

2018, 44(4): 0608-0614
 ISSN 0257-4799; CN 32-1115/S
 DOI: 10.13441/j.cnki.cykx.2018.04.015

用不同蛹虫草菌株和家蚕品种幼虫覆土栽培蚕蛹虫草的试验

张俊^{1,2} 颜新培¹ 李一平¹ 徐安英³ 钱何英³ 黄仁志¹ 蒋勇兵¹ 蒋诗梦¹ 邹湘月¹
 邵元元¹

(¹湖南省蚕桑科学研究所,长沙 410127; ²农业部蚕桑遗传改良重点实验室,江苏 镇江 212018; ³中国农业科学院蚕业研究所,江苏 镇江 212018)

摘要 采用覆土培育的方法人工栽培蚕蛹虫草。在相同的培育环境条件下以6株蛹虫草菌(*Cordyceps militaris*)菌株和4个家蚕品种的5龄第6天幼虫供试,筛选合适的菌株和蚕品种。同一个家蚕品种的幼虫接种不同蛹虫草菌株的感染率差异显著;接种相同蛹虫草菌株120 h时,家蚕二元杂交组合与四元杂交组合幼虫间的感染率差异显著,至168 h,仅接种菌株H24的2个家蚕二元杂交组合间幼虫的感染率差异显著,各家蚕品种幼虫接种其余菌株的感染率已无显著差异,家蚕品种7532×湘晖的幼虫接种菌株LP4的感染率最高达到93.33%,并且该菌株对4个家蚕品种幼虫的感染能力显著高于其他菌株。不同菌株接种各家蚕品种幼虫的发菌率无显著差异。各家蚕品种幼虫接种菌株H24和H7未获得子实体,接种菌株H10和LP4的出草率最高,平均值分别为84.73%和88.70%。供试菌株和家蚕品种均显著影响蚕蛹虫草中3种活性成分的含量,并且菌株的影响更显著:以菌株L2接种7532×湘晖的幼虫培育蚕蛹虫草中的虫草素含量最高;以菌株H0接种932·芙蓉×7532·湘晖的幼虫培育蚕蛹虫草中的腺苷含量最高;以菌株H0接种洞·庭×碧·波的幼虫培育蚕蛹虫草中的虫草多糖含量最高。综合各项试验成绩初步认为:蛹虫草菌L2菌株和LP4菌株具有较高的生产应用价值;家蚕品种直接影响菌株的感染速度,对培育蚕蛹虫草中活性成分的含量也有一定影响。

关键词 蛹虫草菌;家蚕品种;蚕蛹虫草;感染率;出草率;活性成分

中图分类号 S886.9 文章编号 0257-4799(2018)04-0608-07

An Experiment on Cultivating Silkworm-fungus Symbiont Using Different *Cordyceps militaris* Strains and Silkworm Larvae of Different Varieties Overlaid with Soil

Zhang Jun^{1,2} Yan Xinpei^{1*} Li Yiping¹ Xu Anying³ Qian Heying³ Huang Renzhi¹
 Jiang Yongbing¹ Jiang Shimeng¹ Zou Xiangyue¹ Shao Yuanyuan¹

(¹The Sericultural Research Institute of Hunan Province, Changsha 410127, China; ²Key Laboratory of Silkworm and Mulberry Genetic Improvement, Ministry of Agriculture, Zhenjiang Jiangsu 212018, China; ³The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang Jiangsu 212018, China)

Abstract In this study, silkworm-fungus symbiont was artificially cultured by soil overlying method under the same culti-

vation condition to screen for suitable *Cordyceps militaris* strains and silkworm varieties. Six *Cordyceps militaris* strains were inoculated to the 6th day silkworm (*Bombyx mori*) larvae of the 5th instar from 4 different varieties respectively. There were significant differences on infection rates in the same silkworm variety inoculated with different *Cordyceps militaris* strains. When inoculating the same *Cordyceps militaris* strain to larvae from different varieties

收稿日期:2018-03-04 接受日期:2018-03-16

资助项目:湖南省农业科技创新资金创新团队建设项目(No.2017XC01),
 2017年度农业部蚕桑遗传改良重点实验室开放课题(No.
 KL201709)现代农业产业技术体系建设专项(No.CARS-18)。

