

Acumulación de metales pesados en macromicetos comestibles y factores que influyen en su captación

Alonso J, García MA, Pérez-López M y Melgar MJ*

Área de Toxicología, Facultad Veterinaria. Universidad Santiago de Compostela. C/ Carvalho Calero s/n 27002-LUGO.

Tfno.: 982252231 ext 22206. Fax: 00 34 982252195. E-mail: mjmelgar@lugo.usc.es

Recibido 20 de Junio de 2003 / Aceptado 24 de Octubre de 2003

Resumen: Se presenta un estudio sobre la presencia de metales pesados (cadmio, mercurio, plomo, cobre y zinc) en 238 muestras de carpóforos pertenecientes a 28 especies comestibles de hongos silvestres en la provincia de Lugo. El método analítico para la determinación de metales ha sido la Voltamperometría de redisolución anódica. Se ha estudiado la incidencia de los siguientes factores en la acumulación de metales en los hongos: especie, ecología (micorrízicas, saprófitas terrícolas, saprófitas lignícolas y saprófitas cultivadas) y parte anatómica del carpóforo (himenóforo y resto del carpóforo). Las especies saprófitas terrícolas muestran las máximas concentraciones metálicas, siendo las más bajas las de las especies lignícolas y cultivadas. Individualmente las especies más relevantes han sido: *Agaricus macrosporus* para el cadmio, *Boletus pinophilus*, para el mercurio, *Coprinus comatus* y *Lepista nuda* para el plomo, *Macrolepiota procera* para el cobre, y *Calvatia utriformis* y *Lactarius deliciosus* para el zinc. El himenóforo es la parte anatómica que muestra mayores niveles de metales.

Palabras clave: Macromicetos comestibles, metales pesados, voltamperometría, factores de bioconcentración (FBC).

Abstract: Macrofungi as potential biomediation agent in compost material contaminated with heavy metals. A study on the presence of heavy metals (cadmium, mercury, lead, copper and zinc) in 238 samples from 28 species of edible wild mushrooms from the Province of Lugo, is presented. An anodic stripping voltammetric technique was used. The following factors were considered: species, ecology (mycorrhizals, terrestrial saprophytes, and cultivated and wild saprophytes) and morphological portion (hymenium and the rest of the fruit body). Wild saprophytic species showed higher levels than mycorrhizals species, with the cultivated species being those with lower levels. The highest levels of metal were found in the following species: Cadmium, *Agaricus macrosporus*; mercury, *Boletus pinophilus*; lead *Coprinus comatus* and *Lepista nuda*; copper; *Macrolepiota procera*; and zinc, *Calvatia utriformis* and *Lactarius deliciosus*. Hymenophore was always the morphological portion that contained the highest levels of metal.

Key words: Edible mushrooms, heavy metals, voltammetric technique, bioconcentration factors (BCF)

Introducción

Los metales pesados son elementos potencialmente tóxicos, cuya presencia en el medio ambiente se ha incrementado notablemente en las últimas décadas, fundamentalmente por la acción del hombre. La contaminación metálica supone una amenaza medioambiental importante para los seres vivos, ya que diversos metales que son micronutrientes esenciales, como el cobre y el zinc, resultan tóxicos en concentraciones elevadas, mientras que otros, como cadmio, plomo y mercurio, son tóxicos a dosis mínimas.

Entre los organismos presentes en los ecosistemas terrestres son particularmente destacables los macromicetos, por su ubicuidad y extensa e íntima integración en el medio. El micelio de estos hongos puede captar y bioacumular los metales pesados, apareciendo posteriormente en los carpóforos o setas, en concentraciones a veces muy superiores a las del medio.

La captación de metales pesados por los hongos y la presencia en los carpóforos que éstos producen, depende de una serie de factores medio ambientales y del propio hongo [1-7]. Los primeros determinan la movilidad y disponibilidad de los metales y los segundos definen la mayor capacidad acumuladora de los hongos respecto a las plantas y la diferente aptitud captadora mostrada por las distintas especies.

