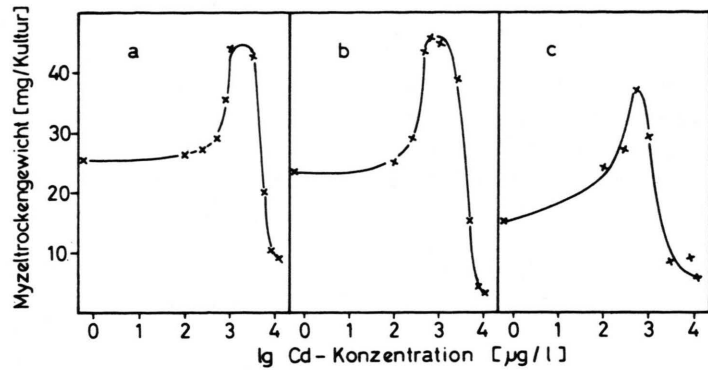
Tab. I. Cadmium-Gehalte in Myzel (Flüssigkultur) und Primordien (Agarkultur) von *A. abruptibulbus* nach verschiedenem Cd-Angebot im Nährmedium. Kulturbedingungen: 30 Tage (Flüssigkultur) bzw. 90 Tage (Agarkultur) bei 21 °C im Dunkeln; Mittelwerte und Standardfehler aus je 3 Meßreihen.

Cd-Konzentration im Nährmedium [mg/l]	Cd-Gehalt im Myzel [mg/kg TG*]	Anreicherungsfaktor Myzel/Medium	Cd-Gehalt in den Primordien [mg/kg TG*]	Anreicherungsfaktor	
				Primordien/ Medium	Primordien/ Myzel
Kontrolle	0,3 ± 0,02	—	0,7 ± 0,2	—	—
0,10	20 ± 1	200	68 ± 2	682	3,4
0,25	45 ± 7	182	220 ± 26	880	4,8
0,50	70 ± 4	141	371 ± 40	739	5,2
0,75	79 ± 6	106	398 ± 50	530	5,0
1,00	96 ± 1	96	715 ± 29	714	7,5
2,50	248 ± 42	99	1122 ± 333	449	4,5
5,00	775 ± 110	155	3058 ± 311	616	3,9
7,50	1405 ± 71	187	4450 ± 252	593	3,2
10,00	3080 ± 403	308	5246 ± 421	524	1,7

\* TG, Trockengewicht.



Abb. 3. Myzelwachstum von *A. abruptibulbus* im Flüssigmedium in Abhängigkeit vom Cd- und Zn-Angebot. Kulturbedingungen: 32 Tage bei 21 °C im Dunkeln; gereinigte Nährlösung mit Zusatz von 0,1 (a), 1,0 (b) und 4,0 (c) mg Zn/l. Mittelwerte aus je 3 Versuchen.



beschriebenen Versuchsreihen auch mit variiertem Zn-Konzentration durchgeführt. Die mit Dithizon gereinigte Nährlösung enthielt neben 0,5 µg Cd/l noch 20 µg Zn/l. Hier erzielte man unabhängig von verschiedenen Cd-Zusätzen kein Myzelwachstum – ein Hinweis darauf, daß ein weitreichender Zn-Mangel nicht durch Cd behoben werden kann. Im folgenden wurden daher drei getrennten Versuchsreihen jeweils 0,1, 1,0 bzw. 4,0 mg Zn/l zugesetzt. Ermittelt wurden neben dem Myzeltrockengewicht (als Wachstumsparameter) die Cd- und Zn-Gehalte in der Trockensubstanz. Die Ergebnisse sind in Abb. 3 bzw. Tab. II dargestellt.

In den Versuchsreihen mit verschiedenem Zn-Zusatz (als  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) zeigte das Myzel in jedem Fall Cd-bedingte Wachstumssteigerungen (Abb. 3). Selbst bei einem Zn-Angebot von 4 mg/l, das schon leicht wachstumshemmend wirkte, konnte durch Cd-Zusatz von 0,5 mg/l eine Steigerung der Myzeltrockenmasse von 140% gegenüber den Kon-

trollen beobachtet werden. Dies spricht dafür, daß die wachstumsfördernde Wirkung des Cadmiums nicht mit einer Funktion des Zinks zusammenhängt.

