

研究报告

蛹虫草液体发酵培育子实体及其营养成分、色素稳定性分析

郑世仲¹, 林钦¹, 姜春玲^{1,2}, 杨义辉^{1,3}, 魏奇¹, 张维瑞¹, 刘盛荣^{*1}

1 宁德师范学院 生物科学与工程学院 闽东特色生物资源福建省高校工程研究中心, 福建 宁德 352100

2 福建农林大学 食品科学与工程学院, 福建 福州 350002

3 福建农林大学 生命科学学院, 福建 福州 350002

郑世仲, 林钦, 姜春玲, 杨义辉, 魏奇, 张维瑞, 刘盛荣. 蛹虫草液体发酵培育子实体及其营养成分、色素稳定性分析[J]. 微生物学通报, 2024, 51(10): 4075-4088.

ZHENG Shizhong, LIN Qin, JIANG Chunling, YANG Yihui, WEI Qi, ZHANG Weirui, LIU Shengrong. *Cordyceps militaris* fruiting bodies: cultivation by liquid fermentation, nutrient composition, and pigment stability[J]. Microbiology China, 2024, 51(10): 4075-4088.

摘要:【背景】蛹虫草(*Cordyceps militaris*)是一种有很高营养和药用价值的药用真菌, 目前其子实体主要通过固态发酵的方法进行生产。【目的】探索液体发酵培育蛹虫草子实体, 并分析其营养成分及色素稳定性, 为生产提供一种新选择。【方法】蛹虫草菌株在液体培养基摇床培养使菌丝大量生长, 光照条件下静置培养诱导子实体形成和生长, 化学分析测定子实体的营养成分, 吸光度变化分析蛹虫草色素的稳定性。【结果】蛹虫草液体发酵原基形成期为 10.8 d, 从原基形成到子实体成熟时间为 37.3 d, 生产周期为 48.1 d, 较固态发酵(57.8 d)缩短 9.7 d。鲜重产量为每瓶 6.72 g, 低于固态发酵(8.29 g)。子实体粗蛋白、粗脂肪和灰分含量分别为 44.5%、2.6%和 8.8%, 固态发酵为 28.5%、1.4%和 4.6%, 分别提高 56.14%、85.71%和 91.30%; 粗纤维含量为 12.9%, 低于固态发酵(15.4%)。子实体色素含量为 740.21 μg/g, 低于固态发酵子实体(867.45 μg/g)。温度和 pH 对液体发酵和固态发酵培育子实体色素的影响有一定差异, 而时间、氧化剂(H₂O₂)、还原剂(维生素 C)及 NaCl 对液体发酵和固态发酵培育子实体色素的影响无差异。【结论】利用液体发酵培育蛹虫草子实体, 不但缩短生产周期, 还可提高营养价值, 具有较好的应用潜力。

关键词: 蛹虫草; 液体发酵; 固态发酵; 农艺性状; 天然色素

资助项目: 福建省大学生创新创业训练计划(S202210398025); 福建省科技厅对外合作项目(2021H0046); 福建省特色药用植物工程技术研究中心科研创新项目(PP2022021)

This work was supported by the College Student Innovation and Entrepreneurship Training Program of Fujian Province (S202210398025), the Foreign Cooperation Project of Fujian Provincial Department of Science and Technology (2021H0046), and the Research Innovation Project of Engineering Technology Research Center of Characteristic Medicinal Plants of Fujian Province (PP2022021).

*Corresponding author. E-mail: fjhost@163.com

Received: 2024-01-12; Accepted: 2024-03-17; Published online: 2024-04-23

Cordyceps militaris fruiting bodies: cultivation by liquid fermentation, nutrient composition, and pigment stability

ZHENG Shizhong¹, LIN Qin¹, JIANG Chunling^{1,2}, YANG Yihui^{1,3}, WEI Qi¹, ZHANG Weirui¹, LIU Shengrong^{*1}

1 Higher Education Center for Local Biological Resources in Ningde, College of Biological Science and Engineering, Ningde Normal University, Ningde 352100, Fujian, China

2 College of Food Science and Engineering, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China

3 College of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China

Abstract: [Background] *Cordyceps militaris* is a medicinal fungus with high nutritional and medicinal values, and its fruiting bodies are mainly produced by solid-state fermentation. [Objective] To provide a new option for the production of *C. militaris* fruiting bodies by liquid fermentation and determine the nutrient composition and pigment stability of the fruiting bodies produced. [Methods] Shaking culture was employed for the extensive mycelial growth of *C. militaris* in a liquid medium, and then static culture with illumination was carried out for inducing fruiting body formation and growth. The nutrient composition of the fruiting bodies was determined by chemical assays, and the absorbance changes of pigments extracted from the fruiting bodies were determined to evaluate the pigment stability. [Results] The cultivation of *C. militaris* by liquid fermentation took 10.8 d for primordium emergence and 37.3 d for fruiting body growth (from primordium emergence to fruiting body harvest). The production cycle in this cultivation mode was 48.1 d, 9.7 d less than that (57.8 d) of solid-state fermentation (control). The fresh fruit body yield was 6.72 g per bottle, lower than that (8.29 g per bottle) of the control. The content of crude protein, crude fat, and ash was 44.5%, 2.6%, and 8.8%, respectively, in the fruiting bodies cultivated from liquid fermentation and 28.5%, 1.4%, and 4.6%, respectively, in the control, with increases of 56.14%, 85.71%, and 91.30%, respectively. The crude fiber and pigment content in the fruiting bodies cultivated from liquid fermentation was 12.9% and 740.21 $\mu\text{g/g}$, respectively, lower than those (15.4% and 867.45 $\mu\text{g/g}$, respectively) of the control. Temperature and pH exerted different effects on the pigment stability of the fruiting bodies cultivated from liquid and solid-state fermentations, while the time, oxidant (H_2O_2), reductant (vitamin C), and NaCl had similar effects on the samples cultivated in the two modes. [Conclusion] Liquid fermentation for the production of *C. militaris* fruiting bodies can not only shorten the production cycle but also improve the nutritional value, demonstrating great potential for industrial applications.

