

A Subacute Toxicity Study of *Cordyceps cicadae* Mycelium in High-Glucose Diet-Fed LY Pigs

Boyi Jhou¹, Juihsia Hsu¹, Shuhsing Yeh¹, Yaohorng Wang², Chinchu Chen^{1,3,4,5*}

¹Grape King Bio Ltd., Taoyuan City Taiwan

²Department of Nursing, Yuanpei University of Medical Technology, Hsinchu City Taiwan

³Institute of Food Science and Technology, National Taiwan University, Taipei City Taiwan

⁴Department of Food Science, Nutrition, and Nutraceutical Biotechnology, Shin Chien University, Taipei City Taiwan

⁵Department of Applied Science, National Hsin-Chu University of Education, Hsinchu City Taiwan

Email: *gkbioeng@grapeking.com.tw

Received: Apr. 10th, 2016; accepted: May 1st, 2016; published: May 5th, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Cordyceps cicadae (*C. cicadae*) is a valued traditional Chinese medicine. *C. cicadae* exhibits a variety of biological functions, including vision improvement and protection of renal function. Because of the shortage of wild *C. cicadae*, artificial cultivation is an ideal substitute. The present study was conducted to investigate the 28-day oral toxicity of *C. cicadae* in LY pig. The *C. cicadae* sample was collected from the mountains of New Taipei City and mass produced by submerged cultivation. Nine pigs were divided into three groups and were fed with 0, 20 or 40 g of freeze dried *C. cicadae* powder in combination with 60 g glucose for 28 consecutive days. Clinical observation of the pigs was carried out daily. The body weights of the pigs were recorded at the beginning and the end of the study. At the end of the study, all pigs were sacrificed and the blood and organs were collected for hematology, clinical biochemistry and histopathological examination. During the study period, no abnormality occurred in clinical signs and body weight. There was no significant difference in hematology and clinical biochemistry parameters between the treatment and control group. Necropsy and histopathological examination showed no treatment-related change.

Keywords

Cordyceps cicadae, Subacute Toxicity Study, High-Glucose Diet, LY Pigs, Safety Assessment

*通讯作者。

蝉花液态培养菌丝体对高葡萄糖膳食LY品系白猪之亚急性毒性探讨

周柏谊¹, 徐瑞霞¹, 叶淑幸¹, 王耀宏², 陈劲初^{1,3,4,5*}

¹葡萄王生技股份有限公司, 台湾 桃园

²元培医事科技大学护理系, 台湾 新竹

³国立台湾大学食品科技研究所, 台湾 台北

⁴实践大学食品营养与保健生技学系, 台湾 台北

⁵国立新竹教育大学应用科学系, 台湾 新竹

Email: *gkbioeng@grapeking.com.tw

收稿日期: 2016年4月10日; 录用日期: 2016年5月1日; 发布日期: 2016年5月5日

摘要

蝉花为名贵传统中药材, 具有保护眼睛、保护肾功能等多样生理功效, 其菌丝体及子实体可以人工培养方式大量生产。本篇研究以采集自台湾新北市山区的野生大蝉花作为菌种来源, 并以液态发酵方式培养蝉花菌丝体, 进行LY品系白猪28天重复剂量安全性评估试验。本实验设对照组(添加60克葡萄糖至每日猪只饲料中)及蝉花低、高两个剂量, 即添加20克或40克的蝉花及60克的葡萄糖至每日猪只饲料中。每个组别3只猪, 连续喂养28天, 每日进行实验动物之临床观察, 且于试验开始及结束时测量猪只体重。28天后取猪只血液进行血液学、生化学检查, 大体解剖观察有无明显病变并进行组织病理学检查。试验结果显示, 试验期间所有受试动物生长情况良好, 无明显临床症状差异发生, 血液学检查、生化学检查及组织病理学检查结果与对照组相比, 亦均无明显差异。