Inicialmente los metales son fijados por grupos funcionales (fosfato, carboxil, amino y especies diéster de éstos) de los componentes de la pared celular de los hongos, sobre todo polisacáridos como la quitina [8]. Parte de ellos serán transportados al interior de la célula y su traslocación a los carpóforos se ve favorecida por la comunicación orgánica que existe en todo el micelio. La existencia de proteínas, polipéptidos y otras macromoléculas implicadas en la captación de algunos metales, será el principal factor que determine la gran capacidad de acumulación que muestran algunas especies [9-13]. La edad, el grado de expansión y la distribución del micelio en el substrato, así como el tamaño, edad y región anatómica del carpóforo, también influyen significativamente en la presencia de metales pesados [1, 14-16].

*A quien dirigir la correspondencia.

Son, por tanto, múltiples los factores que intervienen, y la interacción de todos ellos determinará la capacidad de captación y acumulación de los metales en los hongos. Muchos de estos factores aun no son bien conocidos, y la importancia biológica y ecológica que puedan tener algunos metales en los hongos es aún una incógnita.

Material y métodos

Muestreo

Se seleccionaron 28 especies de macromicetos frecuentes en las zonas de estudio, comestibles y/o con interés comercial: 15 micorrízicas y 13 saprófitas, de las cuales 9 son terrícolas, 2 lignícolas y 2 cultivadas.

Las zonas de muestreo se distribuyeron en 2 grandes áreas: un área principal en el término municipal de Lugo y alrededores, y un área secundaria en el sur de la provincia, en el municipio de Quiroga. La selección de estas zonas se estableció siguiendo criterios de disponibilidad de las especies y de exposición a contaminación, distinguiéndose 2 tipos de zonas: 1. Zonas expuestas a contaminación antropogénica, es decir, zonas urbanas y zonas anexas a carreteras y, 2. Zonas libres de contaminación aparente, que serían zonas campestres o forestales alejadas de núcleos urbanos, carreteras u otras fuentes de contaminación. Estas zonas se dividieron en 32 subzonas dependiendo de las características del hábitat, de tal forma que se recogieron un total de 238 muestras de carpóforos y 56 muestras de suelos (una o más por subzona dependiendo de la extensión de la misma). Las muestras de macromicetos cultivados se obtuvieron en los mercados locales.

Preparación de las muestras

Las muestras se prepararon según el método descrito por García y col.[4]: los carpóforos se limpiaron y se separaron dos partes anatómicas (himenóforo, o zona fértil en donde se forman las esporas sexuales y el resto del carpóforo). Posteriormente se procedió a la homogeneización y conservación de las muestras en congelación.

Las muestras de suelos se recogieron mediante extractor, obteniéndose un volumen constante correspondiente a los 10 cm superficiales.

Para la mineralización de las muestras de carpóforos se procedió a una digestión abierta con mezcla sulfonítrica (1:4) para el análisis de mercurio [6], y calcinación en horno de mufla a 425 °C y disolución de cenizas en HCl 0,1 N para el análisis de los demás metales.

En muestras de suelos la digestión abierta se realizó con agua regia (HCl:HNO₃ 3:1) para el análisis de todos los elementos.

Análisis

La determinación de los metales se llevó a cabo mediante voltamperometría de redisolución anódica de impulso diferencial (equipo Metrohm VA 693 processor acoplado a stand VA 694), con electrodo de gota de mercurio (HMDE) para el análisis de Zn, Cd, Pb y Cu, y con electrodo rotativo de oro para el análisis de Hg.

Las condiciones de trabajo fueron las descritas por Alonso y col. [6] y Pérez-López y col. [17], estando los potenciales de pico localizados a -1000 mV para el zinc, -600 mV para el cadmio, -400 mV para el plomo, -100 mV para el cobre y 600 mV para el mercurio.

En el análisis de Zn, Cd, Pb y Cu se utilizó tampón acetato para ajustar el pH de las muestras, CH₃COOH (2 mol/l):NH₃ (1 mol/l). Para la determinación del Hg, inmediatamente antes del análisis se añade a cada muestra 0,4 ml de EDTA (0,1 mol/l), 0,2 ml de ácido perclórico (70%) y 0,1 ml de ClNa (0,1 mol/l).

La cuantificación se realizó mediante el método de adiciones estándar, empleando disoluciones patrón a las concentraciones adecuadas.

