

乌血芝麦角甾醇液体发酵工艺优化

袁培焯^{1,2}, 何迪^{1,2}, 卢彬³, 叶璐瑶², 程婷², 台珂², 刘主^{1,2*}

1 广东省粤北食药资源利用与保护重点实验室, 广东 韶关 512005

2 韶关学院生物与农业学院, 广东 韶关 512005

3 韶关学院医学院, 广东 韶关 512005

摘要: 以乌血芝菌丝体中麦角甾醇产量为评价指标, 通过单因素试验结合响应面法深入研究了碳源、无机盐和生长素及其添加量对乌血芝液体发酵产麦角甾醇的影响。结果显示, 各因素对麦角甾醇产量的影响依次为: 生长素、无机盐、碳源, 其中生长素的影响极显著, 无机盐影响显著, 而碳源的影响不显著。通过优化, 确定了最优的发酵工艺参数: 发酵培养基为马铃薯 200 g/L、复合碳源 38.481 g/L (葡萄糖:蔗糖, 1:1, 质量比)、无机盐 4.143 g/L (KH_2PO_4 : CaSO_4 , 3:1, 质量比)、生长素 143.616 $\mu\text{mol/L}$ (水杨酸), 接种量为 2%, 培养时间为 17 d。在此条件下, 麦角甾醇的预测最大产量为 3.597 mg/150 mL, 实际产量均值为 3.801 mg/150 mL, 与优化前的产量(1.524 mg/150 mL)相比, 提高了 149.41%。该发酵工艺稳定可控、效率高且成本低廉, 所生产的乌血芝发酵菌丝体富含麦角甾醇, 为麦角甾醇在食品、药品研发领域的应用提供了有力支持。

关键词: 乌血芝; 麦角甾醇; 响应面法; 液体发酵

[引用本文]

袁培焯, 何迪, 卢彬, 叶璐瑶, 程婷, 台珂, 刘主, 2025. 乌血芝麦角甾醇液体发酵工艺优化. 菌物学报, 44(9): 250063

Yuan PZ, He D, Lu B, Ye LY, Cheng T, Tai K, Liu Z, 2025. Optimization of liquid fermentation process for *Sanguinoderma rugosum* ergosterol biosynthesis. Mycosystema, 44(9): 250063

资助项目: 广东省教育厅普通高校重点项目(2022ZDZX2058); 广东省本科高校教学质量与教学改革工程项目(432-990013260203); 韶关市科技计划项目(230324108035317); 韶关学院科研重点项目(SZ2022KJ02); 韶关学院“质量工程”建设项目(432-990013250243)

This work was supported by the Key Project of Guangdong Provincial Department of Education for Ordinary Universities (2022ZDZX2058), the Guangdong Provincial Teaching Quality and Educational Reform Project for Undergraduate Colleges and Universities (432-990013260203), the Shaoguan Science and Technology Plan Project (230324108035317), the Key Research Projects of Shaoguan University (SZ2022KJ02), and the Shaoguan University's "Quality Engineering" Construction Project (432-990013250243).

*Corresponding author. E-mail: liuzhu@sgu.edu.cn

ORCID: YUAN Peizhuo (0009-0002-5735-4283)

Received: 2025-03-13; Accepted: 2025-04-10

Optimization of liquid fermentation process for *Sanguinoderma rugosum* ergosterol biosynthesis

YUAN Peizhuo^{1,2}, HE Di^{1,2}, LU Bin³, YE Luyao², CHENG Ting², TAI Ke², LIU Zhu^{1,2*}

1 Guangdong Provincial Key Laboratory of Utilization and Conservation of Food and Medicinal Resources in Northern Region, Shaoguan University, Shaoguan 512005, Guangdong, China

2 College of Biology and Agriculture, Shaoguan University, Shaoguan 512005, Guangdong, China

3 School of Medical, Shaoguan University, Shaoguan 512005, Guangdong, China

Abstract: The effects of different concentrations of carbon sources, inorganic salts, and growth hormones on ergosterol biosynthesis in *Sanguinoderma rugosum* mycelia during liquid fermentation were systematically investigated using ergosterol yield as the critical evaluation metric. A hybrid methodology integrating single-factor experiments and response surface optimization (RSM) were employed to identify key influencing factors. Statistical analysis revealed the following order of factor significance: growth hormones>inorganic salts>carbon sources, with growth hormones demonstrating a highly significant impact ($P<0.01$), inorganic salts showing moderate significance ($P<0.05$), and carbon sources exhibiting no statistical relevance. The optimized fermentation parameters were established as: fermentation medium containing 200 g/L potato, 38.481 g/L composite carbon sources (glucose:sucrose, 1:1, M/M), 4.143 g/L inorganic salts (KH_2PO_4 : CaSO_4 , 3:1, M/M), and 143.616 $\mu\text{mol/L}$ growth hormone (salicylic acid), with 2% inoculum and 17-day cultivation. Under these conditions, the predicted maximum ergosterol yield reached 3.597 mg/150 mL, while experimental validation yielded a mean value of 3.801 mg/150 mL, representing a 149.41% enhancement compared to the baseline yield (1.524 mg/150 mL). The optimized protocol exhibited robust reproducibility, high efficiency, and cost-effectiveness, producing *Sanguinoderma rugosum* mycelia enriched with ergosterol. This advancement provides a scalable bioprocess for ergosterol production, supporting its potential utilization in functional foods and pharmaceutical precursors.

Keywords: *Sanguinoderma rugosum*; ergosterol; response surface method; liquid fermentation

麦角甾醇, 作为真菌细胞膜的关键成分, 对维持细胞膜功能至关重要(Tanwar *et al.* 2024)。该化合物在食品、医药领域展现出广泛应用潜力(Nowak *et al.* 2022; Rangsinth *et al.* 2023)。麦角甾醇是真菌中的一种关键甾醇(He *et al.* 2019), 作为脂溶性维生素 D₂ 的前体, 可通过人工或天然紫外线照射转化(樊晓飞 2013; Jiang *et al.* 2020)。医药领域视其为重要中间体, 用于生产芸苔素内酯、可的松、黄体酮等药物(邓玉清等 2001; 宋明杰和包海鹰 2013)。麦角甾醇具有多种生物活性, 除了增强抵抗力外, 还具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抑菌和利尿的功效(程洋洋等

2021)。当前, 主要通过微生物发酵获取麦角甾醇, 而菌丝体提取法虽取得进展, 但受限于菌丝体的生长环境及提取工艺等因素, 仍需深入研究和完善(Liu *et al.* 2019)。关于乌血芝中麦角甾醇提取方法的研究相对较少, 然而, 从其他食用菌如巴西蘑菇(Correa *et al.* 2018)、双孢蘑菇(Helena *et al.* 2016)和香菇(Liu *et al.* 2023)中提取麦角甾醇的技术已经相当成熟。提取方法包括常规方法(索氏提取法、热辅助提取法)和非常规方法(超声波辅助提取法、深共熔溶剂提取法等), 可单独或联合使用。其中, 超声波辅助提取法是常用手段之一(Papoutsis *et al.* 2020)。研究

表明,通过液体发酵工艺优化,猴头菌(张忠等 2021)与羊肚菌(郭更新等 2023)的麦角甾醇产量显著提升,分别达到 69.79 mg/L 和 59.16 mg/L。然而关于乌血芝中麦角甾醇的液体发酵研究相对匮乏。通过液体发酵乌血芝并优化其工艺,可显著提高菌丝体的产量以及麦角甾醇的含量。因此,本研究不仅具有重要的理论参考价值,还展现出广阔的实际应用潜力。

乌血芝 *Sanguinoderma rugosum* (Blume & T. Nees) Y.F. Sun, D.H. Costa & B.K. Cui, 又名皱盖假芝,原归类于广义假芝属 *Amauroderma*, 现被重新界定为灵芝科血芝属 *Sanguinoderma*, 具有抗炎、利尿、改善胃功能、抗肿瘤、抗菌、抗氧化和免疫调节功能(Wu *et al.* 2019),是一种传统药用真菌(Sun *et al.* 2020; 肖自添等 2024)。其菌盖呈灰褐色至黑色,具不规则褶皱,形态为圆形或近圆形,菌腹为白色,幼嫩子实体具有“受损流血”特性并伴有浓郁香气,故又名“香血灵芝”(曾维军等 2022)。主要分布于我国华南和云南南部地区,春夏季生长于阔叶树林地上或土中腐木上(陈体强等 2002; 吴芳等 2020; 戴玉成等 2022; 马海霞等 2022; 朱安红等 2024)。尽管在传统中药中使用不如灵芝广泛,但乌血芝展现出与灵芝相当甚至更优良的生物活性(Li *et al.* 2020)。目前,已从乌血芝中鉴定出 50 余种生物活性化合物,涵盖多糖、甾醇、萜类等化合物,具有抗癌、抗炎、抗氧化、免疫调节及保肝护胃等多种药理作用(Chan *et al.* 2013; Zheng *et al.* 2022)。此外,乌血芝还能缓解炎症、预防癌症及促进利尿(Li *et al.* 2024; 戴玉成和杨祝良 2008),传统上还被用于预防癫痫发作和婴儿持续哭闹症状(Chang & Lee 2004)。乌血芝在改善胃部不适方面展现出了显著效果,本课题组其他成员已深入研究其多种活性成分,包括详细探讨了乌血芝水提取物对胃损伤的保护作用(Mai *et al.* 2022),并进一步研究了乙醇提取物及其脂溶性成分麦角甾醇在急性胃溃疡模型中的保护作用及机制(Xu *et al.* 2024)。