关键词

蝉花, 亚急性毒性, 高葡萄糖膳食, 猪, 安全性试验

1. 引言

蝉花(*Cordyceps cicadae*, *C. cicadae*)又名虫花、蝉草、胡蝉、蝉菌、蝉蛹草、金蝉花、蝉茸或蚕茸等, 为虫草属(*Cordyceps*)真菌寄生于蝉蛹或蝉科幼虫后形成的一种菌虫复合体, 真菌利用虫体的养分生长菌丝, 最终虫体被菌丝占据只剩躯壳, 再于蝉虫体头部形成花蕾状子座。蝉花可依不同的寄主及感染菌种分类为大蝉花(*Cordyceps cicadae*)、小蝉花(*Cordyceps sobolifera*)及蝉草或蝉生虫草(*Cordyceps cicadicola*)三种[1]。蝉花多分布于气温 18℃~24℃, 相对湿度大于 80%的热带与亚热带地区, 在中国多产于长江以南地区, 包括福建、浙江、四川、云南、江苏, 亦可见于日本、韩国、东南亚、及北美等地, 在台湾北部山区竹林亦有野生大蝉花子实体踪迹, 野生小蝉花则现踪于花莲瑞穗、光复、玉里之文旦园中。

蝉花为名贵传统中药材, 药用部位为其子座及寄主昆虫的尸体(菌核), 入药已有一千多年历史, 历史记载比冬虫夏草早了 800 年, 古籍中记载丰富, 南北朝刘宋时代雷斅所著之《雷公炮炙论》首次提到蝉花之名, 明朝李时珍所著之《本草纲目》记载蝉花具有有散风热、镇惊、明目、退翳障、透疹之功效, 主治小儿天吊、惊痫、心悸、夜啼。目前许多研究也发现, 野生或人工培养的蝉花具有治疗或缓解眼疾

[2]-[5]、调节免疫功能[6]、保护肾功能[7]-[9]、抗肿瘤[10]-[13]、降血糖[14]、镇痛解热[15]、抗辐射[16]以及抗疲劳[17]等多项生物活性。在临床使用上,已有许多蝉花复方可治疗眼疾的研究[2]-[5],蝉花在临床上亦被用来治疗肾病及肺炎咳嗽[18][19],但目前国内外关于蝉花与血糖恒定相关的研究相当稀少。

现代人由于生活富足,饮食习惯及生活作息改变,导致糖尿病的盛行率日益增高,在台湾,糖尿病的盛行率至今已突破 7.1%,2012 年时台东及花莲地区的糖尿病盛行率更高达 9.7%及 10.2% [20]。嗜吃饮料、甜食,以及生活工作忙碌致使没有时间运动,这些生活因子都可能使得血糖升高,甚至增加罹患糖尿病的几率。宋等人于 2007 年发表的研究成果中,发现蝉花药液可以显著降低由四氧嘧啶诱发糖尿病的小鼠的血糖,且呈剂量效应[14]。虽然蝉花关于血糖的研究不多,但仍可期待蝉花在血糖调节此生物活性之应用潜力。

虫草种类繁多,野外采集除了不易区分菌种类别,而容易误采或采集到腐败品之外,野生蝉花子实体也并不多,无法符合日益成长的市场需求。已有许多研究显示人工培养之蝉花子实体或液态发酵蝉花菌丝体的生物活性及主要活性物质均和野生蝉花相似,甚至超出野生蝉花[21]-[26]。目前蝉花子实体可人工培养[21],但其缺点包括耗费大量的人力、需至少一个月之培养期、采收时不易发现污染造成品管困难、产品中含有大量未耗尽的基质,且培养容器可能因高温灭菌而导致塑化剂溶出。相较而言,以液态发酵培养蝉花菌丝体是一种较安全且节能的方式,在 1%接种量下仅须三天即可发酵完成,制程皆在无菌环境中且能均匀取样控管质量,量产时再现性佳,因此液态发酵生产成为可行之替代方案。然而,以液态发酵方式培养菌丝体可能因培养方法不同而产生不同产物或代谢物,因此必须进行安全性试验。

液态发酵蝉花菌丝体经 28 天及 90 天大鼠喂食毒性试验[27]、基因毒性试验[28]及致畸试验(投稿中)等安全性评估,均未观察到任何毒性症状,证实液态发酵蝉花菌丝体具有很高的食用安全性。猪只为杂食性动物,器官构造及生理代谢与人体较为接近,至今为止,国内外尚未有猪只的蝉花喂食安全性试验,因此本篇研究以台湾山区采集之野生大蝉花为菌种来源,再以液态发酵方式培养大蝉花菌丝体为样品,进行 LY 品系白猪之 28 天喂食毒性试验,探讨蝉花液态发酵产物添加于猪只饲料对其亚急性毒性及其行为表现之影响,以做为日后产品开发供人体食用安全剂量之参考依据,并且评估长期食用蝉花对于血糖调节的影响。

2. 材料与方法

2.1. 供试菌种

大蝉花(*Cordyceps cicadae*, *C. cicadae*)为暮春时采集于新北市三峡满月圆山区之野生大蝉花,包含虫体子座及其子实体。将其虫体子座切开分离其菌丝体,并接种培养于马铃薯葡萄糖洋菜培养基(potato dextrose agar, PDA),于 25℃恒温培养,每月于无菌操作台进行继代培养,并密封保存。

2.2. 蝉花菌丝体液体发酵条件

取马铃薯葡萄糖洋菜平板培养基上菌丝体接种于内含 1 L 培养基(2%葡萄糖、1%酵母萃出物、1%黄豆粉、pH 6.0)的 2 L 烧瓶中,以转速 120 rpm 于 25℃培养三天,至发酵液呈亮紫色,再将此培养出之菌丝体发酵液接种至 500 L 内含 400 L 相同培养基发酵槽中,于 25℃培养三天后,再接种到 50 吨发酵槽中(含 40 吨相同培养基),于 25℃培养三天后加热至 100℃三小时,萃出其多糖,再收取其菌丝体发酵液,于 55℃减压浓缩,经冷冻干燥及磨粉后,保存于 4℃备用。

2.3. 动物饲养

本篇试验使用 10 周龄 LY 品系去势雄性白猪,待动物适应后选出体重约 30 公斤的健康猪 9 只进行

28 天喂养试验。猪只饲料为大成长城企业有限公司的猪只饲料 NO.802, 在实验期间饮水自由供给, 饲料采限制摄食, 每只猪只每天给予 800 克饲料。

2.4. LY 品系白猪 28 天喂养试验方法

将动物随机分为三组, 每组 3 只, 分别做为对照组、蝉花低剂量组及蝉花高剂量组。对照组每天给予添加 60 克葡萄糖之猪只饲料, 蝉花低、高剂量组分别给予添加 20 克或 40 克蝉花液态发酵液冻干粉及 60 克葡萄糖之猪只饲料。根据先前试验结果, 大蝉花菌丝体发酵液冻干粉对 90 天大鼠喂食毒性之无毒性显示剂量(No-Observed-Adverse-Effect Level, NOAEL)为大于 2000 mg/kg/day, 此剂量为人类建议摄取量(每日 1050 mg/60 kg)之 114.3 倍[27]。本试验所选用的剂量参考先前试验结果, 大蝉花菌丝体发酵液冻干粉的剂量为人体建议摄取量之 38 倍及 76 倍。

开始喂饲之后, 每天观察动物的一般状态、中毒症状和死亡情况, 并于试验开始前及第 29 时量测猪只体重。连续喂养 28 天后, 经隔夜禁食, 第 29 天时进行空腹麻醉并以血压计量测纪录动脉压, 观察猪只生理状态, 之后经心脏进行血液采样以进行血液学分析, 将血液样本置于 4℃ 离心 1500 xg、10 分钟, 取得血清后, 作血液生化值分析。本试验也针对死亡动物及到期处死动物进行大体解剖, 肉眼观察有无明显病变, 并取肝、肾等脏器进行组织病理学检查。实验全过程及观察内容均做详细记录。

2.5. 统计学处理

实验结果分析采用 SPSS 软件进行 one-way ANOVA 检定, 分析动物体重、血液学及生化学分析各组别间资料差异性, 并以 P 值小于 0.05 作为统计差异水平。

3. 结果

3.1. 急性毒性试验结果

在试验期间的各组猪只的临床活动表现皆正常, 未观察到动物异常表现, 也没有观察到任何中毒症状和死亡。各实验组猪只体重皆正常增加, 生长良好, 在体重变化方面与对照组相比, 均无显著差异(表 1)。

3.2. 血液学结果

各实验组与对照组猪只的白血球、红血球、血红蛋白及血球容积比检查结果与对照组相比, 均无显著差异, 蝉花高剂量组的血小板数值与控制组相比虽然较低($P < 0.05$), 但仍在正常生理范围内(表 2)。

3.3. 生化学检查

由表 3 得知, 各实验组与对照组猪只的尿素氮(blood urea nitrogen)、肌酸酐(creatinine)、天门冬胺酸转胺酶(aspartate aminotransferase)、丙胺酸转胺酶(alanine transaminase)及胆固醇等生化检查结果并没有显著差异。各组间之血糖虽无统计上的显著差异, 但喂食蝉花的组别血糖皆较对照组来的低。

3.4. 病理学检查

本次实验动物脏器检查结果包括肾脏及肝脏的病理大体检查及显微镜检查, 结果均未发现异常(图 1、图 2)。

4. 讨论

蝉花自中国魏晋南北朝以来即有实用的纪录, 实见天然蝉花子实体毒性低。然蝉花菌丝体发酵液的

Table 1. Body weight of pigs at the beginning and the end of the study**表 1.** 28 天安全性试验中 LY 品系白猪之体重变化

Recording time	Body weight (kg) ^a		
	Glucose 60 g	<i>Cordyceps cicadae</i> 20 g + Glucose 60 g	<i>Cordyceps cicadae</i> 40 g + Glucose 60 g
Before study	31.50 ± 0.50	29.50 ± 1.50	31.00 ± 1.00
At the end of the study	34.17 ± 1.04	35.33 ± 3.51	37.83 ± 1.26

^aData expressed as mean ± S.D., n = 3.^{*}Significant different from control group ($p < 0.05$).**Table 2.** Hematology of pigs after 28 days of *C. cicadae* mycelium administration**表 2.** 28 天安全性试验中 LY 品系白猪之血液学检查

Items	Hematology ^a		
	Glucose 60 g	<i>Cordyceps cicadae</i> 20 g + Glucose 60 g	<i>Cordyceps cicadae</i> 40 g + Glucose 60 g
WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	19.36 ± 3.33	18.28 ± 3.18	19.45 ± 4.52
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	5.82 ± 0.50	5.46 ± 0.42	5.61 ± 0.31
Hemoglobin (g/dl)	9.2 ± 1.1	9.1 ± 0.9	8.7 ± 0.1
Hematocrit (fl)	33.8 ± 2.6	33.9 ± 3.0	31.7 ± 1.4
Platelet ($10^3/\mu\text{L}$)	288 ± 40	300 ± 32	151 ± 80 [*]

^aData expressed as mean ± S.D., n = 3.^{*}Significant different from control group ($p < 0.05$).Normal range of Platelet: 145.4 ~ 315.2 × $10^3/\mu\text{L}$.**Table 3.** Clinical chemistry of pigs after 28 days of *C. cicadae* mycelium administration**表 3.** 28 天安全性试验中 LY 品系白猪之生化学检查

Items	Clinical chemistry ^a		
	Glucose 60 g	<i>Cordyceps cicadae</i> 20 g + Glucose 60 g	<i>Cordyceps cicadae</i> 40 g + Glucose 60 g
Glucose (mg/dL)	141 ± 69	92 ± 24	107 ± 4
BUN (mg/dL)	8 ± 2	9 ± 3	10 ± 3
Creatinine (mg/dL)	1.5 ± 0.4	1.8 ± 0.2	1.6 ± 0.1
AST (U/L)	37 ± 6	36 ± 11	46 ± 13
ALT (U/L)	45 ± 4	61 ± 10	53 ± 28

^aData expressed as mean ± S.D., n = 3.^{*}Significant different from control group ($p < 0.05$).

安全性文献并不多，且不同的发酵培养方式会使成分略有差异，因此需评估其安全性。本试验探讨蝉花液态培养菌丝体之食用安全性，在 28 天喂养试验方面，根据本实验动物饲料摄入状况，所使用之蝉花剂量为 0.57~0.68 g/kg BW/day 及 1.06~1.29 g/kg BW/day。实验动物在试验结束后全数存活并生长情况良好，血液学检查、生化学检查及组织病理学检查结果与对照组相比，均无明显差异。陈等[26]在蝉花液态培养菌丝体 90 天大鼠喂养试验中，以胃管连续喂食不同剂量之蝉花菌丝冻干品(500, 1000, 2000 mg/kg BW/day 及对照组)，结果发现连续喂食 90 天后，均不造成与蝉花液态培养菌丝体有关大鼠死亡，而且大鼠体重可持续成长，尸体解剖亦无病变，血清生化学之变化与对照组并无差异性。徐等[27]在蝉花液态培养菌丝体基因毒性评估中，进行沙门氏杆菌回复突变测试(最高剂量 5 mg/plate)、体外哺乳类细胞染色体结构异常试验(最高剂量 5 mg/mL)及生体内哺乳类动物细胞微核测试(最高剂量 5000 mg/kg BW)三项基因毒性试

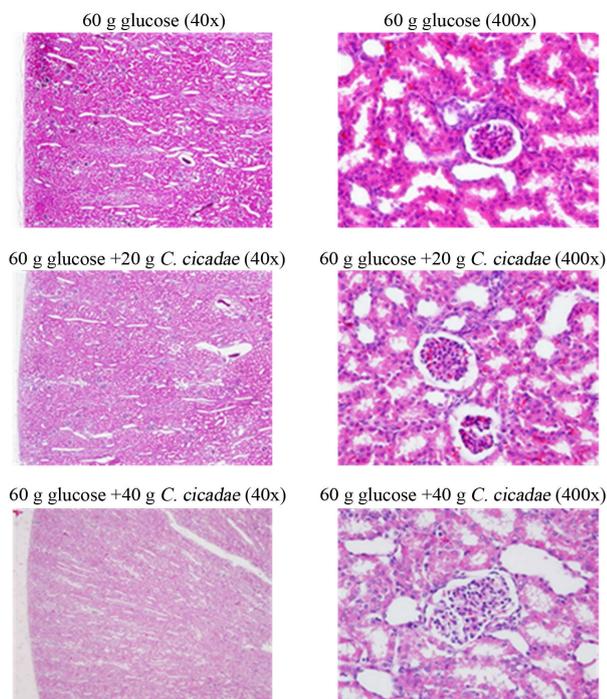


Figure 1. Histopathological findings of kidney in LY pigs after 28 days of *Cordyceps cicadae* administration
图 1. 28 天安全性试验中 LY 品系白猪之肾脏的病理学检查

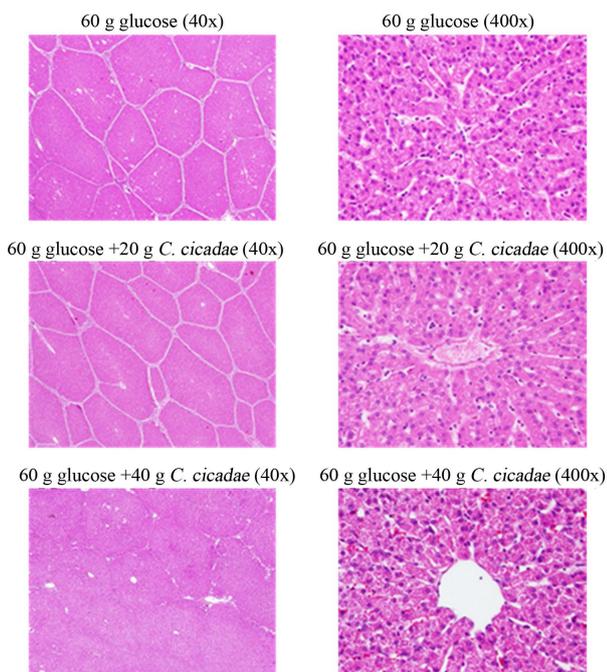


Figure 2. Histopathological findings of liver in LY pigs after 28 days of *Cordyceps cicadae* administration
图 2. 28 天安全性试验中 LY 品系白猪之肝脏的病理学检查

验，证实大蝉花菌丝体发酵液冻干粉不具有基因毒性。本试验之蝉花发酵全液冻干粉之喂饲方式采添加于饲料中限制摄食，与上述两篇陈及徐等发表的文献有所不同，但喂食猪只 28 天后也未造成任何中毒现

象,且无任何不良副作用,与前者结果相符,可作为日后蝉花发酵菌丝体之食用安全性参考依据。

由血液生化学检查的结果,我们发现长期食用高葡萄糖膳食的猪只,在喂食蝉花液态培养菌丝体后血糖数值都较对照组来的低,但并没有统计上的显著差异,可能是因为血糖测定的方法不够精确,或是猪只的进食时间及活动量的不同,使得对照组猪只的血糖标准偏差过大而导致。虽然此次的结果无法证实蝉花与血糖调节之间是否有相关性,但未来仍可再针对此部分进行更进一步的研究。

蝉花经 50 吨发酵槽液态发酵生产蝉花菌丝体,可得到 260 公斤的菌丝体发酵液冻干粉。在大蝉花菌丝体粗成分分析中,含 25.38%粗蛋白、8.32%粗纤维、7.72%粗脂肪、4.87%灰分、8.92%水分[29];在重金属检测中,蝉花菌丝体发酵液中其砷、铅、汞、镉含量皆低于天然蝉花[29],可能因为植物吸收土壤养分,蝉吸食植物汁液,使野生蝉花之重金属含量较液态发酵培养菌丝体高。环境中的土质、水源皆会影响野生蝉花之重金属含量,使得质量不易掌控,而液态培养之菌丝体与野生蝉花的成分相似,且菌种来源稳定,不易污染,生产周期短,更可提高产能及确保有效成分的再现性。

综合各项研究结果,蝉花液态培养菌丝体对 28 天高葡萄糖膳食 LY 品系白猪之亚急性毒性试验,未见任何动物中毒情形,体重变化、血液学检查、生化学检查及组织病理学检查皆未发现异常或病变,证实蝉花液态培养菌丝体不具有亚急性毒性的疑虑,此数据可提供日后蝉花液态培养菌丝体之食用安全性参考依据。

参考文献 (References)

- [1] 陈劲初. 南方虫草之后蝉花[M]. 初版. 台北: 元气斋出版社有限公司, 2012: 22-46.
- [2] 田开伟. 蝉花无比散治外障眼疾[J]. 四川中医, 1986(12): 36-37.
- [3] 彭广华, 张黎. 中药生液散和蝉花五味散配合西药治疗外伤性低眼压[J]. 中西医结合眼科杂志, 1994(3): 173-174.
- [4] 王洪泉, 赵展, 张莉. 自拟蝉花汤治疗单纯疱疹性角膜炎 50 例[J]. 中医药信息, 2001(4): 35.
- [5] 徐大梅. 万应蝉花散治疗春季结膜炎 100 例临床观察[J]. 中国中医眼科杂志, 2010(20): 172-173.
- [6] Weng, S.C., Chou, C.J., Lin, L.C., et al. (2001) Immunomodulatory Functions of Extracts from the Chinese Medicinal Fungus *Cordyceps cicadae*. *Journal of Ethnopharmacology*, **83**, 79-85.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00212-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00212-X)
- [7] 彭秀秀, 柴一秋, 朱碧纯, 等. 蝉花虫草提取物 N6-(2-羟乙基)腺苷对小鼠肾脏缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 菌物学报, 2015(34): 311-320.
- [8] 刘玉宁, 陈以平, 王立红, 等. 蝉花菌丝抗大鼠肾小管间质纤维化的实验研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2011(12): 243-245.
- [9] Zhu, R., Chen, Y.P., Deng, Y.Y., et al. (2011) *Cordyceps cicadae* Extracts Ameliorate Renal Malfunction in a Remnant Kidney Model. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)*, **12**, 1024-1033.
<http://dx.doi.org/10.1631/jzus.B1100034>
- [10] 陈安徽, 邵颖, 李继武, 等. 人工培育蝉花抗肿瘤活性研究[J]. 食品科学, 2014. (网络出版).
- [11] 蔡菊芬, 姜志明, 卢红阳, 等. 蝉拟青霉不同纯化组分对体外抗肿瘤作用的基础研究[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(4): 760-763.
- [12] 陈柏坤, 杨介钻, 卓佳, 等. 蝉拟青霉多糖对人外周血单个核细胞及白血病细胞株 U937、K562 增殖的调节作用[J]. 温州医学院学报, 2006, 36(4): 341-344.
- [13] 芦柏震, 姜志明, 牟瀚舟, 等. 蝉花粗提物对肺癌细胞作用的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2006, 13(5): 328-329.
- [14] 宋捷民, 忻家础, 朱英. 蝉花对小鼠血糖及造血功能影响[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(6): 1144-1145.
- [15] 王海颖, 陈以平. 陈以平教授巧用蝉花经验[J]. 中国中医药信息杂志, 2000, 7(10): 71.
- [16] 陈万群, 陈古荣. 冬虫夏草代用品研究进展[J]. 中草药, 1994, 25(5): 269-271.
- [17] 王砚, 赵小京, 唐法娣. 蝉花药理作用的初步探讨[J]. 浙江中医杂志, 2001, 36(5): 219-220.

- [18] 金周慧, 陈以平. 蝉花汤延缓慢性肾功能衰竭进展的临床观察[J]. 中医药学刊, 2006, 24(8): 1457-1459.
- [19] 叶颖, 吴锡添. 蝉花二陈汤治疗小儿支气管肺炎 43 例疗效观察[J]. 基层医学论坛, 2007, 11(11): 533-534.
- [20] 卫生福利部国民健康署. 健康行为危险因子监测系统[Z]. 台湾: 卫生福利部国民健康署, 2014.
- [21] 胡海燕, 邹晓, 罗力, 等. 传统中药蝉花的活体家蚕人工培养[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(17): 2140-2143.
- [22] 刘广玉, 胡菽英. 天然蝉花与人工培养品的镇静镇痛作用的比较[J]. 现代应用药学, 1991, 8(2): 5-8.
- [23] 刘森琴, 温鲁, 夏敏, 等. 人工培育蝉花的活性成分含量测定[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(2): 429.
- [24] 温鲁, 唐玉玲, 张平. 蝉花与有关虫草活性成分检测比较[J]. 江苏中草药, 2006, 27(1): 45-46.
- [25] 葛飞, 夏成润, 李春如, 等. 蝉拟青霉菌丝体与天然蝉花中化学成分的比较分析[J]. 菌物学报, 2007, 26(1): 68-75.
- [26] 陈祝安, 刘广玉, 胡菽英. 蝉花的人工培养及其药理作用研究[J]. 真菌学报, 1993, 12(2): 138-144.
- [27] Chen, Y.L., Yeh, S.H., Lin, T.W., *et al.* (2015) A 90-Day Subchronic Toxicity Study of Submerged Mycelial Culture of *Cordyceps cicadae* (Ascomycetes) in Rats. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, **17**, 771-781. <http://dx.doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v17.i8.70>
- [28] 徐瑞霞, 叶淑幸, 黄维茜, 等. 大蝉花菌种分离、鉴定及其液态培养菌丝体之基因毒性评估[J]. 检验及品保杂志, 2015(4): 114-127.
- [29] 葛非, 夏成润, 李春如, 等. 蝉拟青霉菌丝体与天然蝉花中化学成分的比较分析[J]. 菌物学报, 2007, 26(1): 68-75.