

液体发酵竹红菌素的稳定性及抗肿瘤活性

邵颖¹, 陈安徽¹, 贺菊萍¹, 胡飞², 樊美珍²

(1. 徐州工程学院食品(生物)工程学院, 江苏 徐州 221008; 2. 安徽省微生物防治重点实验室, 安徽 合肥 230036)

摘要: 研究竹黄无性型菌株 ZH-5-1 液体发酵菌丝体中竹红菌素的稳定性及抗肿瘤活性。采用分光光度法测定竹红菌素溶液的吸光度以考察竹红菌素稳定性; 以中国仓鼠卵巢肿瘤细胞(CHO 细胞)株、人子宫颈癌细胞 HeLa、HL-60 人白血病细胞株和 A-549 人肺腺癌细胞株为模型, 用 Resazurin 法检测液体发酵竹红菌素的抗肿瘤活性。结果显示: 液体发酵竹红菌素在酸性条件下表现稳定; 对热、光、H₂O₂、亚硫酸钠的稳定性良好; 低浓度的金属离子不会影响竹红菌素稳定性, 在所有供试离子中 Mn²⁺、Cu²⁺、Fe²⁺ 对竹红菌素稳定性的破坏作用较大。液体发酵竹红菌素样品对 4 种供试肿瘤细胞株均具有生长抑制活性, 对 CHO、HL-60、A-549 肿瘤细胞的抑制作用表现出良好的剂量-效应关系, 其 IC₅₀ 分别为 0.47、0.11、0.22 mg/mL。总之, 液体发酵竹红菌素是一种稳定的且具有抗肿瘤活性的天然产物, 具有广阔的应用空间。

关键词: 液体发酵竹红菌素; 稳定性; 抗肿瘤活性

Stability and Anti-tumor Activity of Hypocrellin from Liquid-Cultured Mycelia of *Shiraia bambusicola* Strain ZH-5-1

SHAO Ying¹, CHEN An-hui¹, HE Ju-ping¹, HU Fei², FAN Mei-zhen²

(1. College of Food (Biology) Engineering, Xuzhou Institute of Technology, Xuzhou 221008, China;

2. Anhui Provincial Key Laboratory of Microbial Pest Control, Hefei 230036, China)

Abstract: The stability of hypocrellin from the liquid-cultured mycelia of a strain of anamorph (ZH-5-1) from *Shiraia bambusicola* was evaluated based on changes in the spectrophotometric absorbance of hypocrellin solutions. The anti-tumor activity was tested by Resazurin assay using CHO, HeLa, HL-60 and A-549 cells. The results showed that the hypocrellin was stable in acidic condition and had good thermal and light stability. Commonly used oxidant H₂O₂ and reducing agent Na₂SO₃ had no obvious effect on hypocrellin stability. The stability of the hypocrellin could not be influenced by low concentrations of metal ions, but among all the tested metal ions, Mn²⁺, Cu²⁺ and Fe²⁺ had more destructive effect. The hypocrellin inhibited the growth of all the four tested tumor cells. Hypocrellin inhibition on the growth of CHO, HL-60, and A-549 cells was in dose-dependent manner with an IC₅₀ of 0.47, 0.11 mg/mL and 0.22 mg/mL, respectively. In conclusion, mycelium hypocrellin of strain ZH-5-1 is a stable natural product with anti-tumor activity and thus will have potentially promising applications in practice.

Key words: hypocrellin; stability; anti-tumor activity

中图分类号: TS201

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)23-0096-05

竹黄(*Shiraia bambusicola* Henn.) 是我国传统的寄生性药用真菌, 又名竹花、竹三七、竹赤团子等^[1], 多生于衰败或即将衰败的竹林中, 主要寄主为箭竹属(*Fargesia*)和短穗竹属(*Brachystachyum*), 广布于四川、江西、江苏、浙江、安徽、福建、江西、湖北、湖南以及日本和斯里兰卡等地^[2-6]。竹黄的药用价值由来已久, 早在明代李时珍的巨著《本草纲目》中就有如下记载: “竹黄、又名天竺黄, 味甘寒、无毒。主

治小儿惊风、去清风热、镇心明目、滋养五脏。”^[7]现代医学研究表明, 竹黄的药用价值主要体现在抗炎、镇痛、抗菌、抗肿瘤、护肝、保护心血管以及减少毒副作用等方面^[8-9]。