第一作者信息:张俊(1986—)男,助理研究员。

E-mail: zhangjuniswho@163.com

通信作者信息:颜新培,研究员。

E-mail: 776256205i@sina.com

* Corresponding author. E-mail: 776256205i@sina.com

for 120 h, there were significant differences on infection rates between silkworm varieties of binary cross combination and quaternary cross combination; after 168 h, significant difference on infection rate was only found between two varieties of binary hybrid combination inoculated with *Cordyceps militaris* strain H24, and no significant differences were found between other *Cordyceps militaris* strains and silkworm varieties. The infection rate of *Cordyceps militaris* strain LP4 to silkworm hybrid combination 7532·Xianghui reached 93.33%, and its infectivity to the four silkworm varieties was significantly higher than other *Cordyceps militaris* strains. Germination rates of different *Cordyceps militaris* strains inoculated into larvae of various silkworm varieties have no significant difference. All silkworm varieties inoculated with H24 and H7 strains didn't germinate silkworm-fungus symbiont, and the average silkworm-fungus symbiont formation rate of silkworm larvae infected with H10 and LP4 strains were the highest, reaching 84.70% and 88.70% respectively. Results showed that both *Cordyceps militaris* strains and silkworm varieties had significant effects on 3 active component contents in silkworm-fungus symbiont, and the influence of strain was more significant. Content of cordycepin in silkworm-fungus symbiont inoculated with L2 strain to larvae of 7532×Xianghui was the highest; content of adenosine in silkworm-fungus symbiont inoculated with H0 strain to larvae of 932·Furong×7532·Xianghui was the highest; and content of polysaccharides in silkworm-fungus symbiont inoculated with H0 strain to larvae of Dong·Ting×Bi·Bo was the highest. Considering the various experimental results, it is preliminarily concluded that *Cordyceps militaris* L2 and LP4 strains have high production and application value; and silkworm variety has direct influence on infection rate, and also on active component contents in silkworm-fungus symbiont.

Keywords *Cordyceps militaris*; Silkworm variety; Silkworm-fungus symbiont; Infection rate; Formation rate; Active component

虫草是一类具有滋补功效的药食同源真菌,冬虫夏草、蛹虫草以及金蝉花均为中药用虫草的佼佼者,其中蛹虫草是蛹虫草菌(*Cordyceps militaris*)以鳞翅目昆虫为寄主,经过营养生长和生殖生长后形成的虫菌复合体^[1-3]。蛹虫草的药用价值在《中华药海》、《新华本草纲目》等医药书目中均有记载,其药性温和,无副作用,具有较高的药用价值^[4-6]。现代药学研究发现蛹虫草含有丰富的虫草素、腺苷、虫草多糖等生物活性成分,具有抗菌、消炎、抗肿瘤、调节人体内分泌和增强免疫能力等药理作用,其独特的药理功效被广泛认可和接受^[7-19]。蛹虫草因具有其他虫草无可比拟的优点,使其在功能食品和医药等方面都有很好的开发利用前景,目前已被国家科技部批准为冬虫夏草的替代品和新资源食品^[20]。

近年来,以鳞翅目经济昆虫家蚕(*Bombyx mori*)幼虫为寄主人工栽培蛹虫草的技术不断成熟,其培育的蛹虫草形态近似于天然蛹虫草,活性成分含量高于其他寄主栽培的蛹虫草,同时家蚕幼虫易于饲养,无毒性,形体均匀整齐且蚕体本身也具有一定的营养与药用价值,所以可将家蚕作为宿主昆虫规模化生产获得品相饱满整齐、附加值高的蚕蛹虫草^[21-24]。本项研究选择性状差异较大的6株蛹虫草菌株及二元杂交、四元杂交的家蚕品种5龄6天幼虫进行覆土栽培蚕蛹虫草的试验,探究蛹虫草菌

株及宿主家蚕品种对栽培蚕蛹虫草的出草效率、生物活性成分含量的影响,为规模化高效生产药用品质优的蚕蛹虫草提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 蛹虫草菌株和家蚕品种

蛹虫草菌株分别从吉林、安徽等地采集天然野生蛹虫草菌(*Cordyceps militaris*)菌株组织分离获得,保存于本实验室,对菌株进行活化复壮,以编号分别为H0、H7、H10、H24、L2和LP4的6株菌株供试。6株供试菌株在相同的实验室条件下进行培养后,观察菌落的生长形态、转色快慢,同时进行两两接种拮抗反应实验,观察到出现显著的拮抗线,确定供试菌株为不同的蛹虫草菌株。