La calidad del método se valoró mediante el estudio de los parámetros de sensibilidad (límite de detección), exactitud (material de referencia del líquen *Evernia prunastri* y recuperaciones analíticas) y precisión (coeficiente de variación). El resumen de este estudio se muestra en la tabla 1.

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos del análisis por duplicado de las diversas partes anatómicas de las 238 muestras de carpóforos y del análisis de las 56 muestras de suelos, se resumen en la tabla 2.

Se observa cómo las mayores concentraciones de metales se encuentran en himenóforo, siendo los valores medios especialmente elevados en mercurio, superiores a los encontrados habitualmente en otros organismos animales o vegetales. A partir de los datos de suelos y carpóforos, es posible calcular los factores de bioconcentración o FBC (cociente entre la concentración metálica en carpóforo y la concentración en el suelo de crecimiento), que muestran el carácter bioacumulador o bioexcluyente de estos organismos. En la tabla 3 se resumen estos factores, observando que los hongos se comportan como activos bioacumuladores de todos los metales exceptuando el plomo, para el que se muestran como bioexcluyentes. Este hecho pone de manifiesto que los macromicetos muestran escasa aptitud captadora para el plomo, unido a la baja movilidad y disponibilidad de este metal en el suelo.

A partir de los resultados obtenidos, se valoran a continuación los factores que afectan a los contenidos de metales pesados en los hongos.

Ecología

Puede observarse en la figura 1, cómo las especies saprófitas terrícolas muestran las máximas concentraciones para todos los metales, con diferencias significativas respecto a los otros grupos. Tras ellas se sitúan las especies micorrízicas, y con niveles mucho más bajos especies lignícolas y cultivadas. Los mayores valores que muestran las especies saprófitas terrícolas respecto a las micorrízicas puede deberse a la mayor actividad descomponedora que muestran las primeras, ya que, como indica Hoiland [3], la degradación de las sustancias polifenólicas, favorece la liberación y captación de los metales. Además, Yoshida y Muramatsu [18, 19] indican que el micelio de los hongos sapró-

Tabla 1. Caracteres analíticos del método empleado.

	Cd	Hg	Pb	Cu	Zn
Límite de detección: en disolución blanco ($\mu\text{g/L}$)	0,081	1,201	0,306	0,990	0,738
en muestras de carpóforos ($\mu\text{g/kg}$)	1,242	27,15	4,590	21,43	11,69
Exactitud: Mat. referencia	0,117	0,20	4,9	3,6	30,4
Certificado (mg/kg)	0,100-0,134	0,16 – 0,24	4,3 – 5,5	3,1 – 4,1	27,0 – 33,8
Determinado (mg/kg)	0,11 \pm 0,02	0,18 \pm 0,02	4,95 \pm 0,30	3,26 \pm 0,25	29,5 \pm 1,1
	95,73 %	88,50 %	101,02	90,28 %	97,04 %
Recuperación analítica media (%)	98,7	90,20	92,8	89,26	94,39
Precisión (coeficiente variación)	2,03	6,21	4,22	4,15	1,23

Tabla 2. Concentraciones medias (mg/kg de peso seco).

	Cd	Hg	Pb	Cu	Zn
Himenóforo	0,819	2,121	1,171	102,8	165,4
Resto del carpóforo	0,454	1,427	1,122	79,60	104,7
Carpóforo completo	0,568	1,625	1,133	86,54	122,2
Suelos	0,079	0,016	25,25	23,12	35,51

Tabla 3. Factores de bioconcentración medios.

	Cd	Hg	Pb	Cu	Zn
Himenóforo	24,16	177,4	0,067	10,35	7,460
Resto del carpóforo	14,56	119,8	0,063	7,884	4,596
Carpóforo completo	16,50	131,3	0,064	9,366	5,172

fitos se localiza fundamentalmente en los horizontes más superficiales del suelo, en los cuales se concentran la mayor cantidad de los metales pesados, mientras que el micelio de las especies micorrízicas se encuentra normalmente en horizontes más profundos.

Los menores contenidos encontrados en las especies cultivadas y lignícolas pueden explicarse por el pequeño volumen de sustrato sobre el que crecen, y por la baja concentración de metales que normalmente presentan estos sustratos, como así lo indican autores como Tyler [20] y Gabriel y col. [21].