目前, 国内外学者对竹黄进行了研究并取得了一定的进展。陈毅坚等^[10]从滇西野生竹黄中提取了竹红菌素并对其进行了抗菌活性检测, 发现竹红菌素具有明显的抑制革兰氏阳性菌的作用; 林海萍等^[11]分析了不同来源

收稿日期: 2011-06-17

作者简介: 邵颖(1979—), 女, 讲师, 博士, 研究方向为微生物与微生物资源应用。E-mail: shyzhbo2005@126.com

竹黄中的多糖含量并考察了竹黄中多糖含量与竹红菌素含量及竹黄生物学特性间的关系;项小燕等^[12-13]、李慧等^[14]研究了竹黄的液体发酵工艺;蔡宇杰等^[15]对竹黄产竹红菌素的固体发酵工艺进行了研究。但是,目前对竹黄无性型菌株发酵代谢产物的活性及其应用方面的研究报道还尚少,作者从采自安徽宣城的竹黄子实体中分离到一株竹黄无性型菌株 ZH-5-1,并对 ZH-5-1 菌株液体深层发酵菌丝体中提取的竹红菌素进行稳定性及抗肿瘤活性检测,为该液体发酵竹红菌素的综合开发及其在食品、保健品、医药等领域的应用提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

菌株 ZH-5-1 为分离自采集于安徽宣城的竹黄(*Shiraia bambusicola* Henn.)子实体,经鉴定该菌株为竹黄无性型菌株。

中国仓鼠卵巢 CHO 细胞株 中国科技大学免疫学实验室;人子宫颈癌细胞 HeLa 细胞株 苏州大学中药研究所;HL-60 人白血病细胞株、A-549 人肺腺癌细胞株 中国科学院上海药物研究所。

固体培养基:竹枝 200g/L、蔗糖 10g/L、葡萄糖 5g/L、蛋白胨 1g/L、KH₂PO₄ 0.5g/L、琼脂 25g/L;液体培养基:竹枝 200g/L、蔗糖 10g/L、葡萄糖 5g/L、蛋白胨 1g/L、KH₂PO₄ 0.5g/L。发酵培养基:葡萄糖 30g/L、蛋白胨 5g/L、NaNO₃ 10g/L、KCl 1.5g/L、MgSO₄ 1.5g/L、KH₂PO₄ 2g/L, pH6.0。

细胞培养基:DMEM/F12 培养基(含 10% 小牛血清以及 100 μg/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素)。

二甲基亚砜(DMSO)、刃天青(Resazurin) 美国 Sigma 公司;DMEM/F12 培养基(特级) 普洛麦格北京生物通讯有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

PT3100 高速分散器 瑞士 Polytron 公司;040520111G Freeze Dry Systems(冷冻干燥系统) 美国 Labconco 公司;YXQ.SG4.280 手提式压力蒸汽灭菌器 上海华线医用核子仪器有限公司;Spectra Max M2 全波长扫描酶标仪 美国 Molecular Device 公司;DHG-9053A 电热鼓风干燥箱 上海益恒实验仪器有限公司;CO₂ 培养箱 美国 Shellab 公司;AIR TECH 超净工作台 苏净集团安泰公司;LRH-250-G 光照培养箱 广东省医疗器械厂;AE200 型梅特勒电子天平 上海分析仪器厂;96 孔板 美国 Costar 公司。

1.3 方法

1.3.1 菌株的培养及供试样品的制备

将竹黄无性型菌株 ZH-5-1 液体种子以 10% 的接种量

接种于盛有发酵培养基的 70L 发酵罐中进行发酵培养,培养条件为:发酵温度 28℃,罐压 0.05~0.08MPa,通气量 1:(0.8~1),发酵 3d 后对收集到的发酵醪液进行离心分离,收集菌丝体,菌丝体低温冷冻干燥以备用。菌丝体按照 1:30(m/V)的料液比加入丙酮于超声波振荡器中,在 100Hz、30℃ 条件下振荡浸提 30min,然后于 8000r/min 离心 5min 取上清液,上清液即为竹红菌素提取液,用以进行竹红菌素稳定性研究。测定上清液的吸光度并带入竹红菌素标准曲线的回归方程得到上清液中竹红菌素的质量浓度为 69.70 μg/mL。上清液于 40℃ 条件下浓缩后冷冻干燥获得冻干粉,冻干粉中竹红菌素的纯度为 72.36%。冻干粉用 12.5% 的 DMSO 分别配制成质量浓度为 4、1、0.25、0.063、0.016mg/mL 的样品进行抗肿瘤活性实验。