Keywords: *Cordyceps militaris*; liquid fermentation; solid-state fermentation; agronomic trait; natural pigment

蛹虫草(*Cordyceps militaris*)又名北虫草、北冬虫夏草、蛹草,隶属于子囊菌亚门(*Ascomycota*)肉座菌目(*Hypocreales*)虫草菌科(*Cordycipitaceae*)虫草属(*Cordyceps*),是虫草属的模式种,与珍稀的冬虫夏草同属^[1-2]。野生型蛹虫草寄生于夜蛾等昆虫蛹体^[2]。蛹虫草含有虫草素、腺苷、氨基酸、虫草酸和虫草多糖等活性成分^[3],这些活性成分具有抗炎症、抗肿瘤、抗癌、抗衰老、抗氧化、抗疲劳及调节免疫力等生理活性^[1]。大量研究表明,蛹虫草的营养及药效成分与冬虫夏草相似,部分活性成分如腺苷、虫草素的含量更高^[3-4]。由于蛹虫草具有很高的滋补作用和显著的药用价值,逐渐成为冬虫夏草的替代品,已应用于食品、医疗及保健品行业,需求不断增长。

我国是世界上最早规模化栽培蛹虫草的国家,栽培技术已经相当成熟,我国广东省、江苏省、河北省、山东省和吉林省等有大面积栽培。目前,蛹虫草子实体生产主要采用2种方法:(1)配料栽培。大多以大米、小麦、高粱等粮食类谷物,或以农业、林业、食品工业等部门产生的废弃物如棉籽壳、玉米芯、啤酒糟等为栽培基质,固态发酵进行生产^[5-7],生产上以大米和小麦更常见。(2)仿生栽培。将蛹虫草菌丝接种至活体虫蛹,菌丝经定殖及蛹体内生长,一定条件下蛹体上生长出子实体^[8-9]。蛹虫草栽培仿生法的应用仍较少,但研究表明仿生栽培生产的蛹虫草子实体的活性成分含量更高,品质较优^[9-10],商业开发潜力值得进一步挖掘,以便更好地满足虫草市场的不同需求。

液体发酵是获得微生物菌体细胞和有价值代谢产物的一种重要方法。相较于固态发酵生产食用菌子实体的方法,液体发酵具有诸多优点,如周期短、过程参数易监测、工艺可控性高、不易受外界环境影响及不同批次间的产品

质量更稳定等^[11-12]。近年来,由于蛹虫草具有很高的经济价值,利用液体发酵生产菌丝体、多糖和虫草素等发酵产物的研究报道较多^[13-15]。本研究探索液体发酵培育蛹虫草子实体,获得培育参数,测试子实体农艺性状,并与固态发酵进行比较。此外,分析子实体营养成分和色素含量并考察不同理化因子对子实体色素稳定性的影响。本研究可为蛹虫草子实体生产、产品开发及资源有效利用提供重要参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 样 品

蛹虫草菌株 CY01,从购自广东雅康农业科技有限公司的液体菌种分离获得,本实验室保藏。

1.1.2 培养基

PDA 培养基即母种培养基,参考文献[16]配制。PDB 培养基即不含琼脂的 PDA 培养基。液体培养基(g/L):葡萄糖 30.0,酵母粉 4.0,蛋白胨 5.0, KH_2PO_4 1.0, MgSO_4 0.5;营养液(g/L)^[6]:葡萄糖 30.0,蛋白胨 5.0。培养基及营养液 121 °C 灭菌 20 min。大米培养基的配制参考文献[6]。

1.1.3 主要试剂和仪器

葡萄糖、95%乙醇、 KH_2PO_4 、 MgSO_4 、NaCl 和 H_2O_2 等化学试剂,国药集团化学试剂有限公司;酵母粉和蛋白胨,广东环凯微生物科技有限公司。

人工气候培养箱,上海飞越实验仪器有限公司;电热鼓风干燥箱,上海飞越实验仪器有限公司;紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限公司。

1.2 种子液的制备

无菌条件下将保藏的菌株 CY01 接种至

PDA 斜面培养基, 25 °C 培养箱培养 7 d 活化。用接种钩切碎 1 cm² 活化菌种, 将菌块转至 50 mL PDB 培养基(250 mL 三角瓶), 25 °C、150 r/min 摇床培养 4 d。吸取培养液 5 mL 至 50 mL PDB 培养基(250 mL 三角瓶), 25 °C、150 r/min 培养 2 d 即为种子液。

1.3 液体发酵及子实体培育

吸取 5 mL 种子液至灭过菌的 75 mL 液体培养基。采用振荡-静置结合的两阶段发酵法。

振荡培养: 25 °C、150 r/min 摇床培养 60 h。

静置培养及子实体培育: 将振荡培养后的三角瓶转移至人工气候培养箱, 环境参数为 19 °C, 相对湿度 65%, 静置 1 d 后每天给予 8 h 光照(光照强度 500 lx), 刺激菌丝转色、诱导原基形成及子实体生长。实验期间观察菌丝生长、菌丝转色、原基发生及子实体生长情况。

振荡和静置培养过程(0-84 h)每 12 h 取样, 分析培养液的菌丝生物量、残葡萄糖浓度及 pH。

1.4 固态发酵及子实体培育

采用 350 mL 玻璃组培瓶(高 108 mm、外直径 75 mm 及口径 69 mm)培养, 配白色透气盖。每瓶装 30 g 大米和 50 mL 营养液, 培养基体积 80 mL (与液体发酵培养基装量相同), 121 °C 灭菌 20 min。当培养基冷却至室温时将 2 mL 种子液接种至料面, 置 22 °C 培养箱避光培养。菌丝吃透培养料后转移至人工气候培养箱, 每天给予 8 h 光照, 其他条件同 1.3。

1.5 农艺性状的测定

固态发酵的菌丝生长时间为接种至菌丝吃透培养料的时间, 液体发酵的菌丝生长时间则为振荡培养时间; 接种至原基形成时间为原基形成期; 原基出现至子实体生长成熟(子实体采收)的时间为子实体生长时间; 接种至子实体采收的时间为生产周期。

蛹虫草子实体顶端膨大时用无菌镊子采

收, 电子天平称重, 记录每瓶鲜重产量。从每瓶中随机选取 5 根子实体, 利用游标卡尺测量子实体的长度和直径。鲜子实体于 50 °C 烘至恒重, 称重, 计算折干率。对于液体发酵实验, 子实体采收的同时收集菌膜, 用自来水洗涤后烘至恒重, 称重记录每瓶菌膜干重。

1.6 发酵参数的测定

1.6.1 菌丝生物量

采用干重法测定菌丝生物量。为提高精确性, 液体发酵实验将整瓶培养液用 4 层纱布过滤收集菌丝, 用去离子水淋洗菌丝去除残留的培养基成分, 菌丝于 50 °C 烘至恒重, 取干菌丝称重。

1.6.2 葡萄糖、蛋白质和培养液 pH

将液体发酵的培养液(0-84 h)样品于 8 000 r/min 离心 10 min, 取上清。葡萄糖的测定采用 3,5-二硝基水杨酸法^[17], 以 D-葡萄糖为标准品建立标准曲线, 根据标准曲线计算。蛋白质的测定采用考马斯亮蓝法^[18], 以牛血清白蛋白为标准品建立标准曲线, 根据标准曲线计算。用数显 pH 计测试培养液的 pH 值。

