

文章编号:1673-1689(2009)05-0699-06

蛹虫草液体菌种通气发酵培养及其营养成分分析

朱雅红¹, 桂仲争^{*1,2}

(1. 江苏科技大学 生物与环境工程学院, 江苏 镇江 212018; 2. 中国农业科学院 蚕业研究所, 江苏 镇江 212018)

摘要: 利用液体通气发酵培养蛹虫草菌种, 分析培养所得不同蛹虫草的有效成分。以体积分数 2% 的接种量, 在 pH 7.0、20 ℃ 下培养 96 h 即可达到最佳发酵效果; 菌种冷藏时间对发酵效果无显著影响; 培养基料量占培养容器体积的 1/5, 添加 5% 的营养素为最经济是培养基料配方。利用缢丝后的干蚕蛹成功培养出蛹虫草。对不同培养基(大米、鲜蚕蛹、干蚕蛹)培养的蛹虫草营养成分进行了比较研究: 干蛹虫草中虫草素的含量和超氧化物歧化酶(SOD)的酶比活力最高; 腺苷的含量以鲜蛹虫草最高; 大米虫草多糖含量最高, 菌丝体中虫草酸含量最高; 4 个虫草样品中矿物质元素含量都较丰富, 而镉、铅、砷重金属元素含量较低, 汞元素未检测到。

关键词: 液体发酵; 蛹虫草; 培养; 营养成分

中图分类号: TQ 920.1

文献标识码: A

Liquid Fermentation with Ventilation of *Cordyceps militaris* and Its Components Analysis

ZHU Ya-hong¹, GUI Zhong-zheng^{*1,2}

(1. School of Biological and Environmental Engineering, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang 212018, China; 2. Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China)

Abstract: The target of this study was to establish and optimize high effective liquid fermentation technology of *Cordyceps militaris*. *Cordyceps militaris* strain cultured by liquid medium with ventilation, and analysis the active components of *Cordyceps militaris* cultured from different mediums. The results demonstrated that the optimum fermentation conditions were pH 7.0, 20 ℃ and 96 h. To the best of our knowledge, this is the first report described that the dried pupa could be one of medium to culture the *Cordyceps militaris* properly. The nutritional components of *Cordyceps militaris* cultured by different medium (rice, fresh pupa and dried pupa) have been analysed and shown that the highest cordycepin content and superoxide dismutase (SOD) activity can be achieved at the dried pupa, the adenosine level in fresh pupa was the highest, and the highest polysaccharide content was found in rice. The content of D-mannitol in mycelium was higher than that of other mediums. 4 *Cordyceps* samples were rich in minerals. The content of

收稿日期: 2008-12-15

基金项目: 江苏省镇江市科技计划项目(NY2006042)。

* 通讯作者: 桂仲争(1962-), 男, 安徽安庆人, 农学博士, 研究员, 主要从事生物资源功能利用方面的研究。

Email: srizzgui@hotmail.com

heavy metal elements, cadmium, lead and arsenic were low, but no mercury was detected.

Key words: liquid fermentation, *Cordyceps militaris*, culture, components

冬虫夏草(*Cordyceps sinensis* (Berk) Sacc)是我国特有的名贵中药材之一,产于海拔 3500 m 以上、雪线以下,可谓生长条件苛刻、珍贵稀少。近年来,随着人们野外活动的增加,生态环境日益变得脆弱,冬虫夏草的生长环境受到严重破坏,虫源锐减;加上冬虫夏草生长周期长(3~4 年),虫草药源日趋紧张,难以满足市场需求。所以,人们试图用人工栽培方法取代野生虫草资源。经研究,证实人工培育的蛹虫草(*Cordyceps militaris* L.)具有天然冬虫夏草的主要功效,已成为其替代品开发利用^[1-2]。

野生蛹虫草以夜蛾科昆虫蛹提供营养,人工栽培则利用蛋白胨、酵母粉、蚕蛹粉、马铃薯、玉米浆等有机氮作为氮源,利用糖、淀粉等小分子糖类作碳源,米饭、高粱、小米、马铃薯煮汁作为培养基可培养出子实体。但人工栽培所用的菌种几乎都是以斜面培养基培养所得的固体菌种菌苔来接种,菌种量有限,培养周期较长,不利于规模化生产,且成本较高。液体通气发酵菌种是将固体菌种转接到液体培养基上,经液体通气发酵而成,是近年来发展起来的一种先进的食用菌栽培技术。与常规的固体菌种相比有独特的优点:一是发菌速度快,三级制种(母种、原种、栽培种)时间不超过 15 d,而固体菌种则愈百天;其次是接种速度快,比固体常规接种快 10 倍以上;再次是液体菌种具有污染低、菌龄齐、产量高等。