供试家蚕品种为四元杂交组合洞·庭×碧·波、932·芙蓉×7532·湘晖以及二元杂交组合932·芙蓉和7532·湘晖,由湖南省蚕桑科学研究所蚕品种资源室提供,孵化幼虫常规条件下用桑叶饲养至5龄第6天备用。

1.2 主要试剂和仪器

蛋白胨和酵母膏购自上海国药集团化学试剂有限公司;虫草素标样和腺苷标样购自Sigma公司;多糖、四氢呋喃、甲醇均为色谱醇,购自Fisher公司;葡萄糖标准品(纯度>98%)购自西安天丰生物科技有

限公司。

LC-10AD 高效液相色谱仪(日本岛津公司), NOVPAK-C18 色谱柱(5 μm ×40 cm, Waters 公司), KQ3200DB 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), LRH-250-GSI 智能人工气候箱(广东韶关市泰宏医疗器械有限公司), 250B 生化培养箱(江苏金坛医疗器械厂), Alpha-1900 紫外可见分光光度计(上海谱元仪器有限公司)。

1.3 液体接种菌液制备

1.3.1 培养基配方 基础培养基配方: 200 g/L 马铃薯(水煮), 20 g/L 葡萄糖, 5 g/L 蛋白胨, 1 g/L MgSO_4 , 3 g/L KH_2PO_4 , 8 g/L 蚕蛹粉, 2 g/L 酵母膏, 20 g/L 琼脂; pH 值 6.6~7.0。液体培养基配方: 200 g/L 新鲜马铃薯(水煮), 8 g/L 蚕蛹粉, 20 g/L 葡萄糖, 5 g/L 蛋白胨, 1 g/L MgSO_4 , 2 g/L 酵母膏, 3 g/L KH_2PO_4 , 1 g/L MgSO_4 , 0.1 g/L VB_1 ; pH 值 6.6~7.0。

1.3.2 接种菌液制备 将蛹虫草菌母种在平板培养基上活化后均匀分割, 接种于添加蚕蛹粉的液体培养基中, 在温度为 18~22 $^{\circ}\text{C}$ 的黑暗条件下静置培养 2 d, 第 3 天开始 130~140 r/min 振荡培养, 每天振荡 3~5 h, 第 5 天在 180~220 lx 的光照强度下培养 1 d, 用 3~4 层无菌纱布过滤除去菌丝, 获得接种菌液。

1.4 覆土栽培蚕蛹虫草的方法

选择健康的家蚕 5 龄第 6 天幼虫, 每头注射 0.35~0.45 mL 菌液后, 室温通风条件下培养, 观察蚕体感染僵化后埋于草木灰基质中, 仅将蚕的胸部 3~5 mm 露出, 放置在温度 15~22 $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 60%~70% 的黑暗环境下培养发菌完全后, 再转入光照强度 50~500 lx、温度 14~25 $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 60%~80% 的条件下培养; 子实体生长成熟后, 将蚕体从草木灰埋埋基质中取出, 清理干净周围粘覆的草木灰, 即获得成熟蚕蛹虫草。各组试验培养的蚕蛹虫草子实体经 80 $^{\circ}\text{C}$ 烘干, 粉碎后过 80 目筛, -20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存待测。

1.5 不同蛹虫草菌株及家蚕品种组合培养蚕蛹虫草的试验

供试的 6 株蛹虫草菌株 H0、H7、H10、H24、L2、LP4 分为 6 个大试验组, 每个大试验组分别接种 4 个供试家蚕品种的 5 龄第 6 天幼虫, 每一个菌株和家蚕品种的组合以 100 条幼虫供试。因在前期预试

验已经初步证实菌株 H0 和 L2 的感染率、发菌率介于菌株 10 和菌株 LP4 之间, 接种家蚕幼虫后正常出草, 出草率略低于前者, 故正式试验接种后只是分别统计 72 h、120 h、168 h 时菌株 H10、H7、H24 以及 LP4 的感染情况, 进一步调查发菌及出草情况。