1.7 子实体营养成分的测定

蛹虫草子实体营养成分的测定按国家标准实施。水分的测定参照 GB 5009.3—2016《食品中水分的测定》^[19]; 灰分的测定参照 GB 5009.4—2016《食品中灰分的测定》^[20]; 粗蛋白的测定参照 GB 5009.5—2016《食品中蛋白的测定》^[21]; 粗脂肪的测定参照 GB 5009.6—2016《食品中脂肪的测定》^[22]; 粗纤维的测定参照 GB/T 5009.10—2003《植物类食品中粗纤维的测定》^[23]。样品委托青岛元信检测技术有限公司检测。

1.8 色素的提取、波长扫描及含量计算

蛹虫草色素的提取参考文献[24]。干子实体或菌膜用研磨研碎, 过 60 目筛, 称取 0.5 g 粉

末至 50 mL 离心管, 加入 20 mL 60%乙醇溶液, 50 °C水浴提取 30 min 后于 8 000 r/min 离心 10 min, 上清液即色素提取液。

色素提取液用 60%乙醇溶液适当稀释, 利用紫外-可见分光光度计进行扫描, 波长范围为 350–600 nm, 记录吸光度并绘制吸收图谱。适当稀释的色素提取液于 445 nm 处测吸光度, 色素含量的计算参照文献[25], 公式如下:

$$\text{色素含量}(\mu\text{g/g}) = \frac{A \times V \times D}{0.16W}$$

式中: A 为吸光度值; V 为提取溶剂用量(mL); D 为提取液稀释倍数; 0.16 为消光系数; W 为样品干重(g)。

1.9 色素稳定性试验

温度: 蛹虫草色素提取液于 20–90 °C (间隔 10 °C)水浴 1 h, 流动自来水冷却后测吸光度。

pH 值: 用 0.2 mol/L HCl 或 0.2 mol/L NaOH 溶液调提取液 pH 2.0–9.0 (间隔 1.0), 1 h 内测吸光度。

时间: 色素提取液 25 °C避光放置 1–5 d (间隔 1 d), 每 24 h 测吸光度。氧化剂 H₂O₂、维生素 C 及 NaCl: 以色素提取液为溶剂进行配制, 使氧化剂 H₂O₂、维生素 C 及 NaCl 的浓度为 0–3% (质量体积分数), 1 h 内测吸光度。所有样品检测波长为 445 nm, 用 60%乙醇溶液调零。

1.10 数据处理

液体发酵参数测定结果为 3 个独立重复, 农艺性状测试为每处理 10 个重复, 实验结果用平均值±标准差表示。采用 Student's *t* 检验分析样品间差异, *P*<0.05 为差异显著。使用 SPSS16.0 软件统计分析数据, 采用 Origin 8.0 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 蛹虫草液体发酵的发酵曲线

蛹虫草菌丝经摇床振荡并静置培养(60–84 h)过程的主要发酵参数变化如图 1。在振荡培养

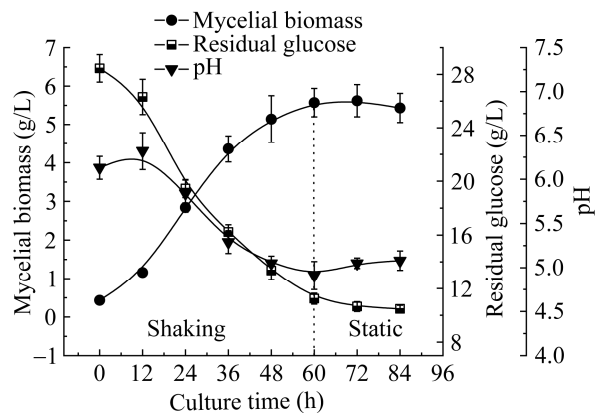


图 1 蛹虫草液体发酵培养过程中的主要发酵参数变化

Figure 1 Changes in main fermentation parameters during liquid fermentation culture of *Cordyceps militaris*.

阶段, 接种的蛹虫草菌丝延滞期短, 繁殖速度快, 至 60 h 时生物量达到 5.57 g/L。静置培养阶段 60–72 h 菌丝生长速度缓慢, 生物量仅少量增加, 随后(72–84 h)有一定下降。

振荡培养阶段葡萄糖浓度下降速度快, 至振荡培养结束时(60 h)葡萄糖浓度降至 11.24 g/L (起始值 28.45 g/L), 相应地, 该阶段菌丝生物量增加很快, 说明振荡培养阶段菌丝大量利用葡萄糖生长。静置培养阶段葡萄糖浓度仅略微下降, 主要作为碳源提供能量维持细胞基本代谢。

振荡培养阶段 0–12 h 时 pH 略有上升, 从 6.13 升高至 6.32, 随后逐渐下降, 至 60 h 时降至 4.91。发酵过程的 pH 变化与其他蛹虫草及食用菌菌株一致^[14,26-27]。发酵过程 pH 下降与蛹虫草菌丝分泌有机酸有关。静置培养阶段 pH 变化小, 与静置条件下溶氧及营养物质传递受到影响导致细胞代谢下降有关。

2.2 培育蛹虫草子实体的主要生长过程及培育参数

液体发酵培育蛹虫草子实体的主要生长过程及固态发酵培育的成熟子实体见图 2。振荡培

养阶段菌丝大量生长(图 2A), 随后静置培养 24 h 时液体培养基表面形成白色菌膜(图 2B), 图 2C 是光照刺激后转色的菌膜, 呈橘黄色, 生长成熟的子实体见图 2D。图 2E 是固态发酵生长成熟的子实体。

表 1 可以看出液体发酵培育蛹虫草子实体, 原基形成期为 10.8 d, 子实体生长时间为 37.3 d, 整个生产周期为 48.1 d。此外, 须指出的是, 子实体采收时培养液残留葡萄糖浓度低, 仅 1.31 g/L, 蛋白质浓度为 0.16 g/L, 说明菌丝可以有效利用培养基中的主要营养成分。

作为对照的固态发酵, 菌丝生长时间为 14.2 d, 原基形成期为 34.6 d, 子实体生长时间为 23.2 d, 生产周期为 57.8 d。比较 2 种发酵方式的培育参数可知: 固态发酵菌丝生长时间较长, 而

液体发酵则子实体生长时间较长, 液体发酵子实体生产周期较固态发酵缩短了 9.7 d。

2.3 蛹虫草子实体的农艺性状

色泽是评价蛹虫草质量的重要性状, 以橘黄色或金黄色子实体为佳。液体发酵培育的蛹虫草子实体色泽呈橘黄色(图 3A)。液体发酵子实体采收时还可收集到副产物菌膜(图 3), 干重产量达到每瓶 0.64 g, 与子实体干重产量相近。菌膜正面呈橘黄色(图 3B), 背面为金黄色(图 3C), 内部菌肉则为白色。由表 2 可知, 相较于固态发酵培育的子实体, 液体发酵培育的子实体长度更短, 直径较细。液体发酵鲜重产量为每瓶 6.72 g, 干重产量为每瓶 0.65 g, 均低于固态发酵(鲜重产量为每瓶 8.29 g, 干重产量为每瓶 1.21 g)。固态发酵子实体折干率高于液体发酵。



图 2 蛹虫草液体发酵培育子实体的主要生长过程及固态发酵培育的成熟子实体 A: 摇瓶培养菌丝生长. B: 形成的白色菌膜. C: 转色的菌膜. D: 生长成熟的子实体. E: 固态发酵生长成熟的子实体

Figure 2 Key processes of *Cordyceps militaris* fruiting bodies production by liquid fermentation and the mature fruiting bodies by solid-state fermentation. A: Mycelial growth in flasks. B: Formed white mycelial mat. C: Colored mycelial mat. D: Mature fruiting bodies. E: Mature fruiting bodies by solid-state fermentation.