作者建立和优化了液体通气发酵菌种(栽培种)的培养技术,利用液体发酵菌种在不同的培养基上(大米,鲜蚕蛹,干蚕蛹等)培养蛹虫草的技术条件,比较分析培养所得的不同蛹虫草有效成分的差异,为工业化生产蛹虫草提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

蛹虫草(*Cordyceps militaris*)菌种:由作者所在实验室引进保存;冬虫夏草:市售,北京同仁堂亳州药材发展有限责任公司提供;腺苷标准品和鼠李糖等:上海化学试剂公司进口分装;虫草素标准品:常州大康保健药品有限公司提供;其余均为国产分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 培养基的制备

1) 固体培养基的制备:固体培养基为常用的马铃薯琼脂培养基(PDA 培养基),主要用于蛹虫草种和原种的培养。

2) 液体培养基的制备:100 mL 马铃薯汁,葡萄糖 10 g, K_2HPO_4 5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 3 g, VB_1 微量,调 pH 7.0,配成 350 mL,装入发酵罐中,以 1.03×10^4 Pa 高压灭菌 30 min。液体培养基主要用于蛹虫草栽培中的培养。

1.2.2 液体通气发酵菌种培养条件的优化

1) 不同培养温度和时间对液体菌种发酵效果的影响:取成熟的斜面培养基原种菌苔,制成悬浊液菌种,分别接种于 9 个含 350 mL 液体培养基(500 mL 容量)的培养瓶中,每瓶接种体积分数为 2%,约 7 mL,加抗生素少许。按不同的温度(15、20、25 °C)和不同培养时间(72, 96, 124 h)下进行通气发酵培养,正交试验。培养结束后,4 000 r/min 离心 10 min,收集菌丝体,60 °C 干燥,称取菌丝体生物量。

2) 不同 pH 值对液体菌种发酵效果的影响:5 瓶组成相同的液体培养基,分别调 pH 值至 5.5、6.0、6.5、7.0、7.5,在 20 °C 和通气环境下培养 96 h。4 000 r/min 离心 10 min,收集菌丝体,60 °C 干燥后,称取菌丝体生物量。

3) 菌种不同冷藏时间对液体发酵效果的影响:取成熟的斜面培养基原种菌苔,制成悬浊液菌种,分装于 3 个离心管中,每管 1 mL,加抗生素少许。取一瓶接种到液体培养基中,进行发酵通气培养,另两管在 4 °C 环境下分别冷藏 5 d 和 10 d,在恒定的培养条件:pH 7.0、20 °C、通气环境下进行液体发酵培养 5 d,离心收集菌丝体,称取菌丝体生物量。

1.2.3 接种与培养

1) 大米培养基的接种与培养:量取 15 mL 的液体发酵菌种,接种于已灭菌的大米复合培养基上,用聚丙烯塑料薄膜封口。先在 18~20 °C 恒温下避光培养 3~5 d,培养基表面长满白色菌丝。然后转入 20~22 °C 感光培养,至培养基表面长出许多圆丘状隆起——菌蕾,即进入有氧环境下,保持

一定的湿度,继续培养40 d左右,即得4~5 cm长的蛹虫草子实体。

2) 鲜蚕蛹的接种与培养:在无菌条件下,将蛹虫草菌液接种到蛹体内。然后将蛹体置于无菌培养盒内,按上述培养条件进行蛹虫草培养。

3) 干蚕蛹的接种与培养:缢丝后的蚕蛹,50℃烘干,经高压灭菌,在无菌条件下,加一定量的液体发酵菌种与之接触感染。然后置于无菌培养盒内,按上述培养条件进行蛹虫草培养。

