

## 竹林中虫草及其相关真菌的研究

张晓瑶, 曹玉朋, 张磊, 李春如\*

(安徽农业大学微生物防治省重点实验室, 合肥 230036)

**摘要:** 对安徽省3个不同地区竹林样地的虫草及虫生真菌进行了野外采集和调查, 发现安徽省竹林中分布的虫草分别为多座线虫草(小蝉草) *Ophiocordyceps sobolifera*、大蝉草 *Cordyceps cicadae*、拟细线虫草 *O. gracilioides*、一种线虫草 *O. sp.*; 主要虫生真菌分别为蝉棒束孢 *Isaria cicadae*、细脚棒束孢 *I. tenuipes*、球孢白僵菌 *Beauveria bassiana*、布氏白僵菌 *B. brongniartii*、柱孢绿僵菌 *Metarhizium cylindrospora*。其中蝉棒束孢最多, 在3个地区竹林中均占60%以上。竹林中主要寄主为蝉若虫, 在3个地区竹林中均占80%以上。并且对竹林中蝉棒束孢的发生规律和发生周期进行了研究。

**关键词:** 竹林; 虫草; 虫生真菌; 蝉棒束孢

**中图分类号:** Q949.32

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1672-352X(2013)05-0823-05

### Study on *Ophiocordyceps* species and its allies from bamboo forest

ZHANG Xiao-yao, CAO Yu-peng, ZHANG Lei, LI Chun-ru

(Anhui Provincial Key Laboratory of Microbial Control, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

**Abstract:** The investigation on *Ophiocordyceps* and its allies in three different bamboo forests from Anhui province were studied. The result showed that there were four species of *Ophiocordyceps* and five species of entomogenous fungi as follows, *Ophiocordyceps sobolifera* Hill ex Watson, *O. gracilioides* Kobayasi, *Cordyceps cicadae* Shing, *O. sp.*, *Isaria cicadae* Miq., *I. tenuipes* Peck., *Beauveria bassiana* Balsamo, *B. brongniartii* Sacc., *Metarhizium cylindrospora* Q. T. Chen & H. L. Guo. *I. cicadae*, of which, the most dominant species, comprised more than 60% in each bamboo forest. The main host was nymph of cicadidae with more than 80% of frequency in all sample plots. Meanwhile the occurrence rules and cycle of *I. cicadae* was explored.

**Key words:** bamboo forest; *Ophiocordyceps*; entomogenous fungi; *Isaria cicadae*

传统中草药蝉花主要产于竹林, 且国外发现昆虫病原真菌中寄主是蝉的种类并不少见, 如长座线虫草 *Ophiocordyceps longissima* Kobayasi, 异足线虫草 *O. heteropoda* Kobayasi, 屋久岛线虫草 *O. yakusimeensis* Kobayasi 等<sup>[1]</sup>。蝉花含有多糖、虫草酸、多种必需氨基酸、D-甘露醇、多种生物碱、麦角甾醇等有效成分<sup>[2-4]</sup>, 根据现代药理研究, 蝉花具有改善肾功能, 延缓肾小球硬化和间质纤维化的作用, 通过动物实验, 运用蝉花菌丝治疗慢性肾衰竭大鼠发现, 蝉花菌丝能明显改善大鼠的肾功能<sup>[5-6]</sup>。目前, 由于蝉花及其相关真菌的关系混乱, 且国内

学者对竹林内的虫生真菌的研究较少或不够重视。安徽省处于长江、淮河下游, 地跨暖温带和亚热带的落叶阔叶林、落叶阔叶与常绿阔叶混交林、常绿阔叶林带, 竹林资源较为丰富。因此, 对于安徽省竹林中虫草及其相关真菌种类的研究不仅具有重要理论意义, 还对实际生产有指导作用。

作者在安徽省的竹林中选取了3个典型的样地, 对这3个地区的竹林分别进行了野外采集和调查研究, 以期了解竹林中虫草及虫生真菌资源情况。

收稿日期: 2013-03-26

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(863计划)(No. 2007AA021506)和教育部留学回国人员科研启动资金(2009)共同资助。

作者简介: 张晓瑶, 女, 硕士研究生。E-mail: veraxyz@sina.com

\* 通信作者: 李春如, 男, 博士, 教授。E-mail: chunruli@hotmail.com

## 1 材料与方法

### 1.1 标本采集

3个样地分别为牯牛降国家地质公园,位于安徽省祁门县境内,在其中选取了一片竹林为东北西南走向(30°00'N, 117°50'E),坡度约为20~40°,面积约为20 000 m<sup>2</sup>(400 m×50 m),海拔约为420 m;霍山佛子岭水库,在水库西侧选取了一片东西走向(31°20'E, 116°15'N),坡度约为30~50°,面积约为60 000 m<sup>2</sup>(300 m×200 m),海拔约为260 m的竹林;滁州琅琊山林场,选取了琅琊山林场附近,为一片毛竹与榆树,杨树混生的混杂林(32°25'E, 118°29'N),地势较为平坦,面积约为60 000 m<sup>2</sup>(300 m×200 m),海拔约为110 m。