Especies

Considerando las Especies individualmente, en la tabla 4 se resumen los niveles medios de metales encontrados en las especies de estudio, destacando para cada metal por su aptitud captadora las siguientes: *Agaricus macrosporus* (cadmio); *Boletus pinophilus* (mercurio); dos especies para el plomo, *Coprinus comatus*, por presentar las mayores niveles de este metal, aunque debe tenerse en cuenta que es la especie con mayor presencia en áreas urbanas, con niveles de contaminación más elevados, y fuera de las zonas urbanas, *Lepista nuda*; *Macrolepiota procera* (cobre); y *Calvatia utriformis* y *Lactarius deliciosus* (zinc).

La especie *Agaricus macrosporus* fue la más sobresaliente por su aptitud captadora, ya que para todos los metales se encuentra entre las 3 primeras especies con mayores concentraciones o

FBC, destacando especialmente para cadmio. *Agaricus silvicola*, una especie muy cercana taxonómicamente, muestra también concentraciones elevadas. Al estudiar los factores de bioconcentración (FBC), *Agaricus macrosporus* amplifica, por término medio, 873 veces los niveles de cadmio del suelo, frente a los 16,5 habituales en otras especies, y sólo *Agaricus silvicola* se acerca con un FBC medio de 350.

Diversos investigadores han destacado la capacidad acumuladora de las especies de *Agaricus* de la sección arvenses [1-2, 5, 16, 22-23] a la que pertenecen *A. macrosporus* y *A. silvicola*. La elevada acumulación de cadmio en estos hongos se debe a la presencia de ciertas macromoléculas implicadas en la captación de este metal, como la fosfogluco proteína cadmio-micofosfotina y otras proteínas de bajo peso molecular identificadas en *Agaricus macrosporus* [24-25]. Además se ha observado en estos hongos que el crecimiento micelial se ve estimulado por la presencia de cadmio hasta un valor crítico, planteando la posibilidad de que este elemento pudiera ser un factor de crecimiento para estos organismos [26].

Parte anatómica

Respecto a la Parte anatómica del carpóforo, se han encontrado para todos los metales, excepto el plomo, mayores concentraciones en himenóforo, con diferencias significativas respecto al resto del carpóforo. En esta parte, a su vez, el sombrero muestra mayores niveles respecto al pie (Figura 2).

Tabla 4. Concentraciones medias (mg/kg de peso seco) en las especies estudiadas.

Especie	n	Cadmio	Mercurio	Plomo	Cobre	Zinc
<i>Agaricus bisporus</i>	6	0,195	0,399	0,504	67,20	65,12
<i>Agaricus campestris</i>	9	0,657	1,871	2,307	108,7	162,4
<i>Agaricus macrosporus</i>	13	33,22	4,012	1,349	202,9	194,0
<i>Agaricus silvicola</i>	6	6,444	2,196	1,419	142,4	146,5
<i>Agrocybe cylindrica</i>	6	0,397	0,287	0,624	35,12	61,13
<i>Amanita rubescens</i>	12	0,636	0,461	0,790	54,04	151,9
<i>Boletus aereus</i>	6	0,654	3,738	0,657	71,75	115,6
<i>Boletus aestivalis</i>	6	0,699	1,789	0,929	57,79	142,6
<i>Boletus edulis</i>	10	0,819	2,389	0,706	62,12	84,61
<i>Boletus pinophilus</i>	13	0,797	5,209	0,595	60,62	100,9
<i>Calvatia utriformis</i>	7	0,515	2,437	2,316	235,6	265,8
<i>Cantharellus cibarius</i>	13	0,277	0,334	0,779	55,35	76,93
<i>Clitocybe nebularis</i>	9	0,476	1,334	1,356	78,48	117,9
<i>Coprinus comatus</i>	10	1,225	2,404	3,823	121,3	113,9
<i>Fistulina hepatica</i>	6	0,206	0,242	0,477	34,13	39,46
<i>Hydnum repandum</i>	8	0,332	0,492	0,831	36,13	32,25
<i>Lactarius deliciosus</i>	9	0,282	0,590	0,662	22,77	199,5
<i>Leccinum scabrum</i>	6	1,048	0,449	1,337	44,22	83,81
<i>Lepista nuda</i>	9	0,558	3,718	2,341	118,8	130,9
<i>Macrolepiota procera</i>	12	1,006	1,962	1,416	212,5	88,20
<i>Marasmius oreades</i>	6	0,460	0,875	1,098	110,8	111,6
<i>Russula cyanoxantha</i>	6	0,345	0,956	0,601	67,26	90,07
<i>Tricholoma columbetta</i>	12	0,341	0,495	0,789	70,28	187,6
<i>Tricholoma equestre</i>	6	0,366	0,726	0,708	45,61	144,3
<i>Tricholoma portentosum</i>	10	0,479	0,776	0,533	53,75	107,9
<i>Xerocomus badius</i>	9	0,624	0,345	0,606	52,35	181,3
<i>Xerocomus chrysenteron</i>	6	0,535	0,453	1,070	68,96	124,5