Die Korrelation der Cd- bzw. Zn-Gehalte des Pilzmyzels mit den Angeboten an beiden Spurenelementen (Tab. II) läßt folgende Aussagen zu:

Die Cd-Gehalte sind bei niedrigerem Zn- und Cd-Angebot (0,1 mg Zn/l bzw. 1 mg Cd/l) signifikant höher als in Gegenwart von 1 bzw. 4 mg Zn/l. Allgemein erhöht sich mit steigendem Cd-Gehalt im Medium auch die Cd-Konzentration im Myzel, wobei nahezu unabhängig vom Zn-Angebot oberhalb 2,5 mg Cd/l Nährlösung die Cd-Gehalte sprunghaft ansteigen (s. auch Tab. I). Weiterhin fällt auf, daß die Zn-Gehalte im Myzel der Cd-freien Kontrollen höher sind als nach Angebot niedriger Cd-Konzentrationen. Mit steigendem Cd-Angebot durchlaufen die Zn-Gehalte zunächst ein Minimum (bei 1–2 mg Cd/l), um bei weiterer Cd-Zugabe wieder stark anzusteigen.

Tab. II. Cd- und Zn-Gehalte im Myzel von *A. abruptibulbus* nach Wachstum in Flüssigmedium verschiedener Cd- und Zn-Gehalte. Kulturbedingungen s. Abb. 3. Mittelwerte und Standardfehler aus je 3 Versuchen.

Cd-Konz. im Medium [mg/l]	Cd- bzw. Zn-Gehalte (mg/kg) im Myzel* nach einem Zn-Angebot (mg/l) von					
	0,1		1,0		4,0	
	Cd	Zn	Cd	Zn	Cd	Zn
Kontrolle	0,4 ± 0,3	584 ± 350	0,3 ± 0,02	719 ± 44	0,5 ± 0,07	1686 ± 402
0,10	36 ± 7	316 ± 115	20 ± 3	461 ± 100	24 ± 0,2	573 ± 271
0,25	58 ± 3	337 ± 147	46 ± 12	488 ± 227	45 ± 5	751 ± 157
0,50	137 ± 11	115 ± 23	70 ± 7	414 ± 136	73 ± 4	452 ± 44
0,75	160 ± 12	162 ± 27	79 ± 10	268 ± 65	—	—
1,00	193 ± 10	161 ± 106	96 ± 2	216 ± 29	126 ± 3	519 ± 65
2,50	260 ± 23	83 ± 20	249 ± 73	229 ± 27	271 ± 2	560 ± 145
5,00	727 ± 46	226 ± 106	776 ± 190	836 ± 271	579 ± 31	695 ± 197
7,50	1032 ± 28	983 ± 669	1045 ± 123	2166 ± 643	897 ± 123	1794 ± 944
10,00	1928 ± 164	3179 ± 481	3081 ± 698	3719 ± 472	1614 ± 302	983 ± 176

\* bez. auf Trockengewicht.

#### 4. Diskussion

Die bekannte rassenspezifische Cadmiumanreicherung in einigen Pilzarten der Gattung *Agaricus* berechtigt zu der Frage nach fördernden oder sogar essentiellen Eigenschaften des Spurenelements in diesen Organismen. Da die Primordienbildung und das Wachstum der Fruchtkörper auf natürlichen wie künstlichen Substraten von einer Reihe schwer zu kontrollierender edaphischer [6, 7] sowie physikalischer Faktoren [8, 9] abhängt, wurde hier zunächst versucht, den Einfluß des Cadmiums am vegetativen Myzel zu testen, das von einem Fruchtkörperisolat ausgehend, in Flüssigkultur und auf Agarplatten weitergezüchtet wurde.

Unter diesen Bedingungen läßt sich die Frage nach einer essentiellen Funktion des Cadmiums nicht eindeutig beantworten, da auch die gereinigte Nährlösung noch Spuren von Cadmium aufwies (ca.  $0,5 \mu\text{g Cd/l}$ ), das vom Myzel angereichert werden kann (s. Tab. I). Die Beobachtung des Wachstums in völlig Cd-freier Umgebung war daher nicht möglich. Klar beantworten läßt sich dagegen die Frage einer wachstumsfördernden Wirkung des Spurenmetalls auf das Myzel von *A. abruptibulbus*. Hier erzielte man sowohl auf Agarplatten als auch in Flüssigkultur eine signifikante Wachstumssteigerung in Gegenwart von Cadmium, die statistisch abgesichert, bei einem Angebot von  $0,5\text{--}1 \text{ mg Cd/l}$  optimal erschien. Welcher biochemische Prozeß hier vom Cadmium positiv beeinflusst wird, bleibt jedoch noch offen, da von solchen Beobachtungen im Pflanzenreich bisher wenig bekannt ist.