1.2.4 蛹虫草有效成分的测定

1) 虫草素与腺苷的测定:采用高效液相色谱法^[3-4]。色谱柱:NOVA-PAK C18反相柱,3.9 mm×300 mm,4 μm;流动相:0.01 mol/L KH₂PO₄-K₂HPO₄缓冲液,pH 6.86,1 g/dL 四氢呋喃;流量:1 mL/min;进样量:10 μL;检测波长:260 nm。

样品中腺苷或虫草素含量(mg/g)=

$$10.00 \times S \times C_0 \times 10^{-3} / S_0 \times m$$

式中,10.00为试样微波浸提用水量(mL),S为试样峰面积,C₀为标样含量(μg/mL),S₀为标样峰面积,m为试样准确质量(g)。

2) 虫草多糖的提取与测定:多糖提取参照文献[5]的方法。

3) 虫草酸的提取与测定:准确称取适量样品,置于50 mL碘量瓶中,加25 mL蒸馏水,置80℃水浴中浸提1 h,离心除沉淀,上清液转入50 mL容量瓶中,残渣用水洗涤2次,离心除沉淀后并入容量瓶中,定容,得到样品液。按测试需要,用蒸馏水稀释至所需浓度待测。用分光光度法测定虫草酸的含量^[7]。

4) 超氧化物歧化酶(SOD)的提取与测定:参照潘新法^[8]略有改进。称取一定数量的鲜样品,用无菌水冲洗后,切碎研磨,加入适量0.05 mol/L、pH 7.8的磷酸缓冲液(含0.1 mmol/L EDTA),充分匀浆后,超声波破碎细胞20 min,11 000 r/min离心20 min,得上清液,即为SOD粗提液。整个过程均在4℃下操作。采用SOD试剂盒进行检测(南京建成生物工程研究所提供)。

5) 矿物质元素的测定:样品委托南京师范大学分析测试中心检测,检测依据JY/T015-1996 ICP通则。

2 结果

2.1 液体通气发酵菌种培养条件的优化

2.1.1 不同温度和时间对液体菌种发酵培养效果的影响 由图1可见,以体积分数2%的接种量,在恒定的通气条件下,随着温度的升高,菌丝体生物

量干重呈增加趋势。在15℃,随着培养时间的延长,菌丝体生物量干重随之增加;在20℃时,培养4 d时菌丝体生物量最高,培养5 d菌丝体生物量干重呈下降趋势。在25℃时,培养3 d时菌丝体生物量最高,随着培养时间的延长,菌丝体生物量干重逐渐减少,呈下降趋势。总体来说,随着培养温度的升高,菌丝又呈现上升趋势。最适温度和时间为20℃培养4 d。

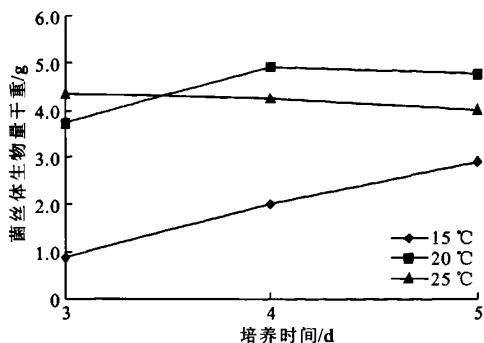


图1 不同温度和时间对液体菌种培养效果的影响

Fig. 1 Effect of temperature and culture time on the liquid fermentation of *C. militaris*

2.1.2 不同pH值对液体菌种发酵培养效果的影响 为了解液体培养基pH值对发酵效果的影响,试验选择了5.5,6.0,6.5,7.0,7.5等5个pH梯度,在相同温度(20℃)和通气环境下培养4 d,比较其菌丝体生物量,结果见图2。pH值在5.5~7.0时,随着pH值的升高,菌丝体生物量逐渐增加,从3.611 g增加到4.06 g,当pH值到7.5时,菌丝体生物量降低到3.28 g,提示液体培养基的最适pH值为7.0。