n: número de muestras.

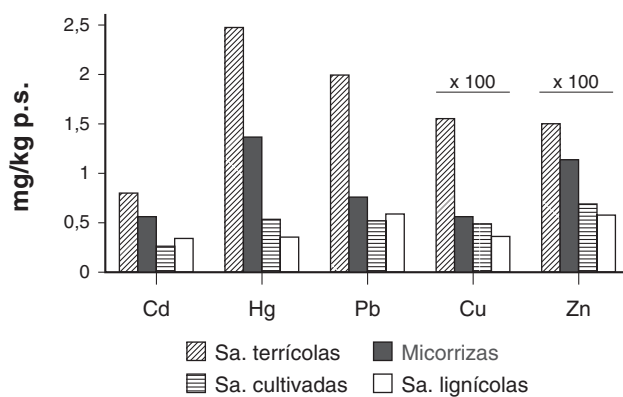


Fig. 1. Niveles de metales pesados en macromicetos según ecología.

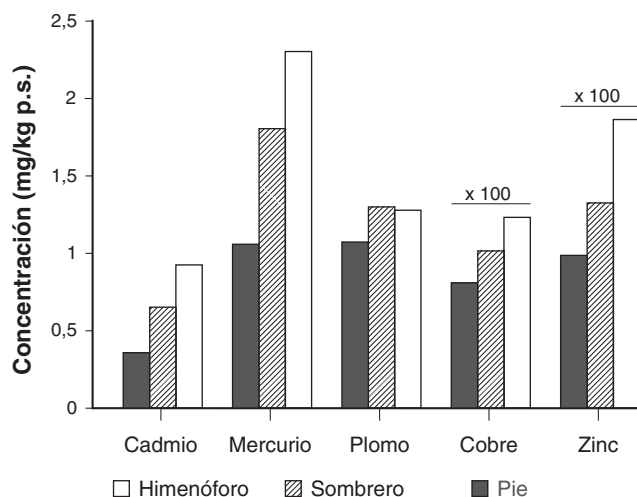


Fig. 2. Concentraciones de metales pesados en las distintas partes del carpóforo.

Las razones de la distinta aptitud captadora de las partes anatómicas, pueden relacionarse con el mayor contenido proteico que autores como Chang y Chan [27] han observado en himenóforo, posiblemente debido a la mayor actividad biológica de esta porción, al ser la parte fértil productora de esporas sexuales.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Xunta de Galicia, que a través del proyecto PGIDT02TAL26101PR ayudó a la realización del presenta trabajo.