1.6 蚕蛹虫草活性成分提取及含量测定

1.6.1 虫草素和腺苷的含量测定 准确称取各组试验培养的蚕蛹虫草样品 2.000 g, 加入双蒸水 40 mL, 涡流 10 min, 60 $^{\circ}\text{C}$ 、微波(720 W) 提取 50 min, 12 000 g 离心 5 min, 取上清液, 滤渣继续重复提取, 共提取 2 次, 合并上清液, 定容至 250 mL 容量瓶中, 用 0.2 μm 滤膜过滤获得虫草素、腺苷提取液。采用反相高效液相色谱法^[23-25] 测定虫草素和腺苷的含量。

1.6.2 虫草多糖的含量测定 准确称取各组试验培养的蚕蛹虫草样品 2.000 g, 加 30 倍体积的蒸馏水, 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴浸提 2 h, 过滤后收集上清液, 滤渣用 20 倍体积的蒸馏水继续水浴浸提 2 h, 过滤, 合并上清液, 定容至 200 mL, 取 10 mL 上清液并加入 4 倍体积的 95% 乙醇沉淀, 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜, 12 000 g 离心 10 min, 取沉淀用蒸馏水溶解后定容到 50 mL, 采用苯酚-硫酸法^[22] 测定虫草多糖含量。

1.7 数据统计处理

试验数据采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 供试菌株接种不同家蚕品种幼虫的感染率、发菌率及出草率

正式试验的调查数据如表 1 所示。在相同培养条件下, 不同家蚕品种幼虫接种同一蛹虫草菌株以及相同家蚕品种幼虫接种不同蛹虫草菌株, 感染率均差异显著, 至接种 168 h 时, 各试验组菌株对幼虫的感染率变幅范围为 54.67%~93.33%, 家蚕品种 932×芙蓉的幼虫接种菌株 LP4 的感染率最高(93.33%)。相同家蚕品种接种不同菌株, 菌株 LP4 的感染能力显著高于其他 3 株菌株, 接种 168 h 时 4 株菌株对幼虫的平均感染率从大到小依次为 LP4 (90.50%)、H7 (84.09%)、H10 (72.42%)、H24 (69.17%)。4 个家蚕品种接种相同菌株, 二元杂交组合 7532×湘晖、932×芙蓉幼虫的感染率显著高于四元杂交组合洞·庭×碧·波、932·芙蓉×7532·湘晖幼虫的感染率, 而 7532×湘晖和 932×芙蓉之间、洞·

庭·碧·波和 932·芙蓉×7532·湘晖之间, 幼虫的感染率差异不显著。至接种 288 h 时, 各试验组合的菌株不断生长突破蚕体表面长满头胸部, 平均发菌率变幅范围为 84.84%~93.54%, 差异不显著, 发菌率最高的为菌株 LP4 接种感染的试验组合。相同出草培养管理条件下, 发现菌株 H24 接种感染 4 个家

蚕品种幼虫发菌后没有转色, 菌株 H7 接种 4 个家蚕品种幼虫发菌后转色为浅橘红色, 二者均未形成子实体; 菌株 H10 和菌株 LP4 接种 4 个家蚕品种幼虫发菌后转色正常(图 1), 出草率平均值分别为 84.73%和 88.70%。

表 1 4 株蛹虫草菌株对不同家蚕品种 5 龄幼虫的感染率、发菌率和出草率的比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 1 Comparison on infection rates, germination rates and fruiting body rates of different *Cordyceps militaris* strains inoculated to the 5th instar larvae of different silkworm varieties ($\bar{x}\pm s, n=3$)