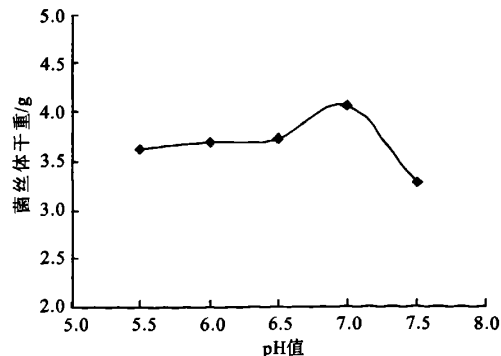


图2 pH值对菌丝体生物量的影响

Fig. 2 Effect of pH on the mycelium weight

2.2 培养基料对蛹虫草生物转化效率的影响

2.2.1 虫草素与腺苷的质量分数 经微波辅助提取,采用高效液相法进行测定,测得4个虫草样品中虫草素与腺苷的质量分数,见表1。干蛹虫草的

虫草素质量分数最高,是大米虫草的 2.69 倍,是鲜蛹虫草的 3.79 倍,是菌丝体的 150.83 倍。腺苷的质量分数是鲜蛹虫草最高,大米虫草次之,干蛹虫草仅为鲜蛹虫草中质量分数的 1/2 左右。菌丝体中虫草素和腺苷的质量分数皆最低。

表 1 不同虫草样品虫草素和腺苷的质量分数
Tab.1 Effect of medium on the content of cordycepin and adenosine by *C. militaris*

(mg/g)				
营养成分	大米虫草	干蛹虫草	鲜蛹虫草	菌丝体
虫草素	3.37±	9.05±	2.39±	0.06±
	0.007	0.018	0.007	0.001
腺苷	0.42±	0.25±	0.53±	0.15±
	0.001	0.002	0.004	0.001

2.2.2 虫草多糖 采用热水浸提、乙醇沉淀进行分级提取,得到不同组分的蛹虫草粗多糖-50 (*Cordyceps militaris* polysaccharide-50, CMPS-50)和蛹虫草粗多糖-90(*Cordyceps militaris* polysaccharide-90, CMPS-90)。经苯酚硫酸法测定并计算得蛹虫草各粗多糖组分的总多糖质量分数,大米虫草多糖质量分数最高,50%粗多糖和 90%粗多糖的质量分数分别为 30.17 μg/g 和 19.27 μg/g。50%粗多糖的质量分数是干蛹虫草最低,为大米虫草多糖的 3.4%。90%粗多糖以菌丝体的质量分数最低,为大米虫草的 18.01%。大米和菌丝体的不同多糖组分质量分数为 CMPS-50>CMPS-90,而蚕蛹(鲜蛹、干蛹)的不同多糖组分质量分数为 CMPS-90>CMPS-50,见表 2。

表 2 蛹虫草多糖的质量分数
Tab.2 Content of polysaccharide in *Cordyceps militaris* cultured by different medium

(μg/g)				
多糖组分	大米虫草	干蛹虫草	鲜蛹虫草	菌丝体
50%粗多糖 CMPS-50	30.17±	1.05±	3.95±	4.06±
	0.562	0.026	0.105	0.148
90%粗多糖 CMPS-90	19.27±	5.65±	5.48±	3.47±
	1.087	0.398	0.355	0.030

2.2.3 虫草酸 虫草酸以 D-甘露醇为指标,结果显示:以菌丝体中 D-甘露醇的质量分数最高,达到 67.19 μg/g,干蛹虫草和鲜蛹虫草中的 D-甘露醇质量分数接近,分别为 43.21 μg/g 和 39.53 μg/g。大米虫草中最低,仅为 28.73 μg/g,见图 3。

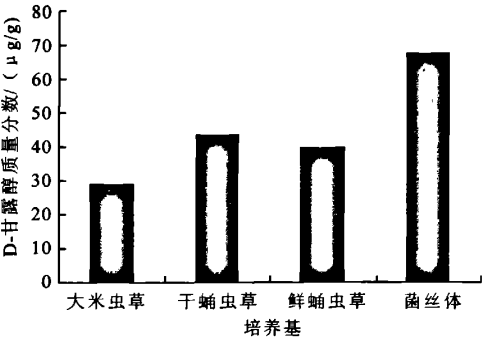


图 3 蛹虫草中虫草酸的质量分数
Fig.3 The content of D-mannitol in *Cordyceps militaris*

2.2.4 超氧化物歧化酶(SOD) 从图 4 可以看出,干蛹虫草中 SOD 的酶比活力最高,达到 846.35 U/g,以后依次为鲜蚕蛹虫草 470.01 U/g,大米虫草 386.15 U/g,而菌丝体中的 SOD 比活最低,只有 16.59 U/mL。