1.3.2 竹红菌素最大吸收波长的确定

参考文献[16]的方法进行测定。

1.3.3 竹红菌素稳定性研究

1.3.3.1 pH 值对竹红菌素稳定性的影响

取等量竹红菌素提取液,于室温条件下用 0.2mol/L 的 HCl 溶液和 0.2mol/L 的 NaOH 溶液调节酸碱度,用 pH 计测定提取液 pH1~14,观察竹红菌素提取液在不同 pH 值条件下的颜色变化。

1.3.3.2 温度对竹红菌素稳定性的影响

将装有 10mL 竹红菌素提取液的各试管分别放置在温度为 20、30、40、50、60、80、100℃ 的水浴锅中,1h 后取出,观察各管中提取液的颜色变化并测其在波长 464nm 处的吸光度。

1.3.3.3 光照对竹红菌素稳定性的影响

取等量竹红菌素提取液,分别于室内自然光和距离 25W 紫外灯 30cm 处存放,定时观察提取液颜色变化并取出测定提取液在波长 464nm 处的吸光度。

1.3.3.4 氧化剂和还原剂对竹红菌素稳定性的影响

将装有 10mL 竹红菌素提取液的试管分为两组,一组试管中分别加入 0、20、40、60、80、100 μL 的 30% H₂O₂ 溶液另一组试管中分别加入 0、20、40、60、80、100 μL 1mol/L Na₂SO₃ 溶液。分别于加入试剂 2h 和 5h 时测定各试管溶液于波长 464nm 处的吸光度。

1.3.3.5 金属离子对竹红菌素稳定性的影响

取等量竹红菌素提取液,向提取液中分别按照体积分数为 1%、3%、5% 的量加入事先配制好的 1mmol/mL Ca²⁺、Ba²⁺、K⁺、Pb²⁺、Mn²⁺、Cu²⁺、Fe²⁺ 等金属离子溶液,于放置 2h 时测定溶液于波长 464nm 处的吸光度。

1.3.4 竹红菌素对肿瘤细胞生长抑制实验

参照陆荣等^[17]的方法,采用体外细胞毒性测定的Resazurin法进行检测。各肿瘤细胞经0.25%胰酶消化后加新鲜培养液,于37℃、5%的CO₂培养箱中培养,每隔2~3d更换一次培养液,待细胞进入对数分裂期,以每孔 4.0×10^4 个细胞接种于96孔细胞培养板中培养,每孔体积100μL,同时留出3个空白孔(不加细胞),于37℃、5%的CO₂培养箱中培养24h。细胞在96孔板中培养24h且贴壁后,用移液器吸出旧的培养液,然后样品孔每孔加90μL新鲜培养液和10μL各质量浓度竹红菌素样品,同时设100%对照组、0%对照组,100%和0%对照孔中分别加90μL新鲜培养液和10μL 12.5%的DMSO(100%对照组是3个无细胞的空白孔),每组设3个重复,于37℃、5%的CO₂培养箱中培养72h。细胞加样品共培养72h后,每孔加20μL 0.05%的Resazurin,于培养箱中保温2h,用酶标仪检测荧光强度(FLU)。激发波长为530nm,发射波长为590nm。

$$\text{细胞生长抑制率}/\% = (1 - \frac{\text{FLU}_{\text{样品}} - \text{FLU}_{100\%}}{\text{FLU}_{0\%} - \text{FLU}_{100\%}}) \times 100$$

1.3.5 统计学分析

采用DPS软件对实验结果进行统计分析,所有数据采用平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 竹红菌素的稳定性

2.1.1 pH值对竹红菌素稳定性的影响

表1 pH值对竹红菌素稳定性的影响
Table 1 Effect of pH on hypocrellin stability

pH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
颜色	玫红	玫红	玫红	玫红	鲜红	鲜红	鲜红	浅红	浅绿	浅绿	亮绿	亮绿	深绿	深绿

由表1可见,竹红菌素在不同的pH值条件下会呈现不同的颜色。酸性条件下竹红菌素呈现红色,pH值对竹红菌素的变色范围是8~10,溶液颜色由红色逐渐转变为绿色,当溶液的pH值大于10时,竹红菌素的颜色即转化为深绿色。