菌株编号 Strain No.	家蚕品种 silkworm variety	感染率 / % Infection rate			接种 288 h 的 发菌率 / % Germination rate at 288 h	出草率 / % Fruiting body rate
		72 h	120 h	168 h		
H24	7532×湘晖 7532×Xianghui	8.33±0.12 ^a	65.67±2.01 ^{mnop}	83.33±1.05 ^{fgkl}	93.24±2.18 ^{cd}	0
	932×芙蓉 932×Furong	6.00±0.31 ^a	58.00±1.54 ^{gklmn}	78.33±0.86 ^{defg}	95.71±0.06 ^d	0
	932·芙蓉×7532·湘晖 932·Furong×7532·Xianghui	0	37.00±0.96 ^{bcd}	60.33±2.06 ^{ac}	89.44±0.67 ^{bcd}	0
	洞·庭×碧·波 Dong·Ting×Bi·Bo	0	40.66±2.09 ^{cd}	54.67±1.63 ^a	88.23±2.37 ^{abcd}	0
	平均值 Average value	3.58±0.24 ^a	50.33±1.35 ^{efgk}	69.17±1.01 ^{cd}	91.66±0.19 ^{bcd}	0
	7532·湘晖 7532×Xianghui	7.00±0.09 ^a	52.33±0.86 ^{fgk}	85.67±1.59 ^{gklm}	92.38±1.34 ^{bcd}	0
H7	932×芙蓉 932×Furong	6.00±1.04 ^a	59.33±0.74 ^{klmn}	86.00±0.69 ^{gklm}	86.57±1.71 ^{abcd}	0
	932·芙蓉×7532·湘晖 932·Furong×7532·Xianghui	0	36.00±1.58 ^{bed}	80.00±1.23 ^{efgk}	87.42±1.89 ^{abcd}	0
	洞·庭×碧·波 Dong·Ting×Bi·Bo	0	34.33±1.64 ^{bc}	84.67±2.07 ^{fgklm}	89.24±0.65 ^{bcd}	0
	平均值 Average value	3.25±0.16 ^a	45.50±2.03 ^{def}	84.09±1.96 ^{fgklm}	89.76±1.62 ^{bcd}	0
	7532×湘晖 7532×Xianghui	9.33±0.05 ^a	42.00±1.68 ^{cde}	75.00±0.08 ^{cdef}	90.06±0.56 ^{bcd}	84.65±1.27 ^a
	932×芙蓉 932×Furong	6.67±0.08 ^a	37.00±1.21 ^{bed}	67.67±1.27 ^{bc}	83.28±2.16 ^{ab}	86.18±0.96 ^a
H10	932·芙蓉×7532·湘晖 932·Furong×7532·Xianghui	0	29.33±0.96 ^{ab}	78.00±0.54 ^{defg}	86.63±0.69 ^{abcd}	80.33±2.14 ^a
	洞·庭×碧·波 Dong·Ting×Bi·Bo	0	23.67±0.54 ^a	69.00±1.36 ^{cd}	79.37±0.58 ^a	87.75±1.36 ^a
	平均值 average value	4.00±0.14 ^a	33.00±1.23 ^{bc}	72.42±0.67 ^{cde}	84.84±0.91 ^{abc}	84.73±1.46 ^a
	7532×湘晖 7532×Xianghui	8.00±0.12 ^a	78.00±3.06 ^q	93.33±1.13 ^m	95.18±1.24 ^d	91.08±0.94 ^a
LP4	932×芙蓉 932×Furong	5.33±0.21 ^a	73.67±2.07 ^{pq}	89.67±1.17 ^{klm}	93.56±0.94 ^{cd}	84.76±2.06 ^a
	932·芙蓉×7532·湘晖 932·Furong×7532·Xianghui	0	63.33±1.69 ^{lmn}	87.00±0.97 ^{gklm}	94.23±1.83 ^d	87.62±2.37 ^a
	洞·庭×碧·波 Dong·Ting×Bi·Bo	0	67.33±2.27 ^{nop}	92.00±2.04 ^{lm}	91.17±0.76 ^{bcd}	91.34±3.17 ^a
	平均值 Average value	3.33±0.13 ^a	70.58±1.69 ^{pq}	90.50±1.82 ^{lm}	93.54±1.14 ^{cd}	88.70±2.69 ^a

表中数据后小写字母不一致表示该组间的差异具有显著性 ($P<0.05$)。表 2 同。

In the table, different lowercase letters following the data mean significant differences ($P<0.05$). The same in Table 2.



图 1 蛹虫草菌株 LP4 接种家蚕品种 932·芙蓉 5 龄第 6 天幼虫的感染 (A) 及发菌 (B) 和出草 (C) 情况

Fig. 1 Appearance of infection (A) , germination (B) and fruiting body (C) on the 6th day of 932·Furong silkworm larvae of the 5th instar inoculated with *Cordyceps militaris* strain LP4