随着社会中亚健康人群的比例持续增加,以及癌症、慢性代谢疾病等健康问题的频繁发生,

人们对健康生活的追求和要求愈发强烈和迫切。乌血芝是一种功能性食品和药物研发的宝贵资源,它在疾病预防与健康改善领域展现出极大的潜力。然而,目前针对乌血芝通过液体发酵生产麦角甾醇的相关研究报道匮乏,本研究致力于优化乌血芝液体发酵培养基的配方,以开发一种高效、稳定且易于调控的麦角甾醇生产工艺,通过优化培养出富含麦角甾醇的乌血芝菌丝体,进而推动其在食品和药品研发领域的应用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

试验菌株采自广东省始兴县(唐朝名相张九故里),命名为九龄香血灵芝(SJL),保存于韶关学院食用菌产业创新实验室。

1.1.2 主要试剂

马铃薯:市售;无水葡萄糖、蔗糖、磷酸二氢钾:天津市北辰方正试剂厂;麦芽糖、麦芽浸粉:合肥博美生物科技有限责任公司;可溶性淀粉、乙酸铵、无水硫酸钙:国药集团化学试剂有限公司;酵母浸膏、牛肉浸膏:天津市众联化学试剂有限公司;蛋白胨:西陇科学股份有限公司;尿素:天津市致远化学试剂有限公司;硝酸钠:广东广试试剂科技有限公司;磷酸氢二钠:常德比克曼生物科技有限责任公司;维生素 B₁、维生素 B₂、水杨酸:合肥巴斯夫生物科技有限责任公司;茉莉酸甲酯、甲醇(HPLC≥99.9%):山东科源生化有限公司;无水乙醇:天津市大茂化学试剂厂;无水硫酸镁:天津市北联精细化学品开发有限公司;麦角甾醇标准品(HPLC≥98%):南京源植生物科技有限公司。所用试剂若无特殊说明均为分析纯。

1.1.3 主要仪器

VE-20L/H-A 超纯水机:深圳市宏森环保科技有限公司;LX-B50L 型立式压力蒸汽灭菌器:合肥华泰医疗设备有限公司;JHP-2 型水平超净工作台:康恒仪器有限公司;LHS250-I 型恒温恒湿试验箱:宁国沙鹰科学仪器有限公司;GM-0.33A 型隔膜真空泵:天津市津腾实验设备

有限公司; SY-550B 全温型恒温培养摇床: 天津市泰斯特仪器有限公司; LGJ-100F 型真空冷冻干燥机: 北京松源华兴科技发展有限公司; FB124 型内校天平: 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; DFT-200A 型粉碎机: 无锡久平仪器有限公司; TDZ5-WS 型低速台式离心机: 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; SB25-12DTD 型超声波清洗机: 宁波新芝生物科技股份有限公司; 岛津 LC-16 型高效液相色谱仪: 岛津仪器(苏州)有限公司; Wondasil-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm): 岛津技迹(上海)商贸有限公司。

1.1.4 培养基

种子培养基: 马铃薯 200 g、葡萄糖 10 g、蔗糖 10 g、磷酸二氢钾 2 g、无水硫酸镁 1.5 g、蒸馏水 1 000 mL。基础发酵培养基(夏险等 2012): 马铃薯 200 g、蔗糖 2 g、蛋白胨 2 g、磷酸二氢钾 3 g、无水硫酸镁 1 g、蒸馏水 1 000 mL。在两种培养基中, 每个三角瓶(250 mL)装液量为 150 mL, 置于灭菌锅中 121 °C、灭菌 30 min 待用。

1.2 乌血芝液体发酵培养

种子培养: 在无菌操作下, 挑取 4–5 块约 0.5 cm × 0.5 cm 大小的菌块(来自乌血芝菌株平板母种), 将其接种至灭菌后的种子培养基中。将接种后的培养基置于 28 °C、120 r/min 的恒温摇床中连续培养 10 d, 即得种子液。摇瓶培养: 在超净工作台内, 将 2% (体积比) 的种子液接种到基础发酵培养基中。将接种后的培养基在 28 °C 的条件下先静置培养 1 d, 以促进菌丝的充分萌发。待菌丝萌发后, 调整恒温摇床的转速至 120 r/min, 并继续发酵培养 10 d。

1.3 菌丝生物量和麦角甾醇含量的测定

1.3.1 菌丝生物量

摇瓶培养结束后, 用 80 目尼龙网进行过滤, 以收集菌丝体, 并用蒸馏水反复洗涤菌丝体直至滤液呈现无色状态, 将洗涤后的菌丝体进行冷冻干燥处理。冻干完成后, 取出样品进行称重, 记录菌丝体干重, 即为菌丝生物量(g/150 mL)。将菌丝体进行粉碎处理, 并过 80 目筛网过滤, 所得菌丝体粉末于 4 °C 保存, 以供后续使用。

1.3.2 麦角甾醇含量

准确称取 0.1 g 的菌丝体粉末, 置于 15 mL 离心管内, 按 1:50 的比例加入无水乙醇进行混合, 于 50 °C, 功率为 600 W (固定频率 40 kHz), 超声浸提 30 min, 5 000 r/min 离心 15 min。将分离得到的上清液移至 10 mL 棕色容量瓶中定容至刻度, 然后通过 0.22 μm 的有机系微孔滤膜进行过滤, 供色谱测定。色谱条件: 色谱柱为 Wondasil-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 以甲醇为流动相进行等度洗脱, 流速 1.0 mL/min, 检测波长 282 nm。柱温维持室温, 进样量 10 μL。

1.4 单因素实验

1.4.1 碳源的优化

为探究碳源对乌血芝菌丝生物量、麦角甾醇含量及产量的影响, 基于基础发酵培养基, 配制含不同碳源[葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、麦芽浸粉、可溶性淀粉、葡萄糖:蔗糖(1:1)、可溶性淀粉:蔗糖(1:1)]的培养基, 添加量均为 2%, 并以无碳源添加作为对照, 进行比较分析, 以确定最佳碳源。随后, 在最佳碳源的基础上, 探究不同添加量(2%、4%、6%、8%、10%)对上述指标的综合影响。

1.4.2 氮源的优化

基于最佳碳源实验, 配制含不同氮源(蛋白胨、酵母浸粉、酵母浸膏、牛肉浸膏、尿素、硝酸钠、乙酸铵)的培养基, 添加量为 0.2%, 并以无氮源添加为对照, 探究其对乌血芝菌丝生物量、麦角甾醇含量及产量的影响, 以确定最佳氮源。

1.4.3 无机盐的优化

基于上述优化实验, 配制含不同无机盐(KH₂PO₄:MgSO₄、NaH₂PO₄:MgSO₄、KH₂PO₄:CaSO₄、NaH₂PO₄:CaSO₄, 比例均为 3:1)的培养基, 添加量为 0.4%, 并以不含无机盐添加为对照, 探究其对乌血芝菌丝生物量、麦角甾醇含量及产量的影响, 以确定最佳无机盐。随后, 在最佳无机盐的基础上, 探究不同添加量(0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%)对上述指标的综合影响。

1.4.4 诱导物的优化

为探究不同诱导物对乌血芝菌丝生物量、麦

角甾醇含量及产量的影响,基于上述优化实验,配制含不同诱导物(黄豆粉、豆粕粉、燕麦粉、木屑粉、玉米粉、玉米芯粉、糙米粉)的培养基,添加量均为 2%,并以无诱导物添加为对照,进行比较分析,以确定最佳诱导物(杜娇 2020)。

1.4.5 生长素的优化

基于上述优化实验,配制含不同生长素(维生素 B₁、维生素 B₂、水杨酸、茉莉酸甲酯)的培养基,浓度为 100 μmol/L,并以无生长素添加为对照,探究其对乌血芝菌丝生物量、麦角甾醇含量及产量的影响,以确定最佳生长素。随后,在最佳生长素的基础上,探究不同浓度(10、50、100、150、200 μmol/L)对上述指标的综合影响。

1.4.6 接种量的优化

为探究不同接种量对乌血芝菌丝生物量、麦角甾醇含量及产量的影响,基于上述优化实验,设置不同接种量(2%、4%、6%、8%、10%、12%、14%,体积比)进行比较分析,以确定最佳接种量。

1.4.7 培养时间的优化

为探究不同培养时间对乌血芝菌丝生物量、麦角甾醇含量及产量的影响,基于上述优化实验,设置不同培养时间(7、9、11、13、15、17、19 d)进行比较分析,以确定最佳培养时间。

1.5 Box-Behnken 的中心组合实验设计

根据单因素实验的结果,以碳源(A)、无机盐(B)及生长素(C)为影响因素,以麦角甾醇产量(Y)为响应值,根据 Box-Behnken 优化实验(表 1)。用 Design-Expert 13.0 进行响应面优化分析,确定乌血芝菌丝体中麦角甾醇的最佳发酵配方(张忠等 2021)。

1.6 数据统计和分析

实验均重复 3 次,其结果以平均值±标准差表示。采用 Graphpad Prism 9.5 软件进行显著性分析($P<0.05$),并通过不同小写字母来标记具有显著差异的数据。

2 结果与分析

2.1 麦角甾醇含量测定标准曲线

根据 1.3.2 中的 HPLC 测定方法,得到麦角

表 1 Box-Behnken 设计的因素和水平

Table 1 Factors and levels of Box-Behnken design			
因素	水平		
Factor	Level		
	-1	0	1
碳源(A)	20	40	60
Carbon source (g/L)			
无机盐(B)	2	4	6
Inorganic salt (g/L)			
生长素(C)	100	150	200
Growth hormone (μmol/L)			

注:碳源为葡萄糖:蔗糖,1:1;无机盐为 $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{:CaSO}_4$, 3:1;生长素为水杨酸

Note: Carbon source is glucose:sucrose, 1:1; Inorganic salt is $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{:CaSO}_4$, 3:1; Growth hormone is salicylic acid.