2.1.2 温度对竹红菌素稳定性的影响

表2 液体发酵竹红菌素的热稳定性
Table 2 Thermal stability of hypocrellin

温度/℃	20	30	40	50	60	80	100
吸光度	1.725	1.724	1.724	1.724	1.722	1.719	1.716
颜色	鲜红	鲜红	鲜红	鲜红	鲜红	鲜红	鲜红

由表2可见,虽然随着温度的升高竹红菌素于波长464nm处的吸光度有所下降,但在20~100℃的温度范围内竹红菌素的颜色并未发生显著变化,始终保持鲜红色,说明液体发酵竹红菌素对热稳定。

2.1.3 光照对竹红菌素稳定性的影响

考察了竹红菌素于自然光照及紫外光照条件下的颜色变化,同时测定了不同光照条件下竹红菌素于波长464nm处的吸光度,具体实验结果如表3、4所示。

表3 自然光对竹红菌素稳定性的影响
Table 3 Light stability of hypocrellin

放置时间/h	0	24	48	72	96
吸光度	1.725	1.724	1.724	1.723	1.723
颜色	鲜红	鲜红	鲜红	鲜红	鲜红

表4 紫外光对竹红菌素稳定性的影响
Table 4 UV stability of hypocrellin

放置时间/h	0	24	48	72	96
吸光度	1.725	1.722	1.719	1.716	1.716
颜色	鲜红	鲜红	鲜红	鲜红	鲜红

由表3、4可见,竹红菌素在自然光照和紫外光照条件下,随着放置时间的延长其吸光度均有所下降,但下降幅度不明显。而且竹红菌素溶液的颜色在不同光照条件下始终显示鲜红色,说明竹红菌素对光稳定。

2.1.4 氧化剂和还原剂对竹红菌素稳定性的影响

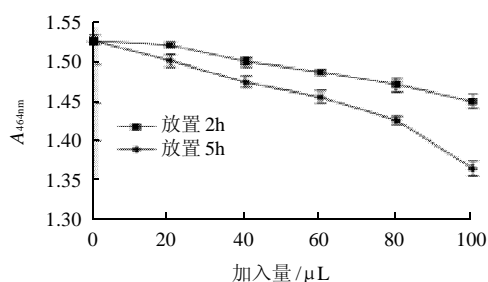
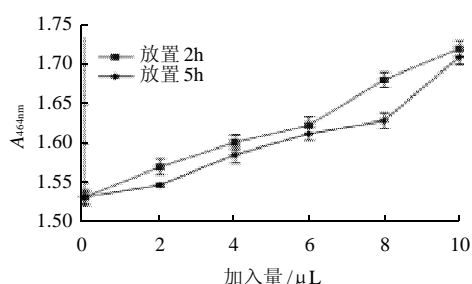


图1 30% H₂O₂加入量对竹红菌素稳定性的影响
Fig.1 Effects of 30% H₂O₂ on hypocrellin stability

由图1可知,竹红菌素溶液的吸光度会随着H₂O₂加入量的增加和放置时间的延长而下降。虽然吸光度在数值上有所降低,但溶液颜色并未发生明显改变,仍然为红色,说明竹红菌素对氧化剂H₂O₂较稳定。

图2 1mol/L Na₂SO₃对竹红菌素稳定性的影响Fig.2 Effects of 1mol/L Na₂SO₃ on hyporellin stability

由图2可知,竹红菌素溶液的吸光度随着亚硫酸钠加入量的增加而增大,虽然溶液的颜色并未发生显著变化,但足以说明还原剂亚硫酸钠对发酵竹红菌素的护色作用。

2.1.5 金属离子对竹红菌素稳定性的影响

表5 1mmol/L 金属离子的加入量对竹红菌素吸光度的影响

Table 5 Effect of 1mmol/L metal ions on hyporellin stability

加入离子种类	A _{464nm}		
	1%	3%	5%
对照	2.761 ± 0.017	2.761 ± 0.017	2.761 ± 0.017
MnSO ₄	2.334 ± 0.036	1.639 ± 0.018	1.486 ± 0.042
CuSO ₄	2.397 ± 0.018	1.592 ± 0.006	1.305 ± 0.015
FeSO ₄	2.392 ± 0.037	1.612 ± 0.018	1.412 ± 0.009
MgSO ₄	2.107 ± 0.068	1.959 ± 0.048	1.424 ± 0.007
CaCl ₂	2.527 ± 0.051	2.201 ± 0.047	1.413 ± 0.027
NaCl	2.674 ± 0.031	1.792 ± 0.013	1.444 ± 0.011
BaCl ₂	2.248 ± 0.021	2.355 ± 0.024	1.396 ± 0.029
ZnCl ₂	2.410 ± 0.029	1.901 ± 0.035	1.622 ± 0.017
KCl	2.686 ± 0.053	2.386 ± 0.047	1.503 ± 0.016
PbCl ₂	2.609 ± 0.041	2.075 ± 0.021	1.581 ± 0.008