2.2 供试菌株接种不同家蚕品种幼虫培育蚕蛹虫草的活性成分含量比较
调查统计 4 个供试家蚕品种 5 龄第 6 天幼虫分

别接种 4 株能正常出草的蛹虫草菌株后覆土培育蚕蛹虫草中活性成分虫草素、腺苷、虫草多糖的含量, 结果见表 2。

表 2 4 个蛹虫草菌株感染不同家蚕品种 5 龄幼虫培育获得蚕蛹虫草中的 3 种活性成分含量比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Comparison of cordycepin , adenosine and polysaccharide contents in silkworm-fungus symbiont cultured on silkworm larvae from different varieties in the 5th instar inoculated with four *Cordyceps militaris* strains ($\bar{x} \pm s, n=3$)

菌株编号 Strain No.	家蚕品种 Silkworm variety	虫草素质量比 / (mg·g ⁻¹) Mass ratio of cordycepin	腺苷质量比 / (mg·g ⁻¹) Mass ratio of adenosine	多糖质量比 / (mg·g ⁻¹) Mass ratio of polysaccharide
H0	7532·湘晖 7532×Xianghui	12. 00±0. 03 ^e	1. 09±0. 12 ^{hj}	65. 06±1. 95 ^k
	932·芙蓉 932×Furong	9. 18±0. 02 ^e	1. 59±0. 05 ^{defg}	76. 49±1. 32 ^{hij}
	932·芙蓉×7532·湘晖 932·Furong×7532·Xianghui	10. 27±0. 03 ^d	2. 54±0. 24 ^a	90. 18±2. 34 ^b
	洞·庭×碧·波 Dong·Ting×Bi·Bo	10. 98±0. 02 ^d	2. 07±0. 03 ^{abcd}	94. 28±2. 13 ^a
	7532·湘晖 7532×Xianghui	8. 24±0. 15 ^{ef}	1. 85±0. 05 ^{cde}	75. 41±0. 67 ^{ij}
H10	932·芙蓉 932×Furong	6. 06±0. 04 ^h	1. 97±0. 03 ^{bcde}	56. 23±1. 09 ^l
	932·芙蓉×7532·湘晖 932·Furong×7532·Xianghui	6. 34±0. 15 ^h	1. 09±0. 17 ^{hj}	78. 16±0. 73 ^{ghi}
	洞·庭×碧·波 Dong·Ting×Bi·Bo	6. 79±0. 14 ^h	1. 49±0. 02 ^{efgh}	83. 29±1. 59 ^{cde}
	7532·湘晖 7532×Xianghui	15. 36±0. 08 ^a	1. 13±0. 02 ^{ghj}	52. 07±0. 65 ^m
L2	932·芙蓉 932×Furong	14. 25±0. 04 ^b	2. 43±0. 15 ^{ab}	68. 16±0. 78 ^k
	932·芙蓉×7532·湘晖 932·Furong×7532·Xianghui	14. 30±0. 28 ^b	0. 85±0. 06 ^j	78. 43±2. 01 ^{fghi}
	洞·庭×碧·波 Dong·Ting×Bi·Bo	14. 57±0. 05 ^b	1. 58±0. 08 ^{defgh}	82. 22±1. 96 ^{de}
LP4	7532·湘晖 7532×Xianghui	8. 34±0. 12 ^{ef}	1. 92±0. 04 ^{cde}	73. 27±0. 11 ^j
	932·芙蓉 932×Furong	7. 81±0. 10 ^f	1. 85±0. 04 ^{cde}	66. 18±1. 75 ^k
	932·芙蓉×7532·湘晖 932·Furong×7532·Xianghui	8. 12±0. 20 ^f	1. 12±0. 15 ^{ghj}	75. 22±1. 93 ^{ij}
	洞·庭×碧·波 Dong·Ting×Bi·Bo	8. 31±0. 09 ^{ef}	1. 34±0. 16 ^{fghj}	80. 07±2. 36 ^{efgh}