甾醇含量标准曲线为 $y=7.267\times 10^{-5}x+1.446$, R^2 为 0.999 9,线性关系良好,可用于麦角甾醇含量测定。

2.2 单因素实验

2.2.1 碳源对乌血芝菌丝生物量、麦角甾醇含量及产量的影响

不同碳源的添加均促进了乌血芝菌丝体的生长,其中葡萄糖、蔗糖及其复合物能显著提升菌丝体中麦角甾醇的含量(图 1A)。葡萄糖与蔗糖复合物作为碳源时,麦角甾醇产量最高,达 2.017 mg/150 mL,且与其他碳源相比差异显著,故确定为最佳碳源(图 1B)。此外,随着该复合物添加量的增加,菌丝生物量先升后骤降,于 6%添加量时达峰值,而麦角甾醇含量却降至最低(图 2A)。麦角甾醇产量则呈现先升后降的趋势,在 4%添加量时达到最高,产量为 2.005 mg/150 mL (图 2B)。因此,综合考量,确定葡萄糖与蔗糖复合物的最佳添加量为 4%。

2.2.2 氮源对乌血芝菌丝生物量、麦角甾醇含量及产量的影响

与对照组相比,多数氮源的添加导致了麦角甾醇含量的下降,然而乙酸铵作为氮源时麦角甾醇含量却显著提高(图 3A)。然而,尽管乙酸铵提升了麦角甾醇的含量,但其同时导致了菌丝生物量的显著降低。这一发现提示我们,乙酸铵可能在促进麦角甾醇合成方面具有独特作用,但其对菌丝体生长的影响却是不利的。对照组的麦

角甾醇产量显著高于添加各氮源的处理组,故可省略氮源的添加(图 3B)。

2.2.3 无机盐对乌血芝菌丝生物量、麦角甾醇含量及产量的影响

不同无机盐的添加对乌血芝菌丝体生长均有促进作用,其中 KH_2PO_4 和 CaSO_4 复合物

效果尤为显著(图 4A)。然而,这些处理组的麦角甾醇含量却均低于对照组。与对照组相比,当 KH_2PO_4 和 CaSO_4 复合物作为无机盐时,麦角甾醇产量达到了峰值,即 2.988 mg/150 mL,故确定为最佳无机盐(图 4B)。此外,随着该复合物添加量的增多,菌丝生物量呈现上升趋势

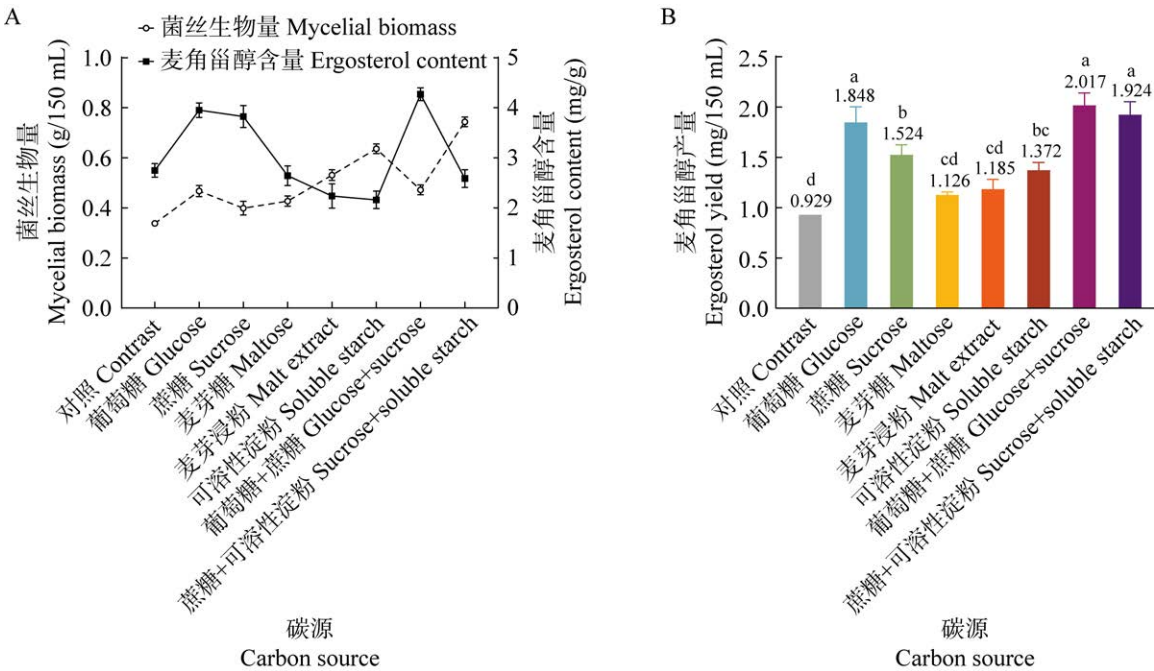


图 1 不同碳源对乌血芝菌丝生物量与麦角甾醇含量(A)及产量(B)的影响 葡萄糖:蔗糖=1:1 (质量比); 蔗糖:可溶性淀粉=1:1 (质量比); 不同小写字母表示显著性差异($P < 0.05$), 下同

Fig. 1 The effects of different carbon sources on mycelial biomass and ergosterol content (A) and yield (B) of *Sanguinoderma rugosum*. Glucose:sucrose=1:1 (M/M); Sucrose:soluble starch=1:1 (M/M); Different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$). The same below.

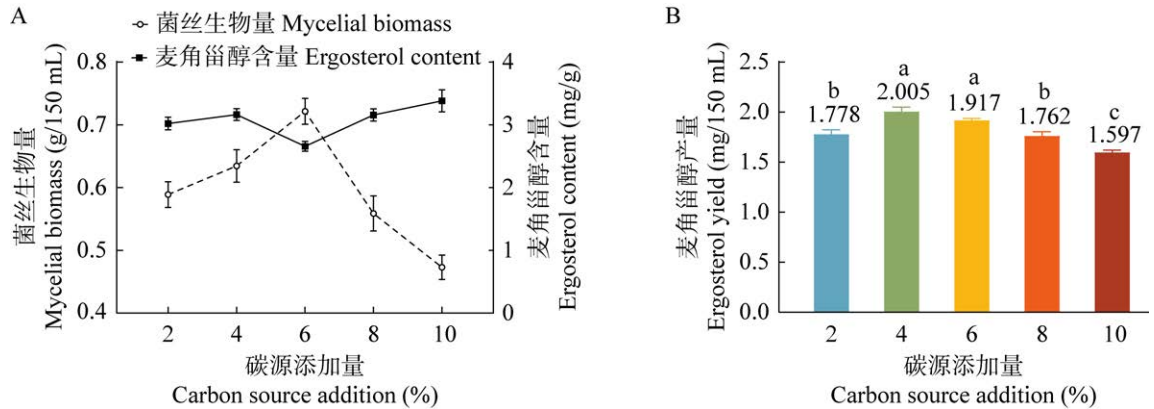


图 2 碳源添加量对乌血芝菌丝生物量与麦角甾醇含量(A)及产量(B)的影响 碳源: 葡萄糖:蔗糖=1:1 (质量比)

Fig. 2 The effects of carbon source addition quantity on mycelial biomass and ergosterol content (A) and yield (B) of *Sanguinoderma rugosum*. Carbon source: glucose:sucrose=1:1 (M/M).