由表5可知,当供试金属离子在竹红菌素溶液中的加入量为1%时,竹红菌素溶液于波长464nm处的吸光度未发生明显变化,溶液颜色也显示红色。但当金属离子于溶液中的加入量提高到3%时,吸光度均下降。除加入Ca²⁺、Ba²⁺、K⁺、Pb²⁺的溶液仍显示红色外,其他溶液颜色均变为浅红色。当金属离子的加入量提高到5%时,所有溶液的吸光度均显著下降,颜色也发生很大变化。另外,在所有供试的金属离子中,Mn²⁺、Cu²⁺、Fe²⁺对竹红菌素稳定性影响较大。

2.2 竹红菌素抗肿瘤活性

表6 不同质量浓度竹红菌素样品对肿瘤细胞的生长抑制率

Table 6 Inhibitions rates of different concentrations of the hyporellin on tumor cell growth %

细胞种类	样品质量浓度(mg/mL)				
	4	1	0.25	0.063	0.016
CHO	80.56 ± 1.01	60.34 ± 0.75	40.12 ± 0.56	23.11 ± 0.74	9.47 ± 0.83
HeLa	70.78 ± 0.66	55.95 ± 0.68	41.68 ± 1.09	63.06 ± 0.64	30.29 ± 0.32
HL-60	100.00 ± 0.43	88.20 ± 0.53	66.60 ± 1.21	32.80 ± 0.49	9.10 ± 0.83
A-549	95.1 ± 0.77	94.10 ± 1.03	80.00 ± 0.54	8.10 ± 0.6	2.20 ± 0.72

由表6可知,不同质量浓度的竹红菌素样品对4株肿瘤细胞均有生长抑制作用,由此可知竹红菌素具有一定的抗肿瘤活性。在实验参数范围内,竹红菌素样品对CHO、HL-60、A-549肿瘤细胞的抑制作用表现出良好的剂量-效应关系;而对于HeLa肿瘤细胞,细胞生长抑制率与给药质量浓度间却没有明显的梯度变化。竹红菌素样品在较高给药质量浓度下对HL-60、A-549肿瘤细胞的抑制率高于CHO肿瘤细胞;而在较低给药质量浓度下对CHO、HL-60肿瘤细胞的抑制率高于A-549肿瘤细胞。经进一步计算分析发现,竹红菌素样品对CHO、HL-60、A-549肿瘤细胞株的IC₅₀分别为0.47、0.11、0.22mg/mL。

3 讨论

竹红菌素是药用真菌竹黄菌(*Shiraia bambusicola* Henn.)的主要成分之一,也是主要的生物活性成分,具有多种生理活性,被认为在医药和食品等领域有着巨大的潜在应用价值^[18]。使用液体深层发酵的方法对竹黄的无性型菌株进行培养,并从其发酵菌丝体中提取竹红菌素,这在很大程度上可以缓解自然资源竹红菌素的应用局限。

本实验对从竹黄无性型菌株液体深层发酵菌丝体中提取的竹红菌素进行了稳定性研究。研究结果发现:竹红菌素在不同的pH值条件下会呈现不同的颜色。酸性条件下竹红菌素呈现红色,pH值对竹红菌素的变色范围是8~10,当溶液的pH值大于10时,竹红菌素的颜色即转变为深绿色,所以竹红菌素适宜应用于酸性条件。在20~100℃温度范围内,竹红菌素始终保持红色,说明竹红菌素具有较好的热稳定性,适宜于常规的食品加工过程。竹红菌素溶液于自然光和紫外光照条件下放置96h,能始终保持红色,说明其光稳定性较好。氧化剂H₂O₂和还原剂亚硫酸钠对竹红菌素均相对稳定,虽然随着H₂O₂和亚硫酸钠加入量的增加,溶液吸光度在数值上有所改变,但溶液颜色并没有发生变化。但该研究结果与江南大学苏宇杰等^[16]的研究结果却不同,他们从野生竹黄子实体中提取了竹红菌素,但该竹红菌素对亚硫酸钠却非常敏感,低质量浓度时即可使竹红菌素的颜色由红色转变为绿色。亚硫酸钠对两种不同来源的竹红菌素产生不同结果的原因有待于进一步研究。另外,金属离子对竹红菌素也会产生一定的影响。低浓度时金属离子不会影响竹红菌素稳定性,但当金属离子于溶液中的比例达到5%时溶液颜色会发生明显变化。所有供试金属离子中Mn²⁺、Cu²⁺、Fe²⁺对竹红菌素稳定性的影响较大,应尽可能避免与这些离子接触。