菌株和家蚕品种直接影响到蛹虫草中3种活性成分的含量。不同菌株接种相同家蚕品种幼虫培育的蛹虫草样品间,其虫草素、腺苷和虫草多糖的含量存在显著差异($P < 0.05$)。虫草素质量比变幅为6.06~15.36 mg/g,含量从大到小依次为菌株L2、H0、LP4、H10接种培养的蛹虫草样品;腺苷质量比变幅为0.85~2.54 mg/g;虫草多糖质量比变幅为52.07~94.28 mg/g。4个家蚕品种幼虫接种相同菌株培育的蛹虫草中虫草素、腺苷和多糖含量差异也达显著水平($P < 0.05$)。接种菌株H0培育的蛹虫草中虫草素含量差异最大,质量比变幅为9.18~12.00 mg/g;接种菌株L2培育的蛹虫草中腺苷含量差异最大,质量比变幅为0.85~2.43 mg/g;接种菌株L2培育的蛹虫草中虫草多糖含量差异最大,质量比变幅为52.07~82.22 mg/g。上述结果表明:蛹虫草菌株对蛹虫草中3种活性成分含量的影响大于不同家蚕品种幼虫对蛹虫草中3种活性成分含量的影响。蛹虫草中虫草素含量最高(15.36 mg/g)的是菌株L2接种7532×湘晖幼虫的试验组;腺苷含量最高(2.54 mg/g)的是菌株H0接种932·芙蓉×7532·湘晖幼虫的试验组;虫草多糖含量最高(94.28 mg/g)的是菌株H0接种洞·庭×碧·波幼虫的试验组。

3 讨论

本试验结果显示:在相同覆土培育条件下,同一个家蚕品种的幼虫接种不同蛹虫草菌株后168 h的平均感染率变幅为69.17%~90.50%,接种菌株间的差异显著;不同家蚕品种幼虫用相同蛹虫草菌株接种120 h时,二元杂交组合的幼虫与四元杂交组合幼虫的感染率最大变幅为37.00%~65.67%,寄主家蚕品种间的差异显著,至接种168 h时,仅接种菌株H24的二元杂交组合幼虫与四元杂交组合幼虫间差异显著,感染率变幅为54.67%~83.33%,而接种相同蛹虫草菌株的2个二元杂交组合幼虫间、2个四元杂交组合幼虫间无显著差异。分析原因可能是所选四元杂交组合幼虫的抗感染能力显著高于二元杂交组合幼虫,在接种120 h之前,四元杂交组合幼虫抵抗蛹虫草菌感染的能力强于二元杂交组合幼虫,随着菌株适应性增强,不断繁殖占据优势,家蚕品种不同杂交组合间的差异消失。分析推断,蛹虫草菌株是影响覆土栽培蛹虫草的决定因素,这与

顾寅钰等^[26]的研究结论相同,即家蚕品种对菌株感染的抵抗能力只对感染速度起主要作用。出草培养管理后调查发现菌株H24发菌后未转色,可长出子实体,而菌株H7发菌后转为浅橘红色,未长出子实体,推测可能与这2株菌株的活性退化有关;菌株H10和菌株LP4的出草率最高,平均值分别为84.73%和88.70%。

对培养蛹虫草中的活性成分检测结果显示,接种菌株和寄主家蚕品种的组合直接影响到蛹虫草中活性成分的含量,并且菌株的影响大于家蚕品种,不同菌株间、不同家蚕品种间的差异也达到显著水平。不同菌株接种相同家蚕品种幼虫培育的蛹虫草中虫草素、腺苷和虫草多糖含量均达到显著差异;不同家蚕品种幼虫接种同一菌株培育的蛹虫草中虫草素、腺苷和虫草多糖的含量也存在显著差异。据此初步认为,蛹虫草菌株是影响覆土栽培蛹虫草产量和品质的决定因素,家蚕品种直接影响菌株感染速度,对培育蛹虫草中活性成分的含量也有一定影响。今后应进一步筛选培育出草稳定、活性成分含量高的优质蛹虫草菌株及选择适合的家蚕品种,全面系统评价蛹虫草活性成分的药用功效及研究活性成分产生机制,同时进一步改进完善规模化覆土栽培蛹虫草技术体系以提高产量和产品的药用品质。

参考文献 (References)

- [1] 张志军.人工培养蛹虫草(*Cordyceps militaris*) SY₁₂新型有效成分的研究[D].青岛:中国海洋大学,2007
- [2] 李军,陈广生,方清茂,等.人工培养蛹虫草与冬虫夏草的比较研究[J].成都中医药大学学报,2010,33(3):82-83
- [3] 刘桂君,周思静,杨素玲,等.蛹虫草中虫草素的研究进展[J].食品科学,2013,34(21):408-412
- [4] 中国医学科学院药物研究所.新华本草纲要[M].上海:上海科学技术出版社,1988:496-518
- [5] 冉先德.中华药海[M].哈尔滨:哈尔滨出版社,1993:2024-2025
- [6] 张平,朱述钧,钱大顺,等.北冬虫夏草功能成分及保健作用分析[J].江苏农业科学,2003,31(6):105-107
- [7] 徐廷万,王丽波,段文健,等.人工蛹虫草胞外多糖对受抑制的免疫功能的影响及抗疲劳作用[J].中药药理与临床,2002,18(6):17-18
- [8] 戴瑛,张斌,周勇,等.蛹虫草提取物对内毒素引起的小鼠急性肺损伤的保护作用[J].中国临床药理学与治疗学,2004,9(4):386-388
- [9] MÜLLER W E G, SEIBERT G, BEYER R, et al. Effect of cordycepin