表 1 蛹虫草液体发酵和固态发酵的子实体培育参数

Table 1 Cultivation parameters of *Cordyceps militaris* fruiting bodies by liquid fermentation and solid-state fermentation

Cultivation parameter	Liquid fermentation	Solid-state fermentation
Mycelial growth time (d)	3.5b	14.2±1.4a
Time for primordial emergence (d)	10.8±0.5b	34.6±2.1a
Time for fruiting body growth (d)	37.3±1.0a	23.2±2.0b
Production cycle (d)	48.1±1.2b	57.8±2.3a

同行数据不同字母表示差异显著, $P < 0.05$. 下同
Data with different letters in the same row indicate significant difference at $P < 0.05$. The same below.

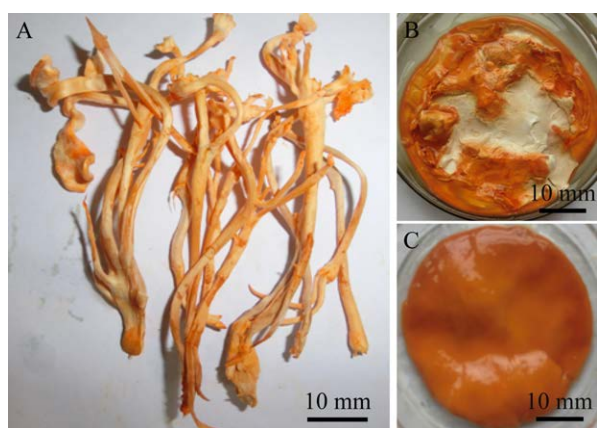
图 3 蛹虫草液体发酵培育的子实体及收集的菌膜
A: 成熟子实体. B: 菌膜正面. C: 菌膜背面

Figure 3 Fruiting bodies and harvested mycelial mat of *Cordyceps militaris* cultivated from liquid fermentation. A: Harvested mature fruiting bodies. B: The front of mycelial mat. C: The back of mycelial mat.

2.4 蛹虫草子实体的主要营养成分含量

从表 3 可以看出, 液体发酵培育的蛹虫草子实体的蛋白质含量极高, 达到 44.5%, 而固态发酵培育的子实体蛋白质含量仅为 28.5%, 提高 56.14%。液体发酵培育的子实体脂肪含量为 2.6%, 固态发酵仅为 1.4%, 提高 85.71%。液

表 2 液体及固态发酵培育的蛹虫草子实体的农艺性状

Table 2 Agronomic traits of the fruiting bodies of *Cordyceps militaris* cultivated from liquid and solid-state fermentations

Agronomic trait	Liquid fermentation	Solid-state fermentation
Fruitbody length (mm)	9.06±0.53b	11.46±0.41a
Stipe diameter (mm)	2.39±0.21b	3.15±0.28a
Fresh fruiting body yield per bottle (g)	6.72±0.27b	8.29±0.32a
Dry fruiting body yield per bottle (g)	0.65±0.03b	1.21±0.04a
Dry/fresh weight ratio	9.79±0.77b	14.60±0.06a

表 3 蛹虫草液体发酵及固态发酵培育子实体的主要营养成分含量

Table 3 The content of the main nutrient compositions of the fruiting bodies of *Cordyceps militaris* cultivated from liquid and solid-state fermentations

Nutrient composition	Liquid fermentation	Solid-state fermentation
Crude protein (%)	44.5	28.5
Crude fiber (%)	12.9	15.4
Crude fat (%)	2.6	1.4
Ash (%)	8.8	4.6
Moisture (%)	5.3	3.8

体发酵培育的子实体灰分含量为 8.8%, 较固态发酵(4.6%)提高 91.30%。液体发酵培育的子实体粗纤维含量为 12.9%, 低于固态发酵(15.4%), 水分含量为 5.3%, 高于固态发酵(3.8%)。

2.5 蛹虫草子实体色素的紫外-可见波长扫描图谱及含量

液体发酵及固态发酵培育的蛹虫草子实体, 其色素的波长扫描图谱见图 4。图 4 中可以看出, 2 种不同发酵方法子实体色素的吸收图谱相似, 445 nm 处有最大吸收峰, 显示发酵方式对蛹虫草子实体色素的组成和化学结构无明显影响。吸收图谱及最大吸收峰与已报道蛹虫草色素一致^[28]。液体发酵培育的蛹虫草子实

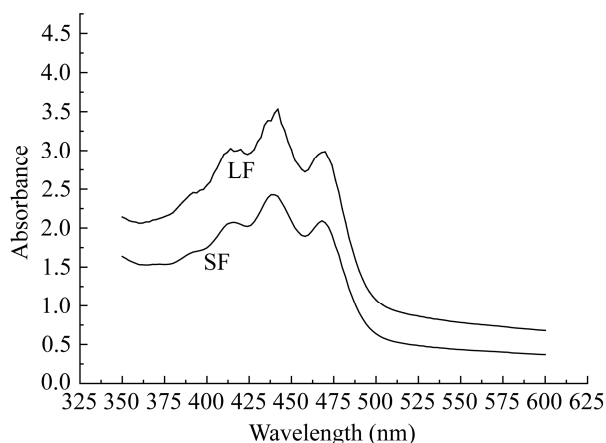


图4 液体发酵及固态发酵蛹虫草子实体色素的紫外-可见波长扫描图谱 LF: 液体发酵; SF: 固态发酵

Figure 4 Ultraviolet-visible adsorption spectra of the pigments of the fruiting bodies of *Cordyceps militaris*. LF: Liquid fermentation; SF: Solid-state fermentation.