Hinweise auf einen möglichen Angriffspunkt des Cadmiums im Zellstoffwechsel könnten in den Ergebnissen solcher Untersuchungen zu finden sein, die die Wirkung des Metalls auf spezielle Enzyme zum Gegenstand haben. So stellte Webster [10] fest, daß  $\text{Cd}^{2+}$  neben  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  und  $\text{Cu}^{2+}$  zu denjenigen zweiwertigen Ionen gehört, die einen fördernden Einfluß auf die Acetyl-CoA-Synthetase-Reaktion ausüben. Neuere Untersuchungen an Sojabohnenkulturen, denen Cd im Nährmedium verabreicht wurde, zeigten, daß Cd in einer Konzentration von  $50\text{--}150 \mu\text{g/l}$  sowohl die Respirationsrate als auch die Aktivität einzelner Enzyme wie der Malatdehydrogenase, der Sauren Phosphatase, der Ribonuklease und der Peroxidase steigert [11]. Neben der fördernden Wirkung des Cadmiums interessieren auch seine toxischen Eigenschaften. Trotz zunehmender

wachstumshemmender Wirkung traten zwischen 4 und  $10 \text{ mg Cd/l}$  auf den Agarplatten noch Primordien auf, während das Myzelwachstum, wenn auch stark retardiert, noch bis zu einem Cd-Angebot von  $50 \text{ mg/l}$  möglich war. Ähnlich hohe Toleranzgrenzen gegenüber dem Cd-Gehalt im Nährmedium wurden bei der Grünalge *Chlorella pyrenoidosa* gefunden, die noch in Gegenwart von  $5,4 \text{ g Cd/l}$  wächst [12], sowie bei *Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Bacillus* und *Enterobacter*, die Cd-Konzentration bis zu  $5 \text{ mg/l}$  ohne schädigende Wirkung ertrugen, und noch bei Cd-Konzentrationen bis zu  $0,5 \text{ g/l}$  wuchsen [13]. Allerdings sind hierbei keine Aufnahmestudien durchgeführt worden, so daß diese hohe Toleranz auch durch Limitierung der Cd-Aufnahme zustande gekommen sein könnte.

Die Bestimmung des Cd-Gehaltes im Pilzmyzel (Flüssigkultur) zeigte jedoch, daß das im Nährmedium angebotene Spurenmittel sehr effektiv aufgenommen und in den Zellen angereichert wird. Vergleicht man die für optimales Wachstum erforderliche Cd-Zulage ( $0,5\text{--}1 \text{ mg Cd/l}$ ) mit den zugehörigen Metallgehalten im Myzel ( $70\text{--}96 \text{ mg Cd/kg}$ ), so lassen sich Anreicherungsfaktoren von  $100\text{--}200$  berechnen (Tab. I). Sowohl die Myzelgehalte an Cd als auch die Anreicherungsfaktoren liegen somit in der gleichen Größenordnung wie sie bei wildwachsenden Fruchtkörpern der gleichen Pilzart im Vergleich zum Standort gefunden worden waren [2]. Allerdings steigen die Cd-Konzentrationen in den auf Agarplatten gebildeten Primordien von *A. abruptibulbus* im Vergleich zum Myzel nochmals um den Faktor 2 bis 7 an (Maximalgehalte bis zu  $0,5\%$  Cd!). Da reife Fruchtkörper von *A. abruptibulbus* aber nur bis etwa  $80 \text{ mg Cd/kg}$  enthalten [2], bleibt zu vermuten, daß schon die Primordien das Cd-Reservoir für den sich entfaltenden Fruchtkörper darstellen, ohne daß größere Mengen an diesem Metall weiterhin vom Myzel in den Fruchtkörper transportiert werden. Hinweise dafür gibt es aus früheren Untersuchungen, wo jüngere Fruchtkörper der Cd-reichen Champignonarten immer höhere Konzentrationen an diesem Metall aufwiesen als alte Exemplare der gleichen Art [2]. Offensichtlich besitzen die Pilze ein Transportsystem, das den Cd-Fluß über das Myzel in die Fruchtkörper in gewissen Grenzen kontrolliert, denn mit steigender Cd-Konzentration im Nährmedium (bis  $1 \text{ mg Cd/l}$ ) erhöht sich der intrazelluläre Metallgehalt zunächst nur langsam, um erst oberhalb  $2,5 \text{ mg Cd/l}$  steil

anzusteigen (Tab. I und II). Cd-Konzentrationen von mehr als 2 mg/kg werden jedoch in natürlichen Substraten normalerweise nicht beobachtet [1, 2].