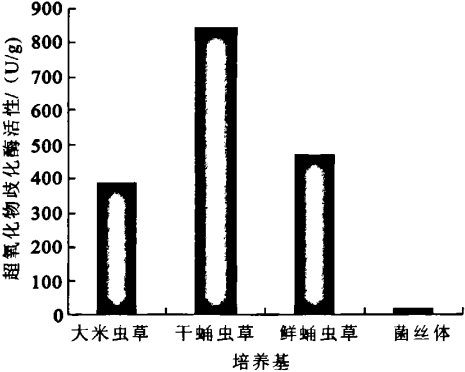


图 4 蛹虫草中超氧化物歧化酶的活性
Fig.4 Superoxide dismutase activity in *Cordyceps militaris*

2.2.5 矿物质元素 作者中共检测 16 种矿物质元素,见表 3。

表 3 不同虫草样品矿物质元素的质量分数
Tab.3 Content of minerals in different *C. ordyceps* samples

(μg/g)				
矿物质元素	大米虫草	干蛹虫草	鲜蛹虫草	菌丝体
钙(Ca)	270	238	156	161
镁(Mg)	574	442	508	715
磷(P)	190	1 240	1 370	282
钾(K)	287	1 350	1 820	1 380
钠(Na)	77.90	212	189	274
锰(Mn)	13.50	33.60	22.80	2.24
铁(Fe)	10.40	76.40	46.20	231

续表 3

矿物质元素	大米 虫草	干蛹 虫草	鲜蛹 虫草	菌丝体
铜(Cu)	2.77	15.40	12.30	0.87
锌(Zn)	29.50	240	172	12.40
铬(Cr)	0.96	1.19	2.70	1.18
硒(Se)	8.50	14.91	10.93	ND
铝(Al)	3.77	4.18	4.30	4.23
镉(Cd)	0.03	0.14	0.07	ND
铅(Pb)	2.12	5.20	3.38	0.16
砷(As)	1.14	1.52	3.45	1.71
汞(Hg)	ND	ND	ND	ND

ND:未检测出

其中,钙、镁、磷、钾和钠含量比较丰富。鲜蛹虫草中磷、钾的含量最高,分别达到 $1\,370\ \mu\text{g/g}$ 和 $1\,820\ \mu\text{g/g}$ 。大米虫草中钙的含量最高,达到 $270\ \mu\text{g/g}$ 。钠含量最高的是菌丝体,达到 $274\ \mu\text{g/g}$ 。实验还检测到人体所必需的 7 种微量元素,分别是锰、铁、铜、锌、铬、铝和硒。其中干蛹虫草中锌、锰、铜、硒的质量分数最高。镉、铅、砷和汞属于重金属元素,对机体具有一定的危害,在所测的 4 个虫草样品中,质量分数都较低,而汞未检测到。

3 结 语

借助食品工业液体发酵技术培养菌种来实现蛹虫草的工业化生产,具有方法先进,成本低廉,劳动效率高,减少污染环节等优点。以前报道的蛹虫草液体菌种实验^[9-10]都是将菌种与液体培养基装入三角瓶,在振荡器中完成,其培养方式是培养容器三角瓶在振荡器中振荡,菌种与液体培养基之间无法达到充分接触。作者通过将气体通入到液体发酵罐内,真正实现菌种和液体培养基间的充分、循环接触,从而达到快速发酵的目的。结果表明,发酵效率明显高于“振荡器”培养。在 $20\ ^\circ\text{C}$ 下培养 96 h 即可达到最好的发酵效果,而报道的“振荡器”培养(李信等,郑婷婷等)最佳发酵环境为 $24\sim 28\ ^\circ\text{C}$ 下培养 96 h。

栽培蛹虫草的培养基较多,张显科^[11]比较了大米、高粱、小米和玉米培养基栽培蛹虫草试验。结果表明,大米栽培蛹虫草的培养效果最好,菌丝生长较快,子实体产生和成熟最早,生长周期最短,生物转化率高。蚕蛹(一般都指活体蚕蛹)是蛹虫草的理想培养基,但由于活体蚕蛹的来源受到养蚕季节、运输、蚕蛹的发育期等影响,要想实现其工业化