体的色素含量为 740.21 $\mu\text{g/g}$, 菌膜色素含量为 684.78 $\mu\text{g/g}$, 固态发酵子实体的色素含量更高, 达到 867.45 $\mu\text{g/g}$ 。上述色素含量与已报道的结果相近或略有提高^[24,28]。

2.6 蛹虫草子实体的色素稳定性

不同理化因子对蛹虫草色素稳定性的影响见图 5。图 5A 显示液体发酵培育的蛹虫草子实体, 其色素在 20–80 $^{\circ}\text{C}$ 较稳定, 但温度升高至 90 $^{\circ}\text{C}$ 时颜色加深, 吸光度增加, 说明较高温度下有增色效应, 而固态发酵培育的子实体, 其色素在测试温度范围(20–90 $^{\circ}\text{C}$)吸光度无明显变化, 说明发酵方式对蛹虫草色素合成有一定影响。由图 5B 可知, 液体发酵培育子实体色素对 pH 稳定, 不同 pH 处理吸光度变化极小, 但固态发酵培育子实体色素对 pH 敏感, 吸光度随 pH 上升而下降。由图 5C 可知, 液体及固态发酵子实体色素在测试时间内稳定。氧化剂 H_2O_2 对两种发酵培育的子实体色素均有极大破

坏作用, 吸光度随浓度增加显著下降(图 5D)。维生素 C 和 NaCl 对两种发酵培育的子实体色素的稳定性无影响(图 5E 和 5F)。张杰等^[29]考察了不同理化因素对蛹虫草废弃培养基提取色素稳定性的影响, 发现 pH 的影响极小而温度具有增色效应, 与本研究液体发酵培育子实体色素相一致, 他们发现色素吸光度随时间延长有明显下降而 NaCl 有增色效应, 与本研究结果有一定差别。

3 讨论与结论

蛹虫草的高效、高品质、低成本栽培生产一直是重要研究内容, 已开展广泛研究, 如原料和栽培模式对产量和质量的影响^[6-7,30]、光质和强度对活性成分合成及农艺性状的影响^[31-33]、重金属对子实体生长的影响^[34], 以及栽培容器透气性能对生长周期和产量的影响^[35]等。液体发酵作为一种生产微生物产品的重要方法, 有关液体发酵生产虫草菌丝体、虫草素及多糖等的研究报道较多, 如优化培养条件提高虫草菌丝和多糖产率^[36]、利用固定化细胞重复分批发酵生产胞外多糖^[37]、表面发酵生产虫草素^[38]、添加无机硒生产富硒蛹虫草菌丝^[39], 以及添加金属离子和表面活性剂促进活性产物合成^[14,40]等。利用液体发酵培育食药菌子实体的研究并不鲜见, 如糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*)^[41]及灵芝^[42]。然而, 尽管行业技术人员熟知蛹虫草菌株在一定条件下易在液体培养基生长子实体这一现象, 但迄今为止, 液体培养基条件下菌株间形成子实体能力的差异、培养基种类和组成对子实体形成及其相关参数, 以及营养成分等的影响未见相关报道。本研究利用液体发酵培育蛹虫草子实体产量较高, 并且较固态发酵可缩短生产周期。

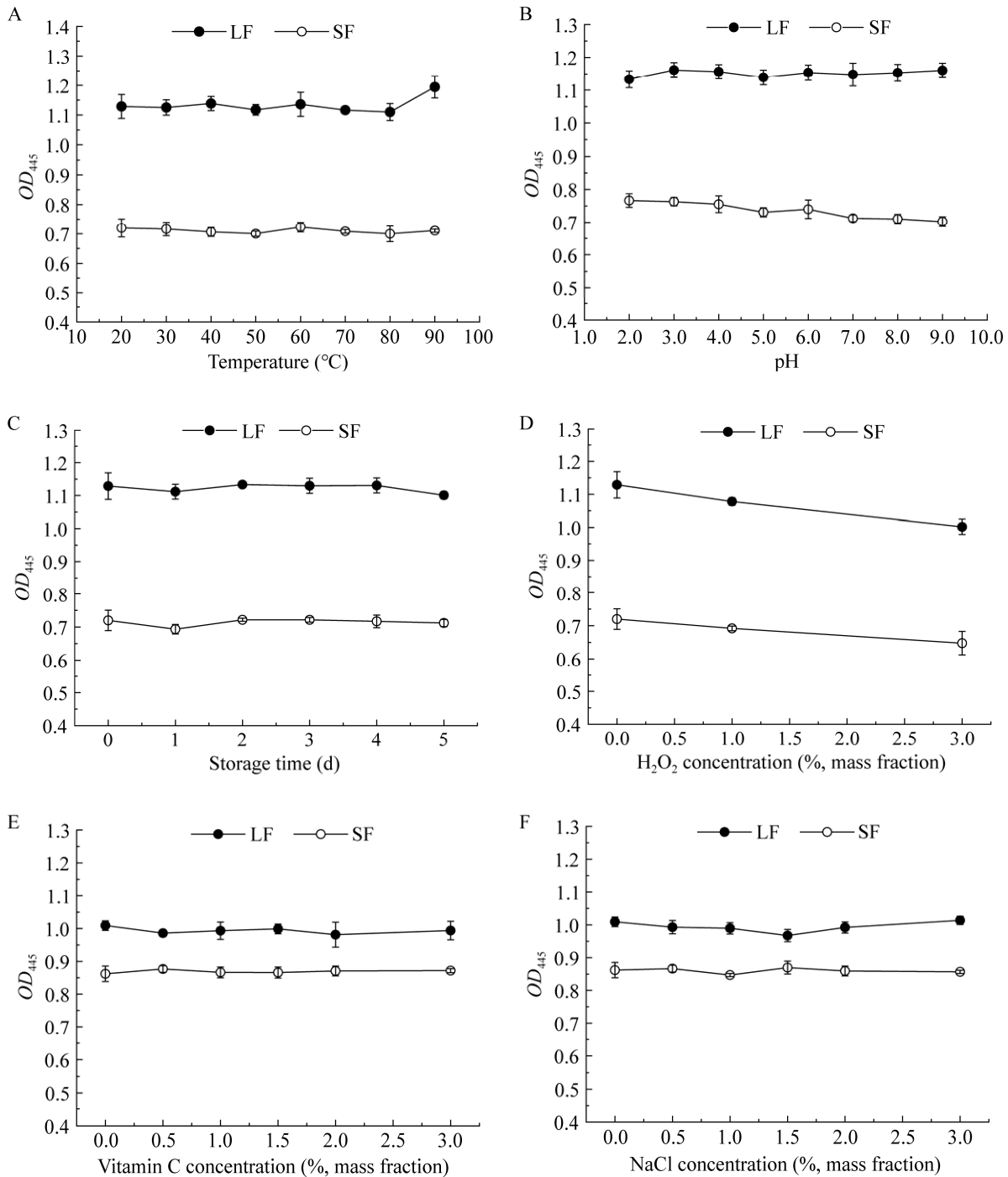


图 5 理化因子对蛹虫草液体发酵及固态发酵子实体色素稳定性的影响 LF: 液体发酵; SF: 固态发酵

Figure 5 Effects of physical and chemical factors on the pigment stability of *Cordyceps militaris* fruiting bodies cultivated from liquid and solid-state fermentations. LF: Liquid fermentation; SF: Solid-state fermentation.