Bibliografía

1. Quinche JP (1987) Le cadmium, un élément présent en traces dans les sols, les plantes et les champignons. *Revue Suisse Agric.* 19 (2): 71-77
2. Kojo MR, Lodenius M (1989) Cadmium and mercury in macrofungi. Mechanisms of transport and accumulation. *Angew. Botanik* 63: 279-292
3. Hriland K (1995) Reaction of some decomposer basidiomycetes to toxic elements. *Nor. J. Bot.* 15(3): 305-318
4. García MA, Alonso J, Fernández, MI; Melgar MJ (1998) Lead content in edible wild mushrooms in northwest Spain as indicator of environmental contamination. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34: 330-335
5. Melgar MJ, Alonso J, Pérez-López M,; García MA (1998) Influence of some factors in toxicity and accumulation of cadmium from edible wild macrofungi in NW Spain. *J. Environ. Sci. Health, B33(4):* 439-455
6. Alonso J, Salgado MJ, García MA, Melgar MJ (2000) Accumulation of mercury in edible macrofungi: Influence of some factors. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 38: 158-162
7. Alonso J, García MA, Pérez-López M, Melgar MJ (2003) The Concentrations and Bioconcentration Factors of copper and zinc in edible mushrooms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 44: 180-188
8. Gadd GM (1993) Interactions of fungi with toxic metals. *New Phytol.* 124: 25-60
9. Schmitt JA, Meisch HU (1985) Cadmium in mushrooms – distribution, growth effects and binding. *Trace Elements Medicine* 2(4): 163-166
10. Morselt AFW, Smits WTM, Limonard T (1986) Histochemical demonstration of heavy metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. *Plant Soil* 96: 417-420
11. Jones D, Hutchinson TC (1988) Nickel toxicity in mycorrhizal birch seedlings infected with *Lactarius rufus* or *Scleroderma flavidum*. II. Uptake of nickel, calcium, magnesium, phosphorus and iron. *New Phytol.* 108: 461-470
12. Turnau K, Kottke I, Dexheimer J (1996) Toxic element filtering in *Rhizopogon roseolus*/*Pinus sylvestris* mycorrhizas collected from calamine dumps. *Mycol. Res.* 100(1): 16-22
13. Turnau K, Kottke L, Dexheimer J, Botton B (1994) Element distribution in mycelium of *Pisolithus arrhizus* treated with cadmium dust. *Ann. Botany* 74: 137-142
14. Hedrich E (1988) Short-time activation analysis of some austrian mushrooms. *J. Trace Microprobe Techniques* 6(4): 583-602
15. Michelot D, Siobud E, Doré JC, Viel C, Poirier F (1998) Update on metal content profiles in mushrooms. Toxicological implications and tentative approach to the mechanisms of bioaccumulation. *Toxicol* 36(12): 1997-2012
16. Kalač P, Svoboda L (2000) A review of trace element concentrations in edible mushrooms. *Food Chem.* 69: 273-281
17. Pérez-López M, Nóvoa MC, Alonso J, Melgar MJ (2003) Niveles de plomo y cadmio en agua marina y lapas (*Patella vulgata* L.) de la Ría de Vigo. *Revista de Toxicología* 20(1): 19-22
18. Yoshida S, Muramatsu Y (1994a) Accumulation of radiocesium in basidiomycetes collected from Japanese forests. *Sci. Total Environ.* 157, 197-205
19. Yoshida S, Muramatsu Y (1994b) Radiocesium concentrations in mushrooms collected in Japan. *J. Environ. Radioactivity* 22: 141-154
20. Tyler G (1982) Metal accumulation by wood decaying fungi. *Chemosphere* 11(11): 1141-1146
21. Gabriel J, Baldrian P, Rychlovský P, Krenželok, M (1997) Heavy metal content in wood-decaying fungi collected in Prague and in the National Park Šumava in the Czech Republic. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 59: 595-602
22. Seeger R (1978) Cadmium in mushrooms. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 166(1): 23-34
23. Kalač P, Stašková I (1994) Heavy metals in fruiting bodies of wild growing mushrooms of the genus *Agaricus*. *Potrav. Vědy* 12(3): 185-195
24. Meisch HU, Bechmann J, Schmitt JA (1983) A new cadmium binding phosphoglycoprotein, cadmium-mycophosphatin, from the mushroom *Agaricus macrosporus*. *Biochim. Biophys.* 745: 259-266
25. Meisch HU, Schmitt JA (1986) Characterization studies on cadmium-mycophosphatin from the mushroom *Agaricus macrosporus*. *Environ. Health Perspectives* 65: 29-32
26. Meisch HU, Scholl AR, Schmitt JA (1981) Cadmium as a growth factor for the mushroom *Agaricus abruptibulbus* (Peck) Kauffmann. *Z. Naturforsch.* 36c: 765-771
27. Chang ST, Chan KY (1973) Quantitative and qualitative changes in proteins during morphogenesis of the basidiocarp of *Volvariella volvacea*. *Mycol.* 65: 355-364.