Da in der Literatur Beispiele einer gegenseitigen Vertretbarkeit von  $\text{Cd}^{2+}$  und anderen zweiwertigen Ionen mit ähnlichem Radius bekannt sind [14, 15], wurde im Falle des chemisch nahe verwandten Zinks überprüft, wie sich unterschiedliche Zn-Konzentrationen im Medium auf die Cd-bedingte Wachstumssteigerung und die Cd-Anreicherung im Pilzmyzel auswirken. Dabei zeigte sich ganz klar, daß der Cd-Effekt auf das Wachstum nicht durch Zink beeinflusst wird und daß Cadmium seinerseits nicht in der Lage ist, einen Zn-Mangel zu beheben. Damit läßt sich sicher ausschließen, daß die Cd-bedingten Wachstumssteigerungen bei *A. abruptibulbus* auf einen Synergismus mit dem verwandten Zink zurückzuführen sind.

Die Cd-Anreicherung ist jedoch im angebotenen Konzentrationsbereich bis 1 mg Cd/l von der Zn-

Konzentration abhängig: Der Cd-Gehalt im Myzel liegt bei einem Zn-Angebot von 0,1 mg/l wesentlich höher als in Gegenwart von 1 oder 4 mg Zn/l. Dieses Phänomen könnte damit erklärt werden, daß es bei *Agaricus* für Cd und Zn getrennte Aufnahmesysteme gibt, daß aber das Zn-Transportsystem bei Zn-Mangel in der Nährlösung auch Cd transportiert, während es bei hohem Zn-Angebot mit dem Transport dieses Metalls ausgelastet ist. Die Tatsache, daß die Cd-Gehalte im Myzel bei Zn-Konzentrationen von 1 bis 4 mg Zn/l kaum Unterschiede aufweisen, deutet darauf hin, daß diese Pilze für Cd ein eigenes Transportsystem besitzen, aus dem das Cd auch durch Zn-Überschuß nicht verdrängt werden kann. In den Bereichen höherer Cd-Konzentrationen läßt sich eine Korrelation zwischen dem Zn-Gehalt im Medium und dem Cd-Gehalt im Myzel nicht mehr erkennen, wahrscheinlich weil hier Diffusionsvorgänge gegenüber den kontrollierten Transportvorgängen überwiegen.

- [1] H. J. M. Bowen, *Environmental Chemistry of the Elements*, p. 237, Academ. Press, New York 1979.
- [2] J. A. Schmitt, H.-U. Meisch u. W. Reinle, *Z. Naturforsch.* **32 c**, 712 (1977).
- [3] H.-U. Meisch, J. A. Schmitt u. W. Reinle, *Z. Naturforsch.* **32 c**, 172 (1977).
- [4] R. Seeger, *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **166**, 23 (1978).
- [5] O. G. Koch u. G. A. Koch-Dedic, *Handbuch der Spurenanalyse*, Bd. 2, S. 1459, Springer-Verlag, Berlin 1974.
- [6] W. A. Hayes, *Mushroom Sci.* **8**, 663 (1972).
- [7] G. Eger, *Naturwissenschaften* **46**, 498 (1959).
- [8] W. Koch, *Arch. Mikrobiol.* **30**, 409 (1958).
- [9] R. L. Edwards, *Mushroom Sci.* **1**, 37 (1950).
- [10] L. T. Webster, *J. Biol. Chem.* **242**, 1232 (1967).
- [11] K. C. Lee, A. B. Cunningham, G. M. Paulsen, G. H. Liang u. R. B. Moore, *Physiol. Plant.* **36**, 4 (1976).
- [12] U. Gerhards u. H. Weller, *Z. Pflanzenphysiol.* **82**, 292 (1977).
- [13] H. Babich u. G. Stotzky, *Appl. Environ. Microbiol.* **33**, 681 (1977).
- [14] C. Lazdunski, C. Petitclerc u. M. Lazdunski, *Eur. J. Biochem.* **8**, 510 (1969).
- [15] M. C. Schaub u. M. Ermini, *Biochem. J.* **111**, 777 (1969).