蛹虫草是珍贵的营养滋补品和保健食品,又可作为中药材,因此,蛹虫草质量是研究的重要关注点。蛹虫草质量受菌种、培养基、栽培模式等因素影响^[7,10]。本研究利用液体发酵培育蛹虫草子实体,发现蛋白质含量极高,达到44.5%,较传统固态发酵生产的子实体提高50%以上,与液体培养基含较高浓度有机氮源且培养过程可被菌丝和子实体有效利用有关。已报道蛹虫草子实体蛋白质含量约25%^[4,43],远低于本研究结果,因此,液体发酵可用于生产高蛋白质含量的蛹虫草子实体,提高营养价值。此外,本研究发现液体发酵培育的蛹虫草子实体灰分含量高,推测培养过程中菌丝及子实体具有很强的富集液体培养基中 K^+ 和 Mg^{2+} 等矿质元素的能力,因此,液体发酵培育的蛹虫草子实体可作为微量元素强化食品或原料。

蛹虫草色素是类胡萝卜素类的活性成分。天然来源的类胡萝卜素具有较高的营养与保健价值,几乎所有类胡萝卜素有抗氧化活性、增强免疫力及防紫外线损伤等功能^[44]。近年来,蛹虫草色素的发酵生产、提取、分离和结构鉴定受到持续关注^[25,45-46],含量高低是评价蛹虫草品质的一个重要指标^[47]。本研究利用液体发酵培育蛹虫草子实体,色素含量较高,并且副产物(菌膜)色素含量也较高,因此,蛹虫草液体发酵培育子实体过程产生的菌膜副产物可作为高安全性原料用于提取天然色素,提高液体发酵生产蛹虫草的经济性。此外,菌膜还可作为提取虫草多糖、虫草素等活性成分的原料,充分挖掘其潜在价值并减少资源浪费。

近年来,我国的蛹虫草栽培规模不断扩大,随之产生的大量废弃培养基造成严重的环境污染^[48-49],这已成为制约蛹虫草大规模栽培的主要障碍,蛹虫草废弃培养基的利用已成为一个亟须解决的难题。为充分利用资源且减少环境污染,

研究人员从蛹虫草废弃培养基提取多糖和肽类等活性成分^[50-51]作为发酵原料生产食醋^[49],并且作为饲料提高免疫力、增强疾病抵抗力及促进生长^[48,52]。本研究利用液体发酵技术培育蛹虫草子实体,子实体采收时仅残留少量低营养成分含量的废弃液体培养基,相较于产生大量废弃固体培养基的固态发酵易于处理、环境污染更小,有利于环境保护和可持续发展,是该技术生产蛹虫草子实体的一个重要优势。

众所周知,大多数食药菌富集重金属的能力很强,长久以来一直备受研究者的关注。研究表明食药菌可富集土壤、栽培基质及液体培养基中的重金属^[53-55],以及依据这一特性,一些食药菌如杏鲍菇菌株在重金属污染土壤的生态修复中得到应用^[56]。重金属经食药菌富集后可通过食物链进入人体,超过一定限量后对神经系统、消化系统和免疫系统等会造成严重损害^[57]。研究表明,蛹虫草富集铅、铬、硒等重金属的能力较强^[58-60],对锌具有超富集能力^[61]。本研究利用人工配制的液体培养基培育蛹虫草子实体,易通过原料的选择和优化培养基组成等方法控制并降低重金属富集,因此,利用液体发酵培育蛹虫草子实体可获得无重金属污染的高安全性蛹虫草产品,提高食品安全性。

综上所述,利用液体发酵培育蛹虫草子实体产量较高,不但可缩短生产周期、提高产品质量、降低重金属污染、提高产品安全性,还可减少废弃物产生、降低环境污染。同时产生的副产物菌膜易于收集,具有较高的开发利用价值。因此,利用液体发酵技术培育蛹虫草子实体具有较高的开发和应用前景。

REFERENCES

- [1] ABDULLAH S, KUMAR A. A brief review on the medicinal uses of *Cordyceps militaris*[J]. Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine, 2023, 7: 100228.

- [2] SHRESTHA B, ZHANG W, ZHANG Y, LIU X. The medicinal fungus *Cordyceps militaris*: research and development[J]. Mycological Progress, 2012, 11: 599-614.
- [3] DAS SK, MASUDA M, SAKURAI A, SAKAKIBARA M. Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris*: current state and prospects[J]. Fitoterapia, 2010, 81: 961-968.
- [4] 林群英, 李泰辉, 宋斌, 黄浩. 广东虫草与冬虫夏草及蛹虫草的成分比较[J]. 食用菌学报, 2009, 16(4): 54-57.
LIN QY, TI TH, SONG B, HUANG H. Comparison of selected chemical component levels in *Cordyceps guangdongensis*, *C. sinensis* and *C. militaris*[J]. Acta Edulis Fungi, 2009, 16(4): 54-57 (in Chinese).
- [5] 叶春苗. 啤酒糟栽培蛹虫草[J]. 食用菌学报, 2015, 22(3): 43-47.
YE CM. Cultivation of *Cordyceps militaris* using spent brewer's grain[J]. Acta Edulis Fungi, 2015, 22(3): 43-47 (in Chinese).
- [6] LIN Q, LONG L, WU L, ZHANG F, WU S, ZHANG W, SUN X. Evaluation of different agricultural wastes for the production of fruiting bodies and bioactive compounds by medicinal mushroom *Cordyceps militaris*[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97: 3476-3480.
- [7] WU CY, LIANG CH, LIANG ZC. Enhanced production of fruiting bodies and bioactive compounds of *Cordyceps militaris* with grain substrates and cultivation patterns[J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2022, 132: 104138.
- [8] HONG IP, KANG PD, KIM KY, NAM SH, LEE MY, CHOI YS, KIM NS, KIM HK, LEE KG, HUMBER RA. Fruit body formation on silkworm by *Cordyceps militaris*[J]. Mycobiology, 2010, 38: 128-132.
- [9] GUO M, GUO S, YANG H, BU N, DONG C. Comparison of major bioactive compounds of the caterpillar medicinal mushroom, *Cordyceps militaris* (*Ascomycetes*), fruiting bodies cultured on wheat substrate and pupae[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2016, 18: 327-336.
- [10] 朱丽娜, 刘艳芳, 张红霞, 李传化, 张忠, 周帅, 高新华, 唐庆九. 培养基和栽培方式对蛹虫草子实体活性成分的影响[J]. 菌物学报, 2021, 40(11): 3034-3045.
ZHU LN, LIU YF, ZHANG HX, LI CH, ZHANG Z, ZHOU S, GAO XH, TANG QJ. Effects of culture media and culture technique on the bioactive and nutrition components in *Cordyceps militaris* fruiting bodies[J]. Mycosystema, 2021, 40(11): 3034-3045 (in Chinese).
- [11] FENG J, FENG N, TANG QJ, LIU YF, TANG CH, ZHOU S, WANG JY, TAN Y, ZHANG JS, LIN CC. Development and optimization of the triterpenoid and sterol production process with Lingzhi or Reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* strain G0017 (*Agaricomycetes*), in liquid submerged at large scale[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2021, 23: 43-53.
- [12] PERVEEN I, BUKHARI B, SARWAR A, AZIZ T, KOSER N, YOUNIS H, AHMAD Q, SABAHAT S, TZORA A, SKOUFOS I. Applications and efficacy of traditional to emerging trends in lacto-fermentation and submerged cultivation of edible mushrooms[J]. Biomass Conversion and Biorefinery, 2023. DOI: 10.1007/s13399-023-04694-9.
- [13] SHIH I L, TSAI K L, HSIEH C. Effects of culture conditions on the mycelial growth and bioactive metabolite production in submerged culture of *Cordyceps militaris*[J]. Biochemical Engineering Journal, 2007, 33: 193-201.
- [14] FAN DD, WANG W, ZHONG JJ. Enhancement of cordycepin production in submerged cultures of *Cordyceps militaris* by addition of ferrous sulfate[J]. Biochemical Engineering Journal, 2012, 60: 30-35.
- [15] TANG JP, QIAN ZQ, WUH. Enhancing cordycepin production in liquid static cultivation of *Cordyceps militaris* by adding vegetable oils as the secondary carbon source[J]. Bioresource Technology, 2018, 268: 60-67.
- [16] 王路朋, 刘凌云, 姚澜, 范冬雨, 李长田, 李玉. 人工疏蕾对杏鲍菇产量及品质的影响[J]. 微生物学通报, 2022, 49(10): 4186-4193.
WANG LP, LIU LY, YAO L, FAN DY, LI CT, LI Y. Effect of artificial bud thinning on yield and quality of *Pleurotus eryngii*[J]. Microbiology China, 2022, 49(10): 4186-4193 (in Chinese).
- [17] MILLER GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar[J]. Analytical Chemistry, 1959, 31: 426-427.
- [18] BRADFORD MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976; 72: 248-254.
- [19] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中水分的测定: GB 5009.3—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National Food Safety