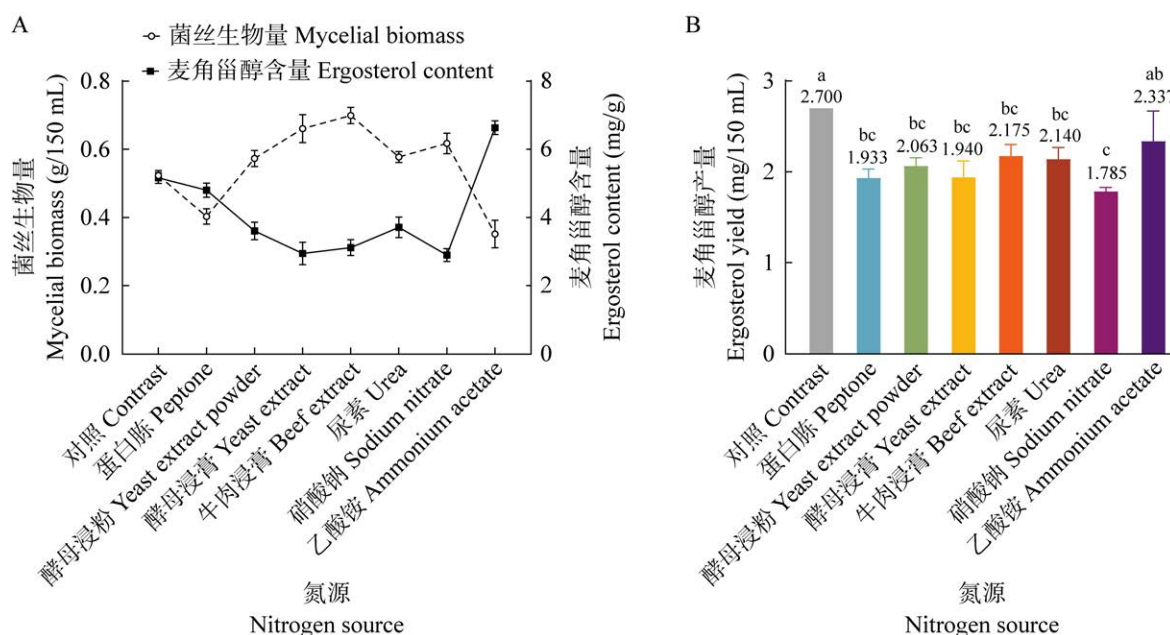


图3 不同氮源对乌血芝菌丝生物量与麦角甾醇含量(A)及产量(B)的影响

Fig. 3 The effects of different nitrogen sources on mycelial biomass and ergosterol content (A) and yield (B) of *Sanguinoderma rugosum*.

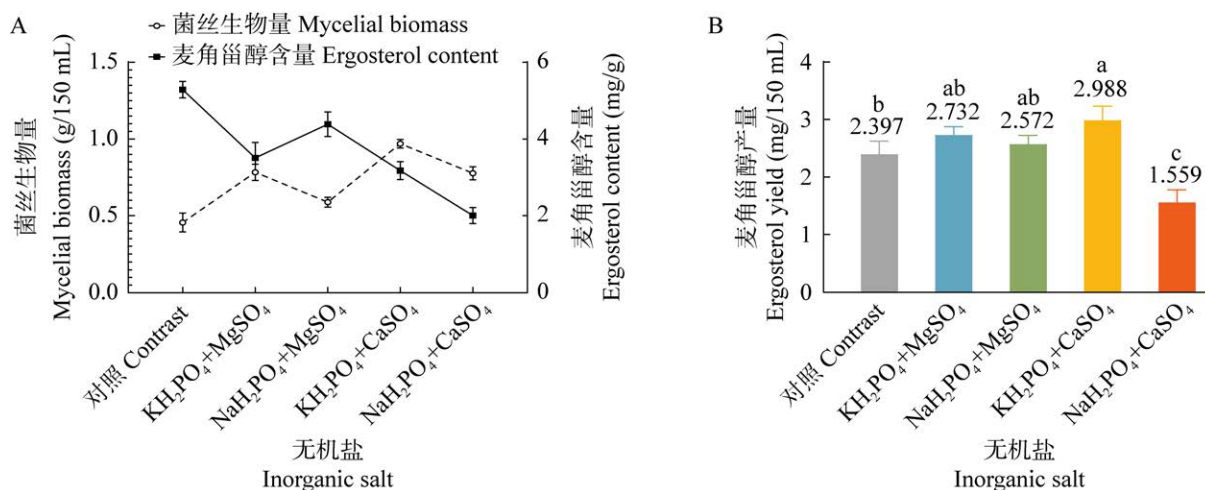


图4 不同无机盐对乌血芝菌丝生物量与麦角甾醇含量(A)及产量(B)的影响 两种无机盐的质量比都是3:1 (质量比)

Fig. 4 The effects of different inorganic salts on mycelial biomass and ergosterol content (A) and yield (B) of *Sanguinoderma rugosum*. The mass ratio of the two inorganic salts is 3:1 (M/M).

势,但麦角甾醇的含量却逐渐降低(图5A)。麦角甾醇产量则表现出先增加后减少的趋势,在0.4%添加量时达到最高,产量为3.083 mg/150 mL,且与其他添加量相比差异显著(图5B)。因此,综合考量, KH_2PO_4 和 CaSO_4 复合物的最佳添加量为0.4%。

2.2.4 诱导物对乌血芝菌丝生物量、麦角甾醇含量及产量的影响

相较于对照组,黄豆粉表现出对菌丝体生长的促进作用,玉米芯粉则能提高麦角甾醇含量(图6A)。然而,大多数诱导物的添加均导致菌丝生物量和麦角甾醇含量的减少。对照组的麦角

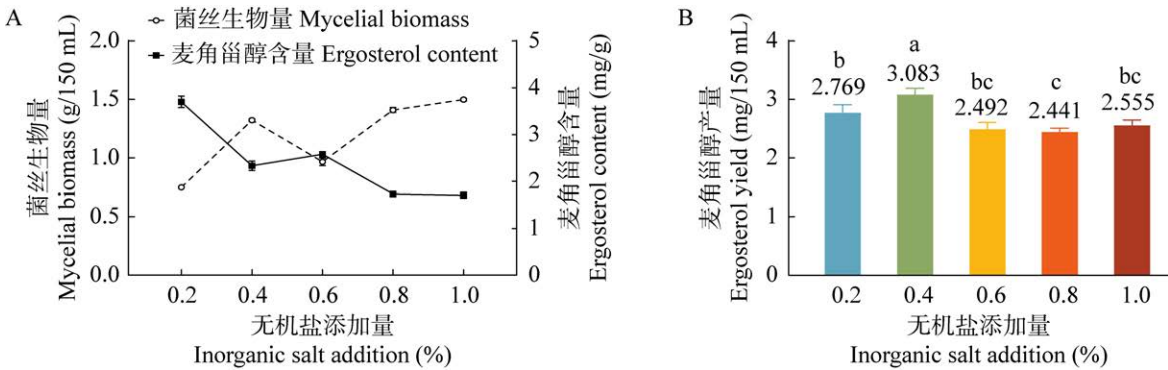


图 5 无机盐添加量对乌血芝菌丝生物量与麦角甾醇含量(A)及产量(B)的影响 无机盐(%): $\text{KH}_2\text{PO}_4:\text{CaSO}_4=3:1$ (质量比)

Fig. 5 The effects of inorganic salt addition quantity on mycelial biomass and ergosterol content (A) and yield (B) of *Sanguinoderma rugosum*. Inorganic salt (%): $\text{KH}_2\text{PO}_4:\text{CaSO}_4=3:1$ (M/M).

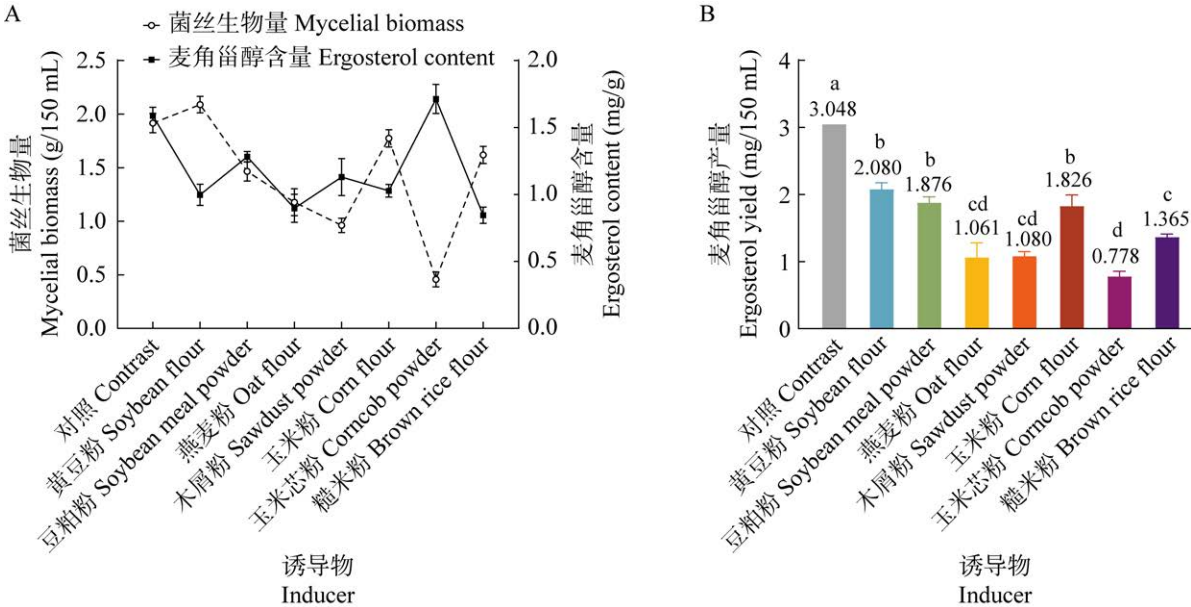


图 6 不同诱导物对乌血芝菌丝生物量与麦角甾醇含量(A)及产量(B)的影响

Fig. 6 The effects of different inducers on mycelial biomass and ergosterol content (A) and yield (B) of *Sanguinoderma rugosum*.