近年来,肿瘤疾病的发病率逐年增高。对竹黄无性型菌株深层发酵菌丝体中提取的竹红菌素进行抗肿瘤

活性研究后发现,竹红菌素对4种肿瘤细胞均具有生长抑制作用。竹红菌素样品对HeLa肿瘤细胞的生长抑制率与给药质量浓度间没有明显的梯度变化,而对CHO、HL-60、A-549肿瘤细胞的抑制作用却表现出良好的剂量-效应关系。竹红菌素样品对CHO、HL-60、A-549肿瘤细胞株的 IC_{50} 分别为0.47、0.11mg/mL和0.22mg/mL。

综上所述,竹黄无性型菌株液体深层发酵菌丝体中提取的竹红菌素是一种微生物来源的、稳定的且具有抑制肿瘤细胞生长活性的天然产物,有望将该竹红菌素应用于食品、保健品、医药等领域。

参考文献:

- [1] 赵丹,梁宗琦.竹黄的分离培养研究进展[J].菌物研究,2005,3(1): 53-57.
- [2] 贾小明,徐晓红,庄百川,等.药用竹黄菌的生物学研究进展[J].微生物学通报,2006,33(3): 147-150.
- [3] 上海科学院食用菌研究所.中国食用菌志[M].北京:中国林业出版社,1987: 16.
- [4] CHENG Tianfan, JIA Xiaoming, MA Xiaohang, et al. Phylogenetic study on *Shiraia bambusicola* by rDNA sequence analyses[J]. J Basic Microbiol, 2004, 44(5): 339-350.
- [5] MORAKOTKARN D, KAWAWAKI H, SEKI T. Molecular diversity of bamboo-associated fungi isolated from Japan[J]. Fems Microbiol Lett, 2007, 266: 10-19.
- [6] ALI S M, OLIVO M. Efficacy of hypocrellin pharmacokinetics in phototherapy[J]. Int J Oncol, 2002, 21(6): 1229-1237.
- [7] 江苏新医学院.中药大辞典[M].上海:上海出版社,1977: 902.
- [8] 林海萍,黄小波,毛胜凤,等.野生竹黄菌生物学性状研究[J].中草药,2008,39(9): 1407-1409.
- [9] 林海萍,陈声明,陈超龙.一种值得开发利用的药用真菌:竹黄[J].浙江林业科技,2002,22(1): 77-80.
- [10] 陈毅坚,钟文武,杨松艳.滇西竹黄抗菌活性研究[J].云南民族大学学报:自然科学版,2010,19(2): 154-156.
- [11] 林海萍,殷红福,黄小波,等.不同来源竹黄中多糖含量的分析与比较[J].中草药,2010,41(9): 1549-1552.
- [12] 项小燕.竹黄菌液体发酵条件的优化[J].生物技术,2010,20(4): 73-75.
- [13] 项小燕,郑爱芳,谢翎.不同金属离子对竹黄液体发酵的影响[J].中草药,2011,42(1): 164-166.
- [14] 李慧,常景玲.竹黄多糖发酵工艺的优化研究[J].中国药房,2007,18(24): 1868-1870.
- [15] 蔡宇杰,丁彦蕊,张大兵,等.竹黄菌固体发酵竹红菌素条件的研究[J].生物技术,2004,14(4): 46-47.
- [16] 苏宇杰,印小燕,蔡宇杰,等.竹黄中竹红菌素的提取及稳定性研究[J].食品工业科技,2009,30(2): 261-164.
- [17] 陆荣,刘小娟,樊美珍,等.喜树内生真菌的分离及其抗肿瘤活性菌株的筛选[J].安徽农业大学学报,2008,35(1): 76-79.
- [18] 梁晓辉,蔡宇杰,廖祥儒,等.药用真菌竹黄的研究进展[J].食品与生物技术学报,2008,27(5): 21-27.