生产困难很大。而缂丝后的干蚕蛹具有成本低、运输储存方便、不受季节影响等诸多优点,可实现工业化栽培蛹虫草的目的。作者尝试了利用缂丝后的干蚕蛹培养蛹虫草的栽培技术,结果表明,缂丝后的干蚕蛹可作为蛹虫草的培养基进行深加工开发利用,这是利用干蚕蛹培养蛹虫草的首次报道。

蛹虫草中含有丰富的营养成分,如虫草素(3'-脱氧腺嘌呤核苷)、虫草酸(D-甘露醇)、多糖、超氧化物歧化酶(SOD)、多种人体必需氨基酸、微量元素及维生素等。

研究结果表明,所测 4 个虫草样品中虫草素的含量都高于天然冬虫夏草的含量,这与已报道的结果一致^[12-14]。研究表明,活体蛹虫草腺苷的含量最高,大米虫草次之,干蛹虫草仅为鲜蛹虫草中含量的 $1/2$ 左右,菌丝体中虫草素和腺苷的质量分数皆为最低。

虫草多糖是蛹虫草的重要活性物质之一,含量丰富。作者分 50%粗多糖和 90%粗多糖两组,比较了 4 个虫草样品中多糖质量分数差异。结果显示,蛹虫草的多糖含量高于冬虫夏草^[15]。虫草酸(D-甘露醇)是真菌类主要药效成分之一,所测 4 个虫草样品中的虫草酸含量都低于冬虫夏草虫草酸的 $77.27\ \mu\text{g/g}$ ^[16]。

干蛹虫草中 SOD 的酶比活力最高,分别为鲜蚕蛹虫草的 1.8 倍,大米虫草的 2.2 倍,菌丝体的 51 倍。研究表明,人工培养的蛹虫草 SOD 酶比活力是天然冬虫夏草的数倍,是菌丝体的几十倍^[13],结果验证了这一结论。干蛹虫草中 SOD 酶比活力高,提示干蚕蛹经感染虫草菌后其转化效率较高。

蛹虫草对人体有广泛的医疗保健作用,其中微量元素可能是在治疗某些疾病中产生疗效的基本成分之一。作者共检测得 16 中矿物元素,其中镁、磷、钙、钾和钠含量比较丰富。鲜蛹虫草中磷、钾的质量分数最高;大米虫草中钙的质量分数最高,达到 $270\ \mu\text{g/g}$;钠质量分数最高的是菌丝体。据研究报告,冬虫夏草中 P、Mg 的含量最高,其抗癌作用与含 P、Co、Fe、Cu 有关^[6]。实验还测得人体所必需的微量元素 7 种,分别是锰、铁、铜、锌、铬、铝和硒。镉、铅、砷和汞为重金属元素,对机体具有一定的毒害。而在作者所测的 4 个样品中,重金属元素含量都较低,其中汞元素未检测到,提示本研究所培养的蛹虫草符合食品安全要求。

参考文献(References):