甾醇产量显著高于添加各诱导物的处理组,故可省略诱导物的添加(图 6B)。

2.2.5 生长素对乌血芝菌丝生物量、麦角甾醇含量及产量的影响

相较于对照组,维生素 B_2 虽抑制菌丝体生长,却显著提升麦角甾醇含量。而其他生长素则对菌丝生物量和麦角甾醇含量均有促进效果。水杨酸作为生长素时,麦角甾醇产量最高,且与其他生长素相比差异显著,故确定为最佳生长素(图 7)。此外,随着水杨酸浓度的增加,菌丝生物

量、麦角甾醇含量及产量呈现先增后降的趋势,于 $150 \mu\text{mol/L}$ 时达峰值,产量为 3.679 mg/150 mL (图 8)。因此,综合考量,水杨酸的最佳浓度为 $150 \mu\text{mol/L}$ 。

2.2.6 接种量对乌血芝菌丝生物量、麦角甾醇含量及产量的影响

接种量对乌血芝液体发酵过程中菌丝生物量以及麦角甾醇含量有影响(图 9)。当接种量设定为 2%时,麦角甾醇的产量达到最高。因此,确定 2%为最佳接种量。

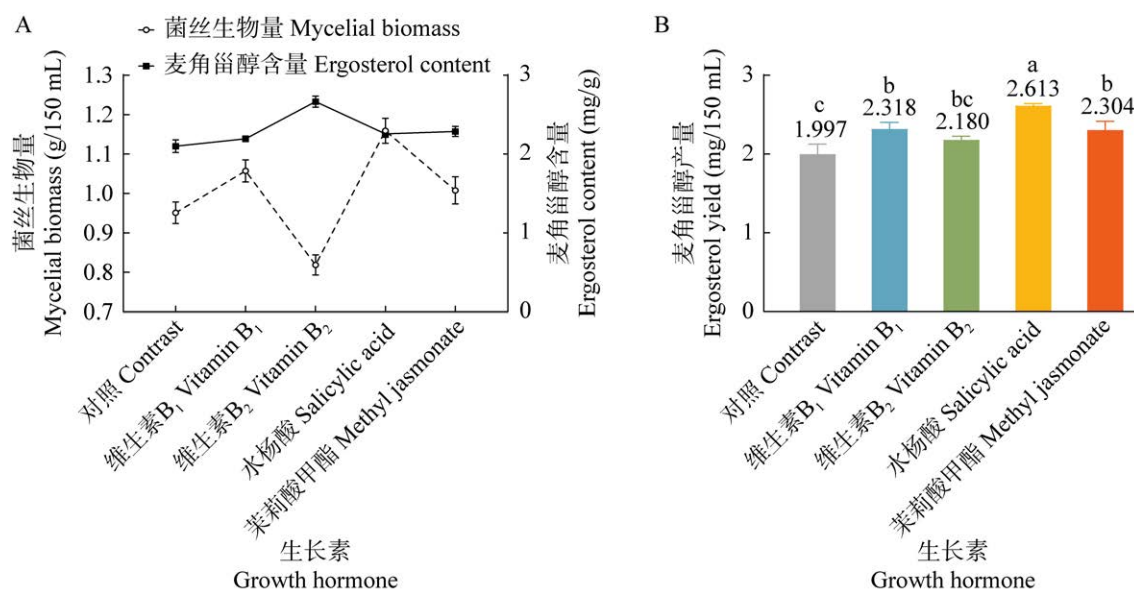


图 7 不同生长素对乌血芝菌丝生物量与麦角甾醇含量(A)及产量(B)的影响

Fig. 7 The effects of different growth hormones on mycelial biomass and ergosterol content (A) and yield (B) of *Sanguinoderma rugosum*.

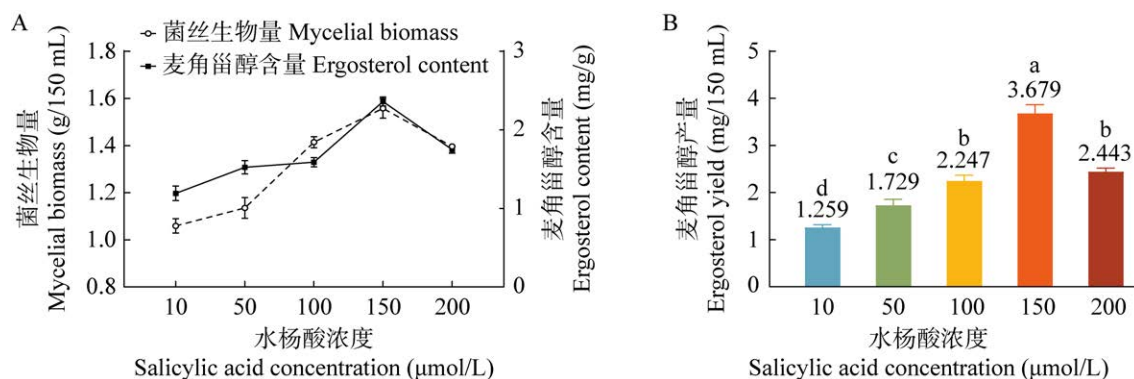


图 8 生长素浓度对乌血芝菌丝生物量与麦角甾醇含量(A)及产量(B)的影响

Fig. 8 The effects of different growth hormone concentration on mycelial biomass and ergosterol content (A) and yield (B) of *Sanguinoderma rugosum*.

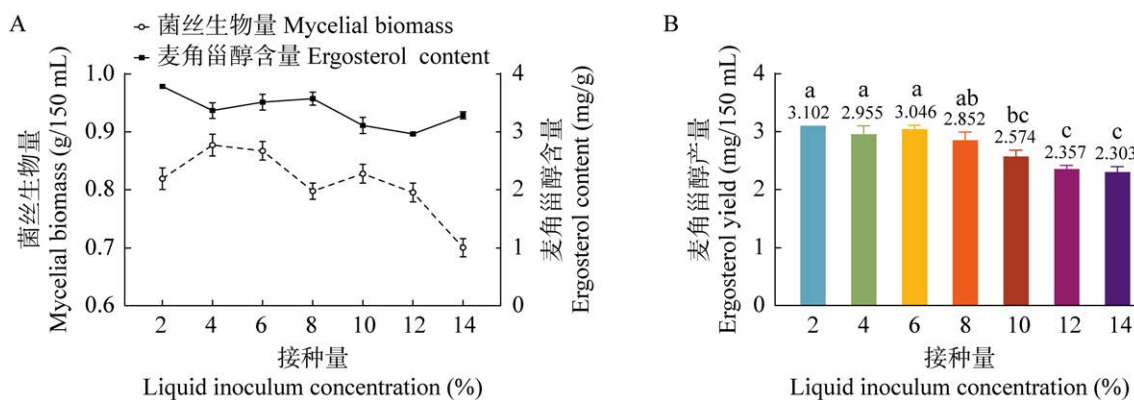


图 9 不同接种量对乌血芝菌丝生物量与麦角甾醇含量(A)及产量(B)的影响

Fig. 9 The effects of different inoculum concentration on mycelial biomass and ergosterol content (A) and yield (B) of *Sanguinoderma rugosum*.

2.2.7 培养时间对乌血芝菌丝生物量、麦角甾醇含量及产量的影响

培养时间内,乌血芝菌丝生物量、麦角甾醇含量及产量均呈现先上升后下降趋势,于 17 d 时达峰值,麦角甾醇产量为 3.660 mg/150 mL,故确定最佳培养时间为 17 d (图 10)。

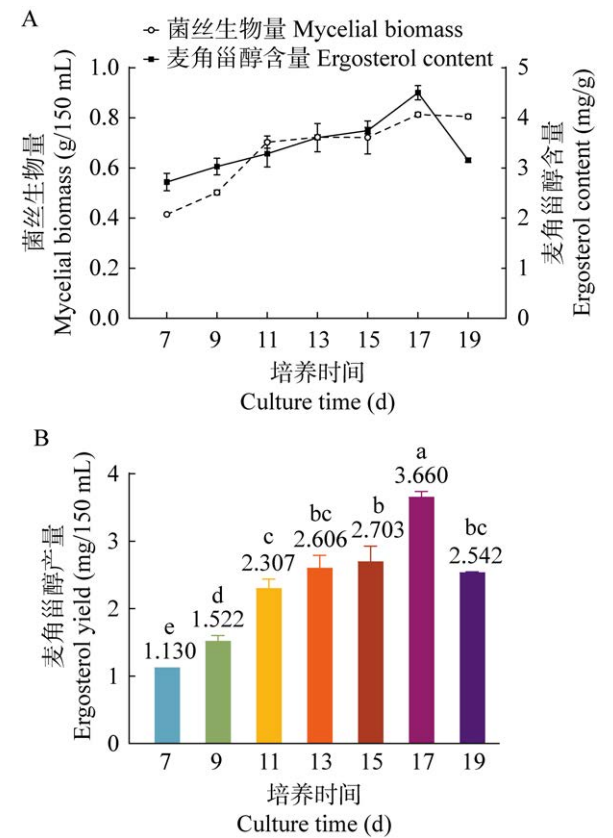


图 10 不同培养时间对乌血芝菌丝生物量与麦角甾醇含量(A)及产量(B)的影响

Fig. 10 The effects of different culture time on mycelial biomass and ergosterol content (A) and yield (B) of *Sanguinoderma rugosum*.