在2012年6~9月间的不同时节分别到所选择样地竹林中,按照虫生真菌的生长习性选择环境湿度相对较大的地方采集。野外采集到的虫草及其相关真菌放入潮湿的苔藓中放入标本盒内进行保鲜,可以达到防止子座干燥致死和折断的目的<sup>[7]</sup>,僵虫放入干净的火柴盒内。

### 1.2 方法

**1.2.1 菌种分离纯化** 子囊孢子弹射分离无性型菌株参照梁宗琦的方法<sup>[8]</sup>或虫尸体表分生孢子划线分离。将弹射在载玻片上的子囊孢子或分生孢子转接到含抗生素的PDA培养基上划线培养。纯化后接入试管保藏。

组织分离法。在超净工作台上进行。选用成熟的、完整的虫草,表面用清水洗净,再用70%酒精浸泡1 min左右,然后用无菌水冲洗2~3次。最后

用无菌手术刀切开子座顶端部分或虫体,用镊子夹取少量组织块0.2~0.4 cm,接种于加有适量的青霉素和硫酸链霉素的PDA培养基上,置于25℃培养箱培养。若各组织块培养后无污染,且皆长出同一无性阶段真菌,同时经分子测序比对后一致,可视为组织分离成功,转入试管保存。

**1.2.2 形态学鉴定** 有性型鉴定:采用宏观特征与微观结构相结合的方法。宏观特征主要依据野外采集记录,照片,对虫体和子座的测量。显微观察时采用乳酸酚溶液作为浮载液观察子囊壳,子囊及子囊孢子(或次生子囊孢子),使用目镜测微尺在Olympus相差或微分干涉显微镜下测量各种形态的大小并拍照。

无性型鉴定:将分离纯化得到的虫草无性型菌株分别点接到PDA、察氏、SDAY培养基上,25℃恒温培养培养14 d,观察并记录菌落大小及形态。再使用OLYMPUS BX 50高级生物显微镜对菌株的微观形态包括孢子大小形态,产孢结构及大小等进行观测。

## 2 结果与分析

### 2.1 牯牛降国家地质公园竹林中虫生真菌种类

通过对牯牛降国家地质公园竹林中的虫草及其相关真菌资源的野外调查,在此地区一共采集到标本217个(见表1)。鉴定出的种类分别为大蝉草 *Cordyceps cicadae*、一种线虫草 *O. sp.*、蝉棒束孢 *Isaria cicadae*、细脚棒束孢 *I. tenuipes*、球孢白僵菌 *Beauveria bassiana*、布氏白僵菌 *B. brongniartii*。所有标本均保存在安徽农业大学虫生真菌研究中心。

表1 牯牛降国家地质公园竹林中虫草及相关真菌标本统计  
Table 1 *Ophiocordyceps* and its allies in bamboo forest of Guniujiang National Geopark

菌名 Species	寄主 Host	个数 Amount	占总数% Percentage
大蝉草 <i>Cordyceps cicadae</i>	蝉若虫 Nymph of Cicadidae	10	4.6
蝉棒束孢 <i>Isaria cicadae</i>	蝉若虫 Nymph of Cicadidae	195	89.9
细脚棒束孢 <i>I. tenuipes</i>	鳞翅目茧 Cocoon of Lepidoptera	2	0.9
球孢白僵菌 <i>Beauveria bassiana</i>	鳞翅目幼虫 Larva of Lepidoptera	1	0.5
	蝗虫 Locust	2	0.9
	蚁类 Ants	2	0.9
布氏白僵菌 <i>B. brongniartii</i>	鞘翅目 Coleoptera	1	0.5
一种线虫草 <i>O. sp.</i>	蝉若虫 Nymph of Cicadidae	4	1.8

表2 佛子岭地区竹林中虫生真菌标本统计  
Table 2 The entomogenous fungi in bamboo forest of Foziling

菌名 Species	寄主 Host	个数 Amount	占总数% Percentage
蝉棒束孢 <i>Isaria cicadae</i>	蝉若虫 Nymph of Cicadidae	19	90.4
球孢白僵菌 <i>Beauveria bassiana</i>	鳞翅目幼虫 Larva of Lepidoptera	1	4.8
布氏白僵菌 <i>B. brongniartii</i>	鞘翅目 Coleoptera	1	4.8

从表 1 可以看出, 蝉棒束孢为牯牛降国家地质公园竹林中的优势种, 占总数的 89.9%。在所采集的标本中可以看出在牯牛降竹林中主要寄主为蝉若虫, 占总数的 96.3%。

## 2.2 霍山佛子岭地区竹林中虫生真菌种类

通过对佛子岭水库西侧竹林中虫草及其相关真菌的野外调查, 在此地区一共采集到标本 21 个(见表 2)。鉴定出的种类分别为蝉棒束孢 *Isaria cicadae*、球孢白僵菌 *Beauveria bassiana*、布氏白僵菌 *B. brongniartