

灵芝三萜类化合物研究进展

李国华¹, 李 晔², 梅锡玲³, 兰 进³

1. 吉林工程职业学院 生物工程系, 吉林 四平 136001

2. 福建仙芝楼生物科技有限公司, 福建 福州 350002

3. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193

摘要: 灵芝 *Ganoderma lucidum* (Lesyss ex Fr.) Karst 在我国已有悠久的药用历史。灵芝化学成分种类丰富, 三萜酸是灵芝体内次生代谢产物, 同时也是其主要活性成分之一, 具有广泛的药理活性。简要介绍了近年来灵芝三萜类化合物的研究进展, 主要包括灵芝三萜种类、药理作用, 生物合成途径及影响灵芝三萜类化合物积累的因素。以期为今后的灵芝三萜类化合物的开发和利用提供参考。

关键词: 灵芝三萜; 药理作用; 生物合成; 积累; 影响因素

中图分类号: R284 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)12-1858-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.12.028

Study progress on triterpenoids in *Ganoderma lucidum*

LI Guo-hua¹, LI Ye², MEI Xi-ling³, LAN Jin³

1. Department of Biological Engineering, Jilin Engineering Vocational College, Siping 136001, China

2. Fujian Xianzhilou Biological Science & Technology Co., Ltd., Fuzhou 350002, China

3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

Abstract: The paper introduced the progress in study on triterpenoids in *Ganoderma lucidum* in recent years. The kinds of ganoderma triterpene, the pharmacological action, the biosynthesis pathway of ganoderma triterpene, and the influence factors of ganoderma triterpene accumulation were reviewed to provide the reference for the future development and utilization of ganoderma triterpene.

Key words: ganoderma triterpene; pharmacological effect; biosynthesis pathway; accumulation; influence factors

灵芝 *Ganoderma lucidum* (Lesyss ex Fr.) Karst 属真菌门担子菌亚门多孔菌目灵芝菌科灵芝属真菌, 素有“仙草”之美誉, 在我国已有悠久的药用历史。自 20 世纪 50 年代以来, 灵芝子实体已实现了人工栽培, 随着灵芝菌丝体深层发酵培养技术的发展, 灵芝的研究和开发日益广泛。灵芝化学成分比较丰富, 含有多糖、三萜、有机酸、可溶性蛋白质、氨基酸、生物碱、多肽、腺嘌呤、腺苷、尿嘧啶、尿苷及 D-甘露糖等。三萜酸是灵芝体内次生代谢产物, 同时也是其主要活性成分之一, 具有广泛药理活性, 日益引起人们的重视。为了对灵芝三萜类化合物开展进一步的研究, 本文对灵芝三萜类化合物研究进展进行简要概述。

1 灵芝三萜的种类

20 世纪 80 年代, 灵芝脂溶性成分的研究广泛而

深入, 1982 年首次从灵芝子实体干燥的表皮中分离出 2 个新的三萜类化合物灵芝酸 A 和灵芝酸 B, 到 1999 年, 被发现的三萜类化合物达 119 种, 根据结构特征可将这些三萜分为 10 组。目前为止有两百多种三萜类化合物从灵芝属真菌子实体、孢子粉、菌丝和培养基中被分离得到并进行了化学结构鉴定, 这些三萜类多数为高度氧化的羊毛甾烷型化合物。

灵芝三萜类化合物相对分子质量一般为 $4 \times 10^5 \sim 6 \times 10^5$, 结构较为复杂, 目前已知有 7 类母核和 14 种侧链类型, 母核上有多个不同取代基: 羧基、羟基、酮基、甲基、甲氧基、乙酰基等。灵芝三萜类根据碳原子数可分为 C₃₀、C₂₇ 和 C₂₄ 3 种; 依据所联接官能团和侧链结构不同, 可分为灵芝酸类、醇类、醛类、内酯类等几大类^[1]。

收稿日期: 2014-10-22

作者简介: 李国华, 吉林工程职业学院生物工程系副教授, 长期从事生物技术教学及科研工作。Tel: 13804378816 E-mail: 237353663@qq.com

2 灵芝三萜药理作用

灵芝三萜具有广泛药理活性, 如抗肿瘤、保肝排毒、抗 HIV 病毒、降低胆固醇等。

2.1 抗肿瘤作用

Kao 等^[2]对灵芝的抗肿瘤活性进行了研究, 灵芝三萜抗肿瘤作用机制与多糖有差别, 灵芝多糖抑制肿瘤是通过增强宿主免疫应答间接发挥作用, 三萜一般被认为是直接对癌细胞发挥细胞毒作用^[3]。多数研究表明灵芝三萜抑制肿瘤细胞增殖与阻抑细胞周期和诱导细胞凋亡相关^[4-5]。还有研究表明, 灵芝三萜抑制肿瘤细胞增殖和转移的活性与其能抑制肿瘤细胞血管再生有关^[6-7]。灵芝三萜类化合物复杂多样, 不同三萜化合物对肿瘤细胞作用不同。唐庆九等^[8]从灵芝子实体中分离纯化得到的中性三萜类化合物对多种肿瘤细胞株如小鼠淋巴瘤 L1210、人淋巴癌 K562、人肠癌 SW620、人乳腺癌 MCF7 有抑制活性, 且可诱导人肠癌 SW620 细胞凋亡; 酸性三萜类化合物在抑制肝癌和宫颈癌中作用明显, 如赤芝酸 A、N 和灵芝酸 E 能抑制人肝癌细胞 HepG₂ 增殖, 灵芝酸 F、K、B、D 能抑制人宫颈癌 HeLa 细胞增殖^[9], 灵芝酸 Mf、S 诱导线粒体介导的人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡^[10]。酸性三萜类化合物对 K562 抑制率较低。

2.2 保肝作用

陈洁等^[11]研究灵芝三萜对肝纤维化的保护作用, 灵芝三萜治疗组能够显著降低大鼠血清中丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST) 以及肝组织中转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) mRNA、基质金属蛋白酶-2 (MMP-2) 的表达, 病理切片显示灵芝三萜能够显著减轻大鼠肝纤维化的程度。王明宇等^[12]从灵芝子实体中分离到灵芝三萜 (GT, 主要含灵芝酸 A)。实验表明, GT 对四氯化碳、氨基半乳糖苷和卡介苗+脂多糖所致的 3 种肝损伤模型小鼠有较好的保肝作用, 可明显降低模型动物的血清 ALT 和肝脏三酰甘油 (TG) 的量, 并不同程度减轻动物肝损伤, 与阳性对照药马洛替酯 (malotilate) 作用相似。李鹏等^[13]研究发现灵芝三萜酸对小鼠急性肝损伤有保护作用。

2.3 抗 HIV-1 和 HIV-1 蛋白酶活性

彭珍华等^[14]对灵芝三萜类化合物抗 HIV 的各种机制, 及三萜结构及活性进行了总结, 指出灵芝三萜类化合物抗 HIV 活性主要是通过抑制 HIV 吸附或膜的融合、抑制 HIV-1 反转录酶、抑制 HIV-1

蛋白酶、抑制病毒成熟等途径。灵芝三萜化合物灵芝酸 A、灵芝酸 B、lucidumol B、ganodermanondiol、ganodermanontriol 有显著抑制 HIV-1 蛋白酶活性, IC₅₀ 为 20~90 μ mol/L^[15]。这一研究结果为寻找和研发新型抗 HIV 药物提供有益的启示。

2.4 免疫促进作用

研究发现灵芝酸能促进带 Lewis 肺癌的 Guinea 猪体内白细胞介素-2 (IL-2) 的量升高, 并提高 NK 细胞的免疫活性, 具有免疫促进功能, 灵芝三萜提取物能有效促进脾细胞产生 IL, 增加抗体细胞的产生, 促进免疫细胞增殖^[16]。

2.5 调血脂和降血糖作用

衣艳君等^[17]研究灵芝对大鼠血脂水平的影响时发现, 灵芝三萜可有效降低血清中 TG、胆固醇、低密度脂蛋白的量, 具有明显的调血脂作用。从灵芝中分离出的灵芝酸 B、C 在 C-7,15 连有氧基, 许多加氧的甾醇可抑制动物细胞中的甾醇合成。灵芝酸 B 和灵芝酸 B、C 的衍生物对由羊毛甾醇或 24,25-二羟基羊毛甾醇生物合成胆固醇有抑制作用。另外灵芝三萜类也有降低血糖的作用。研究证实灵芝三萜类物质中的灵芝酸 Z 和灵芝酸 S 可以抑制 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶的活性。

2.6 其他

另外, 灵芝三萜类化合物还有抗真菌、抗炎、益智和延缓衰老等作用^[18]。

3 灵芝三萜生物合成途径

三萜类化合物属于类异戊二烯, 是自然界一大类物质的总称。所有类异戊二烯, 都有共同的前体异戊二烯焦磷酸 (IPP)。灵芝三萜的合成是通过类异戊二烯合成途径进行的, 即由乙酰 CoA 通过经典的甲羟戊酸途径, 合成 IPP 和二甲基烯丙基焦磷酸, 以此为底物, 经过法尼基焦磷酸、鲨烯、鲨烯-2,3-氧化物和羊毛甾醇等中间体, 最后经过一系列氧化、环化反应形成。

随着研究的深入, 近年来多个编码灵芝三萜生物合成途径关键酶的基因被克隆和鉴定: 催化法尼基焦磷酸转化为鲨烯的鲨烯合酶基因 (SQS)^[19], 催化羟甲基戊二酰辅酶 A 生成的 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 合酶基因 (HMGS)^[20], 催化羟甲基戊二酰辅酶 A 转化为甲羟戊酸的 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶基因 (HMGR)^[21], 催化异戊烯基焦磷酸生成的甲羟戊酸焦磷酸脱羧酶基因 (MVD)^[22], 催化法尼基焦磷酸生成的法尼基焦磷

酸合酶基因 (FPS)^[23], 催化羊毛甾醇合成的羊毛甾醇合酶基因 (LS)^[24]。异戊二烯焦磷酸异构酶是催化 IPP 和二甲基烯丙基焦磷酸 (DMAPP) 之间的可逆反应的重要酶, 目前已被克隆^[19]。羊毛甾醇是灵芝三萜的骨架, 经历一系列氧化、还原、酰基化反应形成种类繁多的三萜, 其间的反应途径尚不清楚, 近期有研究者提出细胞色素 P450 (CYP450) 超家族的氧化催化功能在修饰羊毛甾醇骨架中有重要作用^[25]。

4 影响灵芝三萜类积累的因素

三萜是灵芝体内次生代谢产物, 次生代谢产物的产生和积累受到自身遗传和环境因素的调控^[26], 灵芝体内三萜的种类和量因不同发育时期、栽培环境、培养方式等而有所差异。

4.1 生长时期对灵芝三萜的影响

灵芝从菌丝体到子实体的生长发育过程, 其形态及生理生化、代谢等方面都发生了重大的转变, 灵芝三萜的代谢受发育进程的调控。付立忠等^[27]检测了灵芝子实体不同生长发育期多糖和总三萜量变化情况, 发现子实体总三萜量在现蕾期、芝盖形成期和成熟期较高, 衰老期显著降低, 这一结论与宝萍萍等^[28]的一致。徐江^[29]通过 HPLC 分析灵芝不同发育阶段三萜酸组成和量, 发现从菌丝体到原基期的转变过程中, 三萜酸量显著升高, 且用 Real-time PCR 分析了 197 个 CYP 基因的表达, 78 个 CYP 基因表达上调, 表达模式与 LS 的表达高度相关, 与三萜化合物的量呈正相关。Ren 等^[30]分析了灵芝菌丝、原基和子实体发育时期 10 个基因的转录水平, 也发现基因的差异表达与灵芝三萜酸量有直接的关系。余素萍等^[31]用 HPLC 法分析灵芝菌丝体发酵过程中三萜类成分变化情况, 发现三萜类成分在菌丝发酵后期才大量产生, 菌丝中三萜的种类与子实体相比相对较少。这些现象均说明灵芝三萜种类和量随自身生长发育发生改变, 生物合成途径相关酶基因的表达是其内部调控的一个重要因素。

4.2 培养条件对灵芝三萜的影响

Mayasaki 等^[32]提出灵芝三萜的种类和量与其生长状态有关, 认为野生灵芝子实体三萜的种类及量较高, 人工栽培次之, 发酵菌丝体较少。但是莫峥嵘等^[33]通过比较几种不同来源的灵芝发现栽培海南赤芝的总三萜酸量高于野生海南赤芝及栽培信州赤芝。说明灵芝子实体三萜的量与其特定的生长环境有一定关系, 不能一概而论。Fang 等^[34]提出 2

步法即先摇床培养后静置培养方式有利于提高菌丝体生物量及总三萜的量。Xu 等^[35]比较了摇床培养和静置培养灵芝菌丝产三萜酸的情况, 发现传统的液体振荡培养方式下总灵芝酸的量基本保持不变, 静置培养量为前者的 2~3 倍, 培养第 10 天达到最高, 并分析了 4 种单体三萜酸的变化规律。在培养基配方等培养条件方面, Tang 等^[36]比较了蔗糖、麦芽糖、乳糖和葡萄糖 4 种碳源对灵芝发酵过程中产灵芝多糖和灵芝三萜酸的影响, Xu 等^[37]对多种碳源和氮源进行比较, 筛选出了提高菌丝生物量和三萜酸量的组合。Fang 等^[38]研究发现初始 pH 值在 3.5~7.0 对菌丝的生长和代谢产物的生物合成有很大的影响。李娜等^[39]采用 4 因素 3 水平正交设计法研究液体培养条件下各因子 (碳源、氮源、无机盐、pH) 对灵芝三萜产量的影响及因子间的相互作用, 结果表明碳源作用最大。王立华等^[40]研究了光质对 PDA 培养基培养的灵芝菌丝体的影响, 发现蓝光利于菌丝体生长及多糖积累, 不同光质处理灵芝菌丝体总三萜积累及其组分差异有待进一步研究。余志坚等^[41]研究了 5 种中药水提液对灵芝菌丝体生物量及三萜量的影响, 发现中药水提液对菌丝生物量均有促进作用, 其中银杏水提液对灵芝菌丝体生物量和三萜量的促进作用均最明显。

4.3 诱发因子对灵芝三萜生物合成途径的调控

在某些因子诱导下关键基因的表达上调可以提高灵芝三萜的量, 近年来国内外研究者采用一些诱导剂对灵芝三萜生物合成进行诱导。高兴喜等^[42]采用 3 种食用菌病原真菌为激发子考察真菌激发子对灵芝生物量及活性成分积累的影响, 发现 3 种真菌激发子对灵芝生物量的积累都产生了积极的影响, 顶头孢激发子对灵芝多糖和灵芝三萜积累的诱导作用最好, 木素木霉激发子诱导作用次之, 蘑菇轮枝孢激发子作用最弱。真菌激发子对微生物体内特定次生代谢产物的影响及其作用机制还有待深入研究。

茉莉酸甲酯 (MeJA) 能够显著诱导灵芝总三萜量的增加及三萜生物合成途径中已知基因转录水平的提高。Ren 等^[43]使用 MeJA 对液体摇瓶培养的灵芝菌丝进行诱导, 发现诱导后的灵芝三萜酸产量比对照高 45.3%, 并使用定量 Real-time PCR 测定灵芝三萜酸生物合成途径多个基因的转录水平, 包括 HMGS、HMGR、MVD、FPS、SQS 及 LS。结果发现 MeJA 诱导后, 这些基因表达水平上调, 但不同浓度 MeJA 对各基因表达水平影响不同, 且同一浓

度 MeJA 在不同培养时间诱导基因转录水平变化也不一致, 在促进灵芝酸高产的最佳 MeJA 浓度处理下也不是所有的基因都表现出最高转录水平。表明各基因对灵芝三萜酸生物合成有不同的影响。Shi 等^[23]发现在灵芝 FPS 基因 5'端序列有 2 个潜在的 MeJA 响应元件, 说明 FPS 可能通过 MeJA 响应元件与茉莉酸的相互作用, 参与三萜酸合成途径的 MeJA 信号转导。Liang 等^[44]使用 phenobarbital (一种 P450 诱导剂) 对液体静置培养的灵芝进行诱导, 结果发现振荡培养后再静置培养, 施以 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 phenobarbital 可促进灵芝总三萜酸高产, 中间产物羊毛甾醇积累量下降, 同时三萜酸生物合成途径 3 个关键酶 HMGR、SQS 及 LS 基因转录水平上调。

5 展望

灵芝三萜类化合物生物合成下游途径尚不明确, 有研究者提出了可能参与羊毛甾醇修饰的基因家族, 可对这些候选基因过表达、沉默或敲除, 或者施以化学试剂或光等诱导因素, 并结合特定的三萜类产物, 逐步揭示下游合成途径关键基因。由于三萜类化合物种类繁多, 分离纯化较困难, 目前有许多研究者对灵芝醇提物进行药理活性筛选, 但多数药理研究停留于细胞活性筛选的体外试验, 动物药理实验有待进一步深入研究, 期待发现灵芝三萜类化合物新的药理作用, 以便开发灵芝新用途。

参考文献

[1] 徐锦堂. 中国药用真菌学 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1997.

[2] Kao C H J, Jesuthasan A C, Bishop K S, *et al.* Anti-cancer activities of *Ganoderma lucidum*: active ingredients and pathways [J]. *Funct Foods Health Dis*, 2013, 3(2): 48-65.

[3] Lin S B, Li C H, Lee S S, *et al.* Triterpene-enriched extracts from *Ganoderma lucidum* inhibit growth of hepatoma cells via suppressing protein kinase C, activating mitogen-activated protein kinases and G2-phase cell cycle arrest [J]. *Life Sci*, 2003, 72(21): 2381-2390.

[4] Li C H, Chen P Y, Chang U M, *et al.* Ganoderic acid X, a lanostanoid triterpene, inhibits topoisomerases and induces apoptosis of cancer cells [J]. *Life Sci*, 2005, 77(3): 252-265.

[5] Tang W, Liu J W, Zhao W M, *et al.* Ganoderic acid T from *Ganoderma lucidum* mycelia induces mitochondria mediated apoptosis in lung cancer cells [J]. *Life Sci*, 2006, 80(3): 205-211.

[6] Chen N H, Liu J W, Zhong J J. Ganoderic acid T inhibits

tumor invasion *in vitro* and *in vivo* through inhibition of MMP expression [J]. *Pharmacol Rep*, 2010, 62(2): 150-163.

- [7] Chen N H, Liu J W, Zhong J J. Ganoderic acid Me inhibits tumor invasion through down-regulating matrix metalloproteinases 2/9 gene expression [J]. *J Pharmacol Sci*, 2008, 108(3): 212-216.
- [8] 唐庆九, 季哲, 郝瑞霞, 等. 灵芝中性三萜类成分的抗肿瘤作用 [J]. 食用菌学报, 2010, 17(1): 60-64.
- [9] Yue Q X, Song X Y, Ma C, *et al.* Effects of triterpenes from *Ganoderma lucidum* on protein expression profile of HeLa cells [J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(9): 606-613.
- [10] Liu R M, Zhong J J. Ganoderic acid Mf and S induce mitochondria mediated apoptosis in human cervical carcinoma HeLa cells [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(5): 349-355.
- [11] 陈洁, 史杨娟, 罗琳, 等. 灵芝三萜对大鼠肝纤维化的保护作用及其机制研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(9): 694-697.
- [12] 王明宇, 车庆明. 灵芝三萜类化合物对 3 种小鼠肝损伤模型的影响 [J]. 药学学报, 2000, 35(5): 326-329.
- [13] 李鹏, 魏晓霞, 南婷婷, 等. 灵芝三萜酸对小鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(23): 1914-1918.
- [14] 彭珍华, 韩本勇, 赵声兰, 等. 三萜类化合物抗 HIV 研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21(5): 258-262.
- [15] Min B S, Nakamura N, Miyashiro H, *et al.* Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their inhibitory activity against HIV-1 protease [J]. *Chem Pharm Bull*, 1998, 46(10): 1607-1612.
- [16] 林志彬. 灵芝抗肿瘤活性和免疫调节作用的研究进展 [J]. 北京大学学报: 医学版, 2002, 34(5): 22-24.
- [17] 衣艳君, 徐承水. 灵芝降血脂作用的实验研究 [J]. 安徽师范大学学报: 自然科学版, 2001, 24(1): 52-53.
- [18] 张珥, 黄能慧, 张小毅, 等. 灵芝三萜类化合物对衰老模型小鼠学习记忆的作用 [J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2007, 27(8): 969-971.
- [19] 姚健. 灵芝异戊二烯焦磷酸异构酶基因的克隆及其表达特性的研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- [20] Zhao M W, Liang W Q, Zhang D B, *et al.* Cloning and characterization of squalene synthase (SQS) gene from *Ganoderma lucidum* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2007, 17(7): 1106-1112.
- [21] Ren A, Ouyang X, Shi L, *et al.* Molecular characterization and expression analysis of *GHMGS*, a gene encoding hydroxymethylglutaryl-CoA synthase from *Ganoderma lucidum* (Ling-zhi) in ganoderic acid

- biosynthesis pathway [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2013, 29(3): 523-531.
- [22] Shang C H, Zhu F, Li N, *et al.* Cloning and characterization of a gene encoding HMG-CoA reductase from *Ganoderma lucidum* and its functional identification in yeast [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2008, 72(5): 1333-1339.
- [23] Shi L, Qin L, Xu Y, *et al.* Molecular cloning, characterization, and function analysis of a mevalonate pyrophosphate decarboxylase gene from *Ganoderma lucidum* [J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(5): 6149-6159.
- [24] Shang C H, Shi L, Ren A, *et al.* Molecular cloning, characterization, and differential expression of a lanosterol synthase gene from *Ganoderma lucidum* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2010, 74(5): 974-978.
- [25] Chen S, Jiang X, Chang L, *et al.* Genome sequence of the model medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* [J]. *Nat Communicat*, 2012, 3(913): 1-9.
- [26] 王莉, 史玲玲, 张艳霞, 等. 植物次生代谢物途径及其研究进展 [J]. *武汉植物学研究*, 2007, 25(5): 500-508.
- [27] 付立忠, 吴学谦, 李明焱, 等. 灵芝不同生长发育期粗多糖和三萜含量变化规律 [J]. *食用菌学报*, 2008, 15(3): 47-50.
- [28] 宝萍萍, 图力古尔, 包海鹰. 栽培灵芝不同生长阶段多糖和三萜类化合物的含量测定 [J]. *菌物研究*, 2011(2): 110-113.
- [29] 徐江. 基于全基因组的灵芝药用模式真菌创建研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2013.
- [30] Ren A, Li M, Shi L, *et al.* Profiling and quantifying differential gene transcription provide insights into ganoderic acid biosynthesis in *Ganoderma lucidum* in response to methyl jasmonate [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): 1-12.
- [31] 余素萍, 张劲松, 唐庆九, 等. 不同发酵阶段的灵芝菌丝三萜类成分与抗肿瘤作用的相关性研究 [J]. *菌物学报*, 2004, 23(4): 548-554.
- [32] Koyama K, Imaizumi T, Akiba M, *et al.* Antinociceptive components of *Ganoderma lucidum* [J]. *Planta Med*, 1997, 63(3): 224-227.
- [33] 莫峥嵘, 陈光英, 兰云, 等. 海南栽培灵芝与野生灵芝的总三萜酸含量比较 [J]. *食品科技*, 2012, 37(3): 83-88.
- [34] Fang Q H, Zhong J J. Two-stage culture process for improved production of ganoderic acid by liquid fermentation of higher fungus *Ganoderma lucidum* [J]. *Biotechnol Prog*, 2002, 18(1): 51-54.
- [35] Xu J W, Xu Y N, Zhong J J. Production of individual ganoderic acids and expression of biosynthetic genes in liquid static and shaking cultures of *Ganoderma lucidum* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010, 85(4): 941-948.
- [36] Tang Y J, Zhong J J. Fed-batch fermentation of *Ganoderma lucidum* for hyperproduction of polysaccharide and ganoderic acid [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2002, 31(1): 20-28.
- [37] Xu P, Ding Z Y, Qian Z, *et al.* Improved production of mycelial biomass and ganoderic acid by submerged culture of *Ganoderma lucidum* SB97 using complex media [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2008, 42(4): 325-331.
- [38] Fang Q H, Zhong J J. Effect of initial pH on production of ganoderic acid and polysaccharide by submerged fermentation of *Ganoderma lucidum* [J]. *Process Biochem*, 2002, 37(7): 769-774.
- [39] 李娜. 环境因子对三萜含量影响的正交分析及羟甲基戊二酰辅酶A还原酶基因的克隆分析 [D]. 南京: 南京农业大学, 2006.
- [40] 王立华, 陈向东, 王秋颖, 等. LED光源的不同光质对灵芝菌丝体生长及抗氧化酶活性的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(18): 2471-2474.
- [41] 余志坚, 陈传红, 高凌飞, 等. 5种中草药水提取液对灵芝三萜含量的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2006, 17(9): 1645-1646.
- [42] 高兴喜, 姚强, 王磊, 等. 真菌激发子对灵芝液体发酵生产多糖和三萜类物质的影响 [J]. *食品科学*, 2009, 30(23): 309-313.
- [43] Ren A, Qin L, Shi L, *et al.* Methyl jasmonate induces ganoderic acid biosynthesis in the basidiomycetous fungus *Ganoderma lucidum* [J]. *Bioresour Technol*, 2010, 101(14): 6785-6790.
- [44] Liang C X, Li Y B, Xu J W, *et al.* Enhanced biosynthetic gene expressions and production of ganoderic acids in static liquid culture of *Ganoderma lucidum* under phenobarbital induction [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010, 86(5): 1367-1374.