- Standard: Determination of moisture in food: GB 5009.3—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016 (in Chinese).
- [20] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中灰分的测定: GB 5009.4—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National Food Safety Standard: Determination of ash in food: GB 5009.4—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016 (in Chinese).
- [21] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定: GB 5009.5—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National Food Safety Standard: Determination of protein in food: GB 5009.5—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016 (in Chinese).
- [22] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中脂肪的测定: GB 5009.6—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National Food Safety Standard: Determination of fat in food: GB 5009.6—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016 (in Chinese).
- [23] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. 植物类食品中粗纤维的测定: GB/T 5009.10—2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- Ministry of Health of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. Determination of crude fiber in vegetable foods: GB/T 5009.10—2003[S]. Beijing: Standards Press of China, 2003 (in Chinese).
- [24] 殷林, 林俊芳, 钱璟, 叶志伟, 罗诗华, 郭丽琼, 云帆. 高产类胡萝卜素的蛹虫草液体培养基优化及其提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(18): 79-84.
- YIN L, LIN JF, QIAN J, YE ZW, LUO SH, GUO LQ, YUN F. Optimization of the liquid culture medium composition for high carotenoid production by *Cordyceps militaris* and the investigation on the improvement of carotenoid extraction[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(18): 79-84 (in Chinese).
- [25] ZHAO Y, LI SL, CHEN HY, ZOU Y, ZHENG QW, GUO LQ, WU GH, LU J, LIN JF, YE ZW. Enhancement of carotenoid production and its regulation in edible mushroom *Cordyceps militaris* by abiotic stresses[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2021, 148: 109808.
- [26] ELISSETCHE J P, FERRAZ A, FREER J, RODRÍGUEZ J. Enzymes produced by *Ganoderma australe* growing on wood and in submerged cultures[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2007, 23: 429-434.
- [27] LIN LT, LAI YJ, WU SC, HSU WH, TAI CJ. Optimal conditions for cordycepin production in surface liquid-cultured *Cordyceps militaris* treated with porcine liver extracts for suppression of oral cancer[J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2018, 26: 135.
- [28] 唐鸿标, 陈楚欣, 林俊芳, 娄海伟, 叶志伟, 郭丽琼. 蛹虫草新型黄色素结构的初步鉴定及响应面优化提取工艺[J]. 食品科学, 2019, 40(22): 299-305.
- TANG HB, CHEN CX, LIN JF, LOU HW, YE ZW, GUO LQ. New yellow pigment from *Cordyceps militaris*: structural identification and optimization of extraction by response surface methodology[J]. Food Science, 2019, 40(22): 299-305 (in Chinese).
- [29] 张杰, 范志微, 王滨松, 张国财. 蛹虫草培养基色素的提取与稳定性[J]. 食用菌学报, 2012, 19(4): 17-20.
- ZHANG J, FAN ZW, WANG BS, ZHANG GC. Extraction and stability of pigment from *Cordyceps militaris* cultivation medium[J]. Acta Edulis Fungi, 2012, 19(4): 17-20 (in Chinese).
- [30] LIANG ZC, LIANG CH, WU CY. Various grain substrates for the production of fruiting bodies and bioactive compounds of the medicinal caterpillar mushroom, *Cordyceps militaris* (Ascomycetes)[J]. International Journal of Medicinal mushrooms, 2014, 16: 569-578.
- [31] DONG JZ, LEI C, ZHENG XJ, AI XR, WANG Y, WANG Q. Light wavelengths regulate growth and active components of *Cordyceps militaris* fruit bodies[J]. Journal of Food Biochemistry, 2013, 37: 578-584.
- [32] YI ZL, HUANG WF, REN Y, ONAC E, ZHOU GF, PENG S, WANG XJ, LI HH. LED lights increase bioactive substances at low energy costs in culturing fruiting bodies of *Cordyceps militaris*[J]. Scientia Horticulturae, 2014, 175: 139-143.
- [33] CHIANG SS, LIANG ZC, WANG YC, LIANG CH. Effect of light-emitting diodes on the production of cordycepin, mannitol and adenosine in solid-state fermented rice by *Cordyceps militaris*[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2017, 60: 51-56.
- [34] CHEN YS, LIU BL, CHANG YN. Effects of light and heavy metals on *Cordyceps militaris* fruit body growth in rice grain-based cultivation[J]. Korean Journal of