- on nucleic acid metabolism in L5178Y cells and on nucleic acid-synthesizing enzyme systems[J].Cancer Res ,1977 ,37(10) : 3824-3833
- [10] EIICHI N K ,RONALD P M ,KEISUKE Y ,et al.Antileukemic activity and mechanism of action of cordycepin against terminal deoxynucleotidyl transferase-positive (TdT⁺) leukemic cells [J].Biochem Pharmacol ,2000 ,59(3) : 273-281
- [11] WONG S Y ,PARK E H.Anti-inflammatory and related pharmacological activities of cultured mycelia and fruiting bodies of *Cordyceps militaris* [J].J Ethnopharmacol ,2004 ,96(3) : 555-561
- [12] CHIOU W F ,CHANG P C ,CHEN C F.Protein constituent contributes to the hypotensive and vasorelaxant activities of *Cordyceps sinensis* [J].Life Sci ,2000 ,66(14) : 1369-1376
- [13] 施新琴,顾寅钰,李化秀,等.用不同家蚕品种 5 龄幼虫培育蚕蛹虫草中的 1-脱氧野尻霉素含量检测[J].蚕业科学 ,2017 ,43(6) : 987-990
- [14] 夏永亮.虫草素生物合成机理研究[D].上海: 中国科学院大学 ,2014
- [15] 樊慧婷,林洪生,李杰,等.人工蛹虫草子实体对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠 CD4⁺ CD25 调节性 T 细胞的影响[J].中华肿瘤防治杂志 ,2009 ,16(15) : 1130-1134
- [16] 刘桂君,周思静,杨素玲,等.蛹虫草中虫草素的研究进展[J].食品科学 ,2013 ,34(21) : 408-412
- [17] XIA Y L ,LUO F F ,SHANG Y F ,et al.Fungal cordycepin biosynthesis is coupled with the production of the safeguard molecule pentostatin[J].Cell Chem Biol ,2017(24) : 1479-1489
- [18] CUNNINGHAM K G ,MANSON W ,SPRING F S ,et al.Cordycepin ,a metabolic product isolated from cultures of *Cordyceps militaris* (Linn.) Link. [J].Nature ,1950 ,166(4231) : 949
- [19] 朱建华,杨晓泉.真菌多糖研究进展——结构、特性及制备方法[J].中国食品添加剂 ,2005(6) : 75-80
- [20] 钱余义,朱华旭,李博,等.人工蛹虫草研究进展及其深加工展望[C]//中国蚕学会.全国家(柞) 蚕资源高值化利用学术研讨会论文集.徐州: 中国蚕学会 ,2013: 10
- [21] 徐玉娟,廖森泰,肖更生,等.蚕桑功能食品研究与开发进展[J].中国食品学报 ,2006 ,6(1) : 417-420
- [22] 王蕾.蚕虫草的人工培育研究及有效成份分析[D].长沙: 湖南农业大学 ,2007
- [23] 施新琴,顾寅钰,李化秀,等.不同蛹虫草菌株栽培蚕蛹虫草的形态性状及活性成分含量比较[J].蚕业科学 ,2015 ,41(1) : 134-139
- [24] 顾寅钰,施新琴,李化秀,等.人工培育条件对蚕蛹虫草主要活性成分含量的影响[J].蚕业科学 ,2017 ,43(3) : 486-490
- [25] 夏敏.反相高效液相色谱法测定蛹虫草中虫草素的含量[J].淮阴工学院学报 ,2004 ,13(3) : 22-24
- [26] 顾寅钰,施新琴,李峰,等.北虫草菌种感染家蚕幼虫的研究[J].山东农业科学 ,2014 ,46(6) : 120-122