- [1] 郭海平, 杨智敏. 冬虫夏草药理作用研究进展[J]. 中草药, 1999, 30(3): 231—233.
GUO Hai-ping, YANG Zhi-ming. Research on the pharmacological effects of *Cordyceps sinensis*[J]. **Chinese Traditional and Herbal Drugs**, 1999, 30(3): 231—233. (in Chinese)
- [2] 桂仲争, 朱雅红. 蛹虫草的人工培育、有效成分及药理作用研究进展[J]. 蚕业科学, 2008, 34(1): 178—184.
GUI Zhong-zheng, ZHU Ya-hong. Advance on cultivation, bioactive compound and pharmacological mechanism of *Cordyceps militaris*[J]. **Acta Sericologica Sinica**, 2008, 34(1): 178—184. (in Chinese)
- [3] 郭澄, 朱杰, 张纯, 等. 高效液相色谱法测定人工虫草菌丝中腺苷和虫草素的含量[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(4): 236—237.
GUO Cheng, ZHU Jie, ZHANG Chun, et al. Determination of adenosine and cordycepin from artificial *Cordyceps militaris* by high performance liquid chromatography (HPLC) [J]. **China Journal of Chinese Materia Medica**, 1998, 23(4): 236—237. (in Chinese)
- [4] 李祝, 刘爱英, 梁宗琦. 虫草菌素的生物活性及检测方法[J]. 食用菌学报, 2002, 9(1): 57—62.
LI Zhu, LIU Ai-ying, LIANG Zong-qi. Biological activity and determination method of cordycepin[J]. **Acta Edulis Fungi**, 2002, 9(1): 57—62. (in Chinese)
- [5] 王蕾, 于荣敏, 张辉, 等. 人工培养蛹虫草多糖的分离纯化及其结构的初步研究[J]. 中国生化药物杂志, 2003, 24(1): 23—25.
WANG Lei, YU Rong-ming, ZHANG Hui, et al. Separation, purification and structural analysis of polysaccharides in cultured *Cordyceps militaris* L[J]. **Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics**, 2003, 24(1): 23—25. (in Chinese)
- [6] 田代华. 实用中药辞典(上卷)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 626—631.
- [7] 葛新, 白小红, 李云兰. 分光光度法测定蛹草 D-甘露醇的含量[J]. 山西医科大学学报, 2001, 32(4): 317—318.
GE Xin, BAI Xiao-Hong, LI Yun-lan. Determination of D-mannitol from pupa by spectrophotometric[J]. **Journal of Shanxi Medical University**, 2001, 32(4): 317—318. (in Chinese)
- [8] 潘新法. 蛹虫草子实体的人工培育及超氧化物歧化酶的活性测定[J]. 食用菌学报, 1995, 2(3): 25—28.
PAN Xin-fa. The cultivation of *C. militaris* fruitbody on artificial media and the determination of SOD activity[J]. **Acta Edulis Fungi**, 1995, 2(3): 25—28. (in Chinese)
- [9] 李信, 许雷, 裴鑫德. 蛹虫草(*Cordyceps militaris*)菌丝体液体培养基的优化和发酵条件的研究[J]. 核农学报, 1998, 12(1): 35—40.
LI Xin, XU Lei, PEI Xin-de. The optimization of fermentation process for mycelia production of *Cordyceps militaris*[J]. **Acta Agriculturae Nucleatae Sinica**, 1998, 12(1): 35—40. (in Chinese)
- [10] 郑婷婷, 李多伟, 王英娟, 等. 蛹虫草液体培养条件优化及有效成分含量分析[J]. 菌物研究, 2004, 2(4): 22—25.
ZHENG Ting-ting, LI Duo-wei, WANG Ying-juan, et al. Optimum condition for deep fermentation of *Cordyceps militaris* and content analysis of its active substance[J]. **Journal of Fungal Research**, 2004, 2(4): 22—25. (in Chinese)
- [10] 张显科, 刘文霞. 不同培养料栽培蛹虫草试验研究[J]. 中国食用菌, 1997, 16(2): 21—22.
ZHANG Xian-ke, LIU Wen-xia. Experimental studies on planting *Cordyceps militaris* (L. ex fr.) link with different culture materials[J]. **Edible Fungi of China**, 1997, 16(2): 21—22. (in Chinese)
- [12] 温鲁, 尹起范, 唐玉玲, 等. 蚕虫草与有关虫草活性成分检测比较[J]. 食品科学, 2004, 25(8): 155—157.
WEN Lu, YIN Qi-fan, TANG Yu-ling, et al. Assay and comparison of the effective compositions produced in *Cordyceps militaris* (*Bombyx Mori*)[J]. **Food Science**, 2004, 25(8): 155—157. (in Chinese)
- [13] 林燕. 人工培养蛹虫草有效成分的研究及其害螨的化学防治[D]. 北京: 中国农业大学, 2004.
- [14] 李祝, 刘爱英, 梁宗琦. 虫草菌素的生物活性及检测方法[J]. 食用菌学, 2002, 9(1): 57—62.
LI Zhu, LIU Ai-ying, LIANG Zong-qi. Biological activity and determination method of cordycepin[J]. **Edible Fungi Science**, 2002, 9(1): 57—62. (in Chinese)
- [15] 杜双田, 贾探民. 蛹虫草, 灰树花, 天麻[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [16] Penman S, Rosbash M, Penman M. Messenger and heterogeneous nuclear RNA in HeLa cells: differential inhibition by cordycepin[J]. **Proc Natl Acad Sci(USA)**, 1970, 67(4): 1878—1885.

(责任编辑: 李春丽)