2.3 响应面分析及优化结果

2.3.1 回归方程建立及方差分析

通过 Design-Expert 13.0 软件对表 2 数据进行多元回归拟合,得到二次回归方程: $Y=3.58-0.0454A+0.064B-0.1959C-0.008AB-0.0363AC-0.007BC-0.2707A^2-0.456B^2-0.7597C^2$ 。

以麦角甾醇产量为评价指标,利用方差分析(表 3)评估回归模型的统计学显著性,结果显示模型极显著($P<0.01$),失拟项不显著($P>0.05$),表明该方法可行。二次多元回归方程相关系数平

方 $R^2=0.9927$,表明线性相关性良好。模型的校正决定系数 $R^2=0.9833$,表明该模型具备解释 98.33%响应值变化的能力。以麦角甾醇产量作为指标时,根据 F 值分析,各因素对麦角甾醇产量的影响程度依次为: $C>B>A$,即水杨酸 $>KH_2PO_4+CaSO_4>$ 葡萄糖+蔗糖,其中二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 及一次项 C 均差异极显著($P<0.01$), B 项差异显著($P<0.05$)。

表 2 Box-Behnken 实验结果

Table 2 The results of Box-Behnken experiment				
序号 No.	因素 Factor			麦角甾醇产量(Y) Ergosterol yield (mg/150 mL)
	A	B	C	
1	40	4	150	3.461
2	60	4	100	2.709
3	60	4	200	2.265
4	40	4	150	3.525
5	20	2	150	2.819
6	40	6	100	2.651
7	40	4	150	3.649
8	60	2	150	2.779
9	20	4	200	2.463
10	20	4	100	2.762
11	40	2	200	2.092
12	40	6	200	2.225
13	40	4	150	3.644
14	60	6	150	2.872
15	40	4	150	3.622
16	40	2	100	2.490
17	20	6	150	2.944

2.3.2 响应面分析

等高线图和响应面图能够直观反映复合碳源(葡萄糖+蔗糖)与无机盐($KH_2PO_4+CaSO_4$)添加量以及生长素(水杨酸)浓度对乌血芝麦角甾醇产量的影响,并且能反映各因素间的交互作用(图 11)。等高线图的形状与密集度及响应面图的陡峭程度能够直观反映各因素的影响大小:椭圆形等高线密集且响应面陡峭,表明因素间交互作用影响显著;圆形等高线稀疏且响应面平缓,则表明交互作用影响不显著(Yang *et al.* 2017; 殷丹等 2024)。响应面图坡度较平缓且等高线图呈圆形(图 11),说明各因素交互作用对麦角甾醇产量的影响不显著,与方差分析结果(表 3)一致。

表 3 Box-Behnken 实验结果方差分析
Table 3 Variance analysis of the Box-Behnken experiment

来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value
模型 Model	4.32	9	0.479 5	105.67	<0.000 1**
A	0.016 5	1	0.016 5	3.63	0.098 4
B	0.032 8	1	0.032 8	7.22	0.031 2*
C	0.306 9	1	0.306 9	67.64	<0.000 1**
AB	0.000 3	1	0.000 3	0.056 4	0.819 1
AC	0.005 3	1	0.005 3	1.16	0.317 5
BC	0.000 2	1	0.000 2	0.043 2	0.841 3
A ²	0.308 6	1	0.308 6	68.01	<0.000 1**
B ²	0.875 4	1	0.875 4	192.92	<0.000 1**
C ²	2.43	1	2.43	535.56	<0.000 1**
残差 Residual	0.031 8	7	0.004 5		
失拟项 Lack of fit	0.004 0	3	0.001 3	0.189 7	0.898 3
净误差 Pure error	0.027 8	4	0.007 0		
总离差 Cor total	4.35	16			
R ² 决定系数 R-squared	0.992 7				
R ² 校正决定系数 Adj R-squared	0.983 3				
变异系数 C.V.%	2.34				

注：*表示影响显著($P<0.05$)，**表示影响极显著($P<0.01$)
Note: * indicates significant ($P<0.05$), ** indicates extremely significant ($P<0.01$).

2.3.3 最佳发酵条件验证

经模型分析与预测,确定乌血芝液体发酵产麦角甾醇的最优工艺为:马铃薯 200 g/L、复合碳源 38.481 g/L (葡萄糖:蔗糖, 1:1, 质量比)、无机盐 4.143 g/L ($\text{KH}_2\text{PO}_4\text{:CaSO}_4$, 3:1, 质量比)、生长素 143.616 $\mu\text{mol/L}$, 接种量为 2%, 培养时间为 17 d。在此条件下进行 3 次平行试验,麦角甾醇平均产量为 3.801 mg/150 mL, 与预测值 3.597 mg/150 mL 无显著差异,验证了方程的有效性 & 模型的可行性,且实验重复性佳。与优化前相比,麦角甾醇产量提高了 149.41%,具有指导生产的实用价值。

3 讨论

乌血芝麦角甾醇的产量受菌丝体生物量及其内部麦角甾醇含量的共同影响。因此,提升麦角甾醇产量需着重于增加菌丝体生物量及优化其麦角甾醇含量。近年来,液体发酵技术作为一种新兴且具有广阔应用前景的方法,在菌丝体与生物活性代谢产物的制备中备受瞩目,并在多种食药真菌研究中取得进展(戴玉成 2022)。菌丝

体适于液体发酵,生长快速,降低成本并缩短周期(Feng *et al.* 2021)。通过调节液体培养基成分,可灵活调控菌丝体内麦角甾醇等化学成分,展现出良好的生产灵活性与可控性(Zheng *et al.* 2022)。碳源的添加对提升乌血芝中麦角甾醇的产量具有积极影响(图1B)。这一结果进一步证实了碳源优化在促进目标代谢产物积累方面的重要性。葡萄糖与蔗糖以 1:1 比例组合,可能借助双相供能机制,促进菌体生长及麦角甾醇等产物的积累。其中,葡萄糖迅速供能,支持菌丝扩增;蔗糖则因其缓释特性,延长次级代谢活性期(He *et al.* 2021)。此外,复合碳源和复合无机盐的应用能有效填补乌血芝在营养需求上的未知空白(Peng *et al.* 2016)。水杨酸通过直接或间接的方式激活了麦角甾醇合成途径中上游关键酶基因的表达,并借助与合成代谢相关酶的相互作用,实现了对麦角甾醇合成过程的调控(范秀芝等 2021)。对比低剂量(<100 $\mu\text{mol/L}$)研究(范秀芝等 2021),本研究高剂量水杨酸的使用提示乌血芝对水杨酸的耐受阈值较高,或存在菌株特异性调控机制。未来的研究可进一步聚焦于