- Chemical Engineering, 2011, 28: 875-879.
- [35] 张金艳, 吴坤林, 段俊, 乔爱民. 培养瓶透气性对蛹虫草生长的影响[J]. 广东农业科学, 2010, 37(4): 45-47.
ZHANG JY, WU KL, DUAN J, QIAO AM. Influence of air permeability on growth of *Cordyceps militaris*[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2010, 37(4): 45-47 (in Chinese).
- [36] XIAO JH, XIAO DM, XIONG Q, LIANG ZQ, ZHONG JJ. Nutritional requirements for the hyperproduction of bioactive exopolysaccharides by submerged fermentation of the edible medicinal fungus *Cordyceps taii*[J]. Biochemical Engineering Journal, 2010, 49: 241-249.
- [37] WANG CC, WU JY, CHANG CY, YU ST, LIU YC. Enhanced exopolysaccharide production by *Cordyceps militaris* using repeated batch cultivation[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2018, 127: 499-505.
- [38] SARI N, SUPARMIN A, KATO T, PARK EY. Improved cordycepin production in a liquid surface culture of *Cordyceps militaris* isolated from wild strain[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2016, 21: 595-600.
- [39] DONG JZ, LEI C, AI XR, WANG Y. Selenium enrichment on *Cordyceps militaris* Link and analysis on its main active components[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2012, 166: 1215-1224.
- [40] CUI JD, ZHANG YN. Evaluation of metal ions and surfactants effect on cell growth and exopolysaccharide production in two-stage submerged culture of *Cordyceps militaris*[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2012, 168: 1394-1404.
- [41] YOSHIMURA H, WASHIO H, YOSHIDA S, SEINO T, OTAKA M, MATSUBARA K, MATSUBARA M. Promoting effect of wood vinegar compounds on fruit-body formation of *Pleurotus ostreatus*[J]. Mycoscience, 1995, 36: 173-177.
- [42] SEO GS, SHIN GC, OTANI H, KODAMA M, KOHMOTO K. Formation of atypical fruiting structures in *Ganoderma lucidum* isolates on a nutrient agar medium[J]. Mycoscience, 1995, 36: 1-7.
- [43] 林群英, 黄浩, 宋斌, 蒋倩婷, 李泰辉. 蛹虫草白化菌株生物学特性及其子实体成分分析[J]. 食用菌学报, 2011, 18(1): 1-4.
LIN QY, HUANG H, SONG B, JIANG QT, TI TH. Analysis of selected biological characteristics and chemical components of an albino strain of *Cordyceps militaris*[J]. Acta Edulis Fungi, 2011, 18(1): 1-4 (in Chinese).
- [44] RODRIGUEZ-AMAYA DB. Quantitative analysis, *in vitro* assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids-a review[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2010, 23: 726-740.
- [45] DONG JZ, WANG SH, AI XR, YAO L, SUN ZW, LEI C, WANG Y, WANG Q. Composition and characterization of cordyxanthins from *Cordyceps militaris* fruit bodies[J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5: 1450-1455.
- [46] TANG H, CHEN C, ZOU Y, LOU H, ZHENG Q, GUO L, LIN J, YE Z, YUN F. Purification and structural characterization of a novel natural pigment cordycepin from edible and medicinal mushroom *Cordyceps militaris*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103: 7943-7952.
- [47] YANG T, SUN J, LIAN T, WANG W, DONG C. Process optimization for extraction of carotenoids from medicinal caterpillar fungus, *Cordyceps militaris* (*Ascomycetes*)[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2014, 16: 125-135.
- [48] DOAN HV, HOSEINIFAR SH, DAWOOD MAO, CHITMANAT C, TAYYAMATH K. Effects of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and *Lactobacillus plantarum* on mucosal, serum immunology and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 70: 87-94.
- [49] LIU L, CHEN Y, LUO Q, XU N, ZHOU M, GAO B, WANG C, SHI Y. Fermenting liquid vinegar with higher taste, flavor and healthy value by using discarded *Cordyceps militaris* solid culture medium[J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 98: 654-660.
- [50] ZENG Y, ZHANG Y, ZHANG L, CUI S, SUN Y. Structural characterization and antioxidant and immunomodulation activities of polysaccharides from the spent rice substrate of *Cordyceps militaris*[J]. Food Science and Biotechnology, 2015, 24: 1591-1596.
- [51] WANG Y, HUANG C, LU F, YE X, MA H. In-situ and real-time monitoring of two-stage enzymatic preparation of ACE inhibitory peptides from *Cordyceps militaris* medium residues by ultrasonic-assisted pretreatment[J]. Food Chemistry, 2023, 418: 135886.
- [52] DOAN HV, HOSEINIFAR SH, TAPINGKAE W, CHITMANAT C, MEKCHAY S. Effects of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate on mucosal and serum immune parameters, disease resistance and growth performance of Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 67: 78-85.
- [53] CHEN XH, ZHOU HB, QIU GZ. Analysis of several

- heavy metals in wild edible mushrooms from regions of China[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2009, 83: 280-285.
- [54] RZYMSKI P, MLECZEK M, SIWULSKI M, GASECKA M, NIEDZIELSKI P. The risk of high mercury accumulation in edible mushrooms cultivated on contaminated substrates[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2016, 51: 55-60.
- [55] SANGLIMSUWAN S, YOSHIDA N, MORINAGA T, MUROOKA Y. Resistance to and uptake of heavy metals in mushrooms[J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1993, 75: 112-114.
- [56] WANG Y, ZHANG BW, CHEN NJ, WANG C, FENG S, XU H. Combined bioremediation of soil co-contaminated with cadmium and endosulfan by *Pleurotus eryngii* and *Coprinus comatus*[J]. Journal of Soils and Sediments, 2018, 18: 2136-2147.
- [57] DOWLATI M, SOBHI HR, ESRAFILI A, FARZADKIA M, YEGANEH M. Heavy metals content in edible mushrooms: a systematic review, meta-analysis and health risk assessment[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 109: 527-535.
- [58] SONG QY, LI YQ, JIA YQ, PAN LC, ZHU ZY. Comparison of response mechanism of ordinary *Cordyceps militaris* and domesticated *Cordyceps militaris* to Pb^{2+} stress[J]. Process Biochemistry, 2021, 107: 112-120.
- [59] 刘元涛, 王建瑞, 李虹, 刘一鹏, 刘宇, 程显好. 铬离子对蛹虫草子实体生物量及化学成分的影响[J]. 菌物学报, 2022, 41(8): 1314-1323.
- LIU YT, WANG JR, LI H, LIU YP, LIU Y, CHENG XH. Effects of enriching chromium ion on biomass and chemical composition of fruit body of *Cordyceps militaris*[J]. Mycosystema, 2022, 41(8): 1314-1323 (in Chinese).
- [60] REN YY, SUN PP, LI HR, ZHU ZY. Effects of Na_2SeO_3 on growth, metabolism, antioxidase and enzymes involved in polysaccharide synthesis of *Cordyceps militaris*[J]. Process Biochemistry, 2020, 97: 64-71.
- [61] 程显好, 盖宇鹏, 孙慧涌, 柏新富, 张秋胜. 蛹虫草对锌的耐性与富集特征[J]. 生态学报, 2010, 30(6): 1449-1455.
- CHENG XH, GE YP, SUN HY, BAI XF, ZHANG QS. Zinc tolerance and accumulation characteristics of *Cordyceps militaris*[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(6): 1449-1455 (in Chinese).