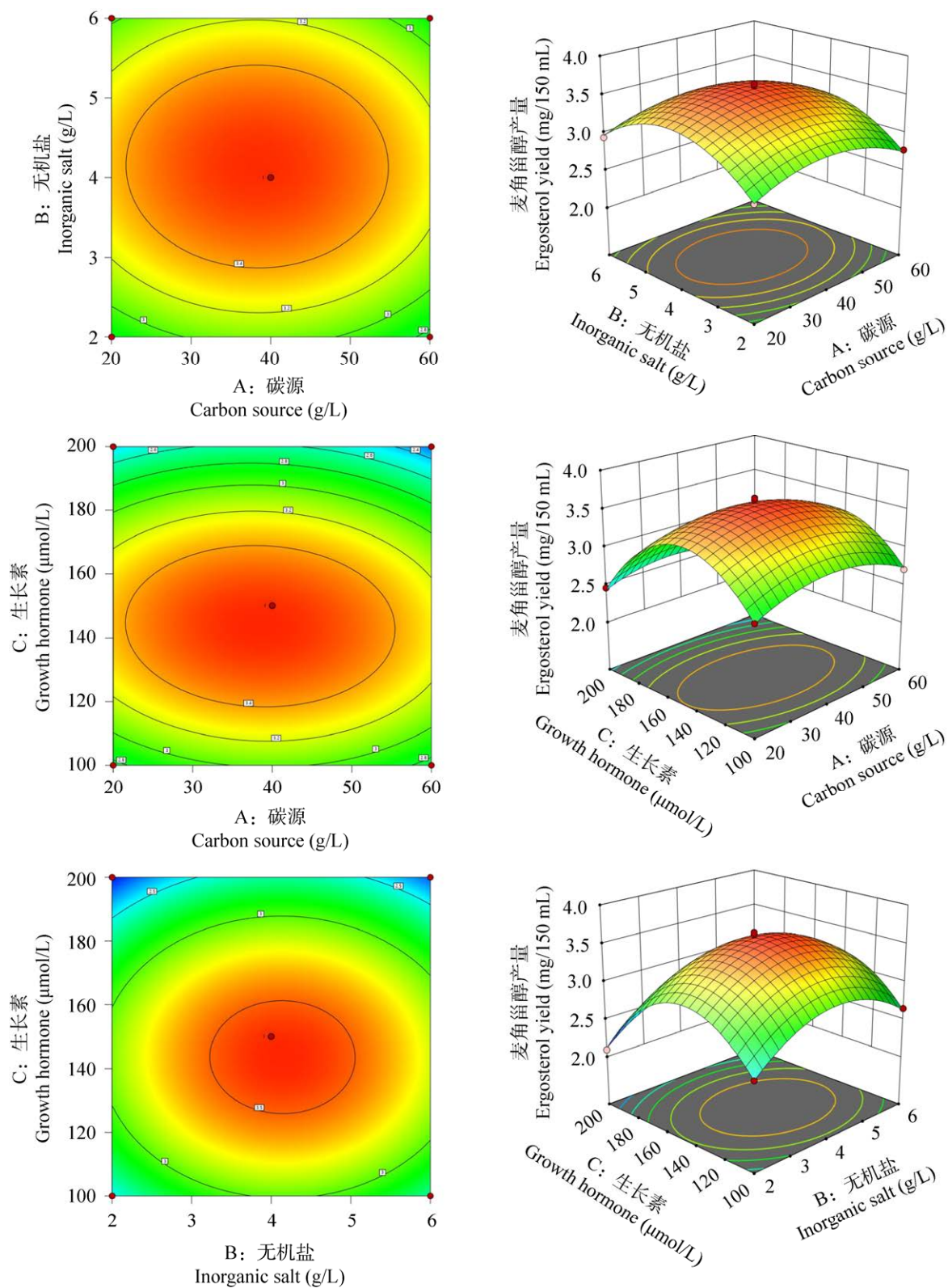


图 11 不同因素对麦角甾醇产量影响的等高线图和响应面图 碳源：葡萄糖:蔗糖，1:1；无机盐：KH₂PO₄:CaSO₄，3:1；生长素：水杨酸

Fig. 11 Contour plots and response surface plots of the effects of different factors on ergosterol yield. Carbon source: Glucose:sucrose, 1:1; Inorganic salt: KH₂PO₄:CaSO₄, 3:1; Growth hormone: Salicylic acid.

探索水杨酸的添加时机及其诱导持续时间的优化, 以进一步提升麦角甾醇的产量(李绍玮 2020)。本研究采用响应面分析法, 探究了复合碳源(葡萄糖+蔗糖)与无机盐($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{CaSO}_4$)添加量及生长素(水杨酸)浓度对乌血芝液体发酵麦角甾醇产量的影响。经优化, 确定最优工艺为: 马铃薯 200 g/L、复合碳源 38.481 g/L (葡萄糖:蔗糖, 1:1, 质量比)、无机盐 4.143 g/L (KH_2PO_4 : CaSO_4 , 3:1, 质量比)、生长素 143.616 $\mu\text{mol/L}$ 、接种量 2%, 培养时间 17 d。在此条件下, 麦角甾醇预测最大产量为 3.597 mg/150 mL, 实际产量均值为 3.801 mg/150 mL, 较优化前(1.524 mg/150 mL)提高了 149.41%。本研究建立的乌血芝液体发酵产麦角甾醇工艺稳定可控, 重复性好、效率高且成本低廉, 所生产的乌血芝发酵菌丝体富含麦角甾醇, 有利于麦角甾醇在食品、药品研发领域的应用。

作者贡献

袁培焯: 前期调查、试验方法设计、试验操作、试验数据整理分析、论文构思及撰写; 何迪: 试验操作、数据收集与分析管理; 卢彬: 优化试验、方案设计与分析; 叶璐瑶: 数据验证及审核; 程婷: 试验材料制备; 台珂: 发酵种子液制备; 刘主: 提供实验材料与菌种、论文指导与修订。

利益冲突

作者声明, 该研究不存在任何潜在利益冲突的商业或财务关系。

[REFERENCES]

- Chan PM, Kanagasabapathy G, Tan YS, Sabaratnam V, Kuppasamy UR, 2013. *Amauroderma rugosum* (Blume & T. Nees) Torrend: nutritional composition and antioxidant and potential anti-inflammatory properties. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013(1): 304713
- Chang YS, Lee SS, 2004. Utilisation of macrofungi species in Malaysia. Fungal Diversity, 15(2): 15-22
- Chen TQ, Lin XS, Zhao J, Zheng Y, Li KB, Lin ZY, 2002. Resource of Ganodermataceae in Fujian Province and its morphology and structure database of basidiospores. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2002(1): 40-44 (in Chinese)
- Cheng YY, Hui JR, Hao JX, Huang ZW, 2021. Research progress of ergosterol in edible fungi. Science and Technology of Food Industry, 42(10): 349-354 (in Chinese)
- Correa RCG, Barros L, Fernandes A, Sokovic M, Bracht A, Peralta RM, Ferreira ICFR, 2018. A natural food ingredient based on ergosterol: optimization of the extraction from *Agaricus blazei*, evaluation of bioactive properties and incorporation in yogurts. Food & Function, 9(3): 1465-1474
- Dai YC, 2022. New trend of edible and medicinal fungi research in China—based on publications in Mycosystema during 2000–2021. Journal of Fungal Research, 20(2): 141-156 (in Chinese)
- Dai YC, Liu HG, Wu F, Si J, Yuan Y, He SH, Cui BK, Zhou M, 2022. Resources and diversity of wood-decaying fungi in Yunnan. Science Press, Beijing. 1-574 (in Chinese)
- Dai YC, Yang ZL, 2008. A revised checklist of medicinal fungi in China. Mycosystema, 27(6): 801-824 (in Chinese)
- Deng YQ, Wang J, Yu L, 2001. Advances in microbial ergosterol. Journal of Microbiology, 21(3): 45-47 (in Chinese)
- Du J, 2020. Study on high-yield fermentation conditions and extraction technology of ergosterol from *Hericium erinaceus*. MS Thesis, Shanxi Agricultural University, Taiyuan. 1-51 (in Chinese)
- Fan XF, 2013. Immunocompetence and VD transformation of ergosterol extracted from medicinal and edible fungi. MS Thesis, Jilin Agricultural University, Changchun. 1-36 (in Chinese)
- Fan XZ, Yao F, Yin CM, Shi DF, Gao H, 2021. Exogenous induction of ergosterol synthesis in *Agaricus blazei*. Modern Food Science and Technology, 37(1): 65-72 (in Chinese)
- Feng J, Feng N, Tang QJ, Liu YF, Tang CH, Zhou S, Wang JY, Tan Y, Zhang JS, Lin CC, 2021. Development and optimization of the triterpenoid and sterol production process with lingzhi or reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* strain G0017 (Agaricomycetes), in liquid submerged fermentation at large scale. International Journal of Medicinal Mushrooms, 23(3): 43-53
- Guo GX, Yun JM, Wang B, Zhao YX, Li WH, Qu YL, 2023. Effects of six Chinese herbal extracts on ergosterol in submerged fermentation of *Morchella esculenta*. Food and Fermentation Industries, 49(20): 38-45 (in Chinese)
- He HH, Li YY, Fang MY, Li TT, Liang YX, Mei YX, 2021.

- Carbon source affects synthesis, structures, and activities of mycelial polysaccharides from medicinal fungus *Inonotus obliquus*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(6): 855-866
- He WS, Cui DD, Li LL, Tong LT, Rui JX, Li H, Zhang HJ, Liu XQ, 2019. Cholesterol-reducing effect of ergosterol is modulated *via* inhibition of cholesterol absorption and promotion of cholesterol excretion. *Journal of Functional Foods*, 57: 488-496
- Heleno SA, Diz P, Prieto MA, Barros L, Rodrigues A, Barreiro MF, Ferreira ICFR, 2016. Optimization of ultrasound-assisted extraction to obtain mycosterols from *Agaricus bisporus* L. by response surface methodology and comparison with conventional Soxhlet extraction. *Food Chemistry*, 197: 1054-1063
- Jiang QY, Zhang M, Mujumdar AS, 2020. UV induced conversion during drying of ergosterol to vitamin D in various mushrooms: effect of different drying conditions. *Trends in Food Science & Technology*, 105: 200-210
- Li L, Su ZY, He YX, Zhong XM, Fu CM, Zou L, Li JJ, Zhang JM, 2024. Physicochemical characterization and anti-angiogenesis activity of polysaccharides from *Amauroderma rugosum*, a medicinal and edible mushroom. *International Journal of Biological Macromolecules*, 274: 133478
- Li RK, Li JJ, Cheung TMY, Ho BSY, Leung GPH, 2020. Comparison of the major chemical constituents and antioxidant effects in *Amauroderma rugosum* and *Ganoderma lucidum*. *Biomedical and Translational Science*, 1(1): 1-6
- Li SW, 2020. Study on the regulation of exogenous elicitors on *Ganoderma lucidum* sterol biosynthesis pathway and related genes. MS Thesis, Zhejiang A&F University, Hangzhou. 1-56 (in Chinese)
- Liu JF, Xia JJ, Nie KL, Wang F, Deng L, 2019. Outline of the biosynthesis and regulation of ergosterol in yeast. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 35(98): 1-8
- Liu Z, Deng M, Qu Y, Liang N, Zhao L, 2023. An efficient extraction method for ergosterol from *Lentinus edodes* stem by ultrasonic-assisted natural deep eutectic solvent. *Microchemical Journal*, 190: 108589
- Ma HX, Si J, Dai YC, Zhu AH, Cui BK, Fan YG, Yuan Y, He SH, 2022. Diversity of wood-inhabiting macrofungi in Hainan Province, South China. *Mycosystema*, 41(5): 695-712 (in Chinese)
- Mai YZ, Xu SY, Shen R, Feng BR, He H, Xu YF, 2022. Gastroprotective effects of water extract of domesticated *Amauroderma rugosum* against several gastric ulcer models in rats. *Pharmaceutical Biology*, 60(1): 600-608
- Nowak R, Nowacka-Jechalke N, Pietrzak W, Gawlik-Dziki U, 2022. A new look at edible and medicinal mushrooms as a source of ergosterol and ergosterol peroxide-UHPLC-MS/MS analysis. *Food Chemistry*, 369: 130927
- Papoutsis K, Grasso S, Menon A, Brunton NP, Lyng JG, Jacquier JC, Bhuyan DJ, 2020. Recovery of ergosterol and vitamin D₂ from mushroom waste - potential valorization by food and pharmaceutical industries. *Trends in Food Science & Technology*, 99: 351-366
- Peng L, Li J, Liu Y, Xu ZH, Wu JY, Ding ZY, Gu ZH, Zhang L, Shi GY, 2016. Effects of mixed carbon sources on galactose and mannose content of exopolysaccharides and related enzyme activities in *Ganoderma lucidum*. *RSC Advances*, 6(45): 39284-39291
- Rangsinth P, Sharika R, Pattarachotanant N, Duangjan C, Wongwan C, Sillapachaiyaporn C, Nilkhet S, Wongsirojkul N, Prasansuklab A, Tencomnao T, Leung GPH, Chuchawankul S, 2023. Potential beneficial effects and pharmacological properties of ergosterol, a common bioactive compound in edible mushrooms. *Foods*, 12(13): 2529
- Song MJ, Bao HY, 2013. Research progress of ergot steroid compounds extracted from Fungi. *Journal of Fungal Research*, 11(4): 266-274 (in Chinese)
- Sun YF, Costa-Rezende DH, Xing JH, Zhou JL, Zhang B, Gibertoni TB, Gates G, Glen M, Dai YC, Cui BK, 2020. Multi-gene phylogeny and taxonomy of *Amauroderma s.lat.* (Ganodermataceae). *Persoonia*, 44: 206-239
- Tanwar S, Kalra S, Bari VK, 2024. Insights into the role of sterol metabolism in antifungal drug resistance: a mini-review. *Frontiers in Microbiology*, 15: 1409085
- Wu F, Yuan HS, Zhou LW, Yuan Y, Cui BK, Dai YC, 2020. Polypore diversity in South China. *Mycosystema*, 39(4): 653-682 (in Chinese)
- Wu F, Zhou LW, Yang ZL, Bau T, Li TH, Dai YC, 2019. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. *Fungal Diversity*, 98: 1-76
- Xia X, Liu JY, Tu JM, 2012. Preliminary study on deep liquid culture of *Amauroderma rudis* (Ber k.) Cunn. *Edible Fungi*, 34(6): 11-12 (in Chinese)
- Xiao ZT, He HQ, Peng YY, Liu M, Xu J, Qiu YH, Sun YF, Cui BK, 2024. Domestication and antioxidant activities of five wild *Sanguinoderma* species. *Mycosystema*, 43(6): 162-173 (in Chinese)
- Xu YF, Lin LS, Zheng HT, Hong XX, Cai TT, Xu JQ, Zhang WJ, Mai YZ, Li JW, Huang B, Liu Z, Guo SJ, 2024. Protective effect of *Amauroderma rugosum* ethanol extract and its primary bioactive compound, ergosterol, against acute gastric ulcers based on LXR-mediated gastric mucus secretions. *Phytomedicine*, 123: 155236

- Yang XH, Xiao X, Liu D, Wu RB, Wu CL, Zhang J, Huang JF, Liao BQ, He HL, 2017. Optimization of collagenase production by *Pseudoalteromonas* sp. SJN2 and application of collagenases in the preparation of antioxidative hydrolysates. *Marine Drugs*, 15(12): 377
- Yin D, Jin FX, Zhang JL, Lei C, Ke XB, 2024. Study on fermentation technology and extraction conditions of total saponins from *Trillium tschonoskii* Maxim. by *Aspergillus niger*. *Food and Fermentation Science & Technology*, 60(4): 15-19, 32 (in Chinese)
- Zeng WJ, Cao GF, Wang J, Wang WK, Yang L, Kang C, 2022. Effects of different liquid culture media on intra- and extracellular polysaccharides and triterpenoid content in *Amauroderma rude* (Berk.) Pat. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 45(9): 2066-2070 (in Chinese)
- Zhang Z, Wu D, Wang YY, Yang Y, Feng J, Li W, Chen WC, Zhang JS, 2021. Optimization of liquid fermentation process of ergosterol produced by *Hericium erinaceus*. *Mycosystema*, 40(8): 2159-2170 (in Chinese)
- Zheng CW, Cheung TMY, Leung GPH, 2022. A review of the phytochemical and pharmacological properties of *Amauroderma rugosum*. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 38(6): 509-516
- Zhu AH, Zhang QY, Luo KY, He SH, Ma HX, 2024. Diversity of wood-inhabiting macrofungi in tropical areas of Yunnan Province, China. *Mycosystema*, 43(3): 230265 (in Chinese)
- [附中文参考文献]**
- 陈体强, 林兴生, 赵健, 郑宇, 李开本, 林章余, 2002. 福建灵芝科真菌资源及担孢子形态结构数据库研究. *福建农业学报*, 2002(1): 40-44
- 程洋洋, 惠靖茹, 郝竞霄, 黄占旺, 2021. 食用菌中麦角甾醇的研究进展. *食品工业科技*, 42(10): 349-354
- 戴玉成, 2022. 中国食药真菌研究发展的新趋势——以《菌物学报》2000–2021 年发表论文分析. *菌物研究*, 20(2): 141-156
- 戴玉成, 刘鸿高, 吴芳, 司静, 员瑗, 何双辉, 崔宝凯, 周萌, 2022. 云南木材腐朽真菌资源和多样性. 北京: 科学出版社. 1-574
- 戴玉成, 杨祝良, 2008. 中国药用真菌名录及部分名称的修订. *菌物学报*, 27(6): 801-824
- 邓玉清, 王纪, 虞龙, 2001. 微生物麦角甾醇的研究进展. *微生物学杂志*, 21(3): 45-47
- 杜娇, 2020. 猴头菌麦角甾醇高产发酵条件及提取工艺的研究. 山西农业大学硕士论文, 太原. 1-51
- 樊晓飞, 2013. 食药菌中麦角甾醇的免疫活性及其 VD 转化. 吉林农业大学硕士论文, 长春. 1-36
- 范秀芝, 姚芬, 殷朝敏, 史德芳, 高虹, 2021. 外源诱导姬松茸麦角甾醇的合成. *现代食品科技*, 37(1): 65-72
- 郭更新, 负建民, 王彪, 赵雨萱, 李文辉, 屈玉玲, 2023. 六种中草药提取物对羊肚菌深层发酵麦角甾醇的影响. *食品与发酵工业*, 49(20): 38-45
- 李绍玮, 2020. 外源诱导子对灵芝甾醇生物合成途径及相关基因的调控作用研究. 浙江农林大学硕士论文, 杭州. 1-56
- 马海霞, 司静, 戴玉成, 朱安红, 崔宝凯, 范宇光, 员瑗, 何双辉, 2022. 中国海南省木生大型真菌多样性研究. *菌物学报*, 41(5): 695-712
- 宋明杰, 包海鹰, 2013. 菌物中麦角甾类化合物的研究进展. *菌物研究*, 11(4): 266-274
- 吴芳, 袁海生, 周丽伟, 员瑗, 崔宝凯, 戴玉成, 2020. 中国华南地区多孔菌多样性研究. *菌物学报*, 39(4): 653-682
- 夏险, 刘健勇, 涂俊铭, 2012. 血芝深层液体培养研究初探. *食用菌*, 34(6): 11-12
- 肖自添, 何焕清, 彭洋洋, 刘明, 徐江, 邱远辉, 孙一翡, 崔宝凯, 2024. 五种野生血芝的驯化栽培及其抗氧化活性. *菌物学报*, 43(6): 162-173
- 殷丹, 金凡翔, 张军林, 雷超, 柯贤炳, 2024. 延龄草总皂苷的黑曲霉发酵工艺及提取条件研究. *食品与发酵科技*, 60(4): 15-19, 32
- 曾维军, 曹国璠, 王晶, 王万坤, 杨玲, 康超, 2022. 不同液体培养基对皱盖假芝胞内外多糖及三萜含量的影响. *中药材*, 45(9): 2066-2070
- 张忠, 吴迪, 王雨阳, 杨焱, 冯杰, 李文, 陈万超, 张劲松, 2021. 猴头菌高产麦角甾醇液体发酵工艺优化. *菌物学报*, 40(8): 2159-2170
- 朱安红, 张秋月, 罗凯月, 何双辉, 马海霞, 2024. 中国云南省热带地区大型木生真菌多样性. *菌物学报*, 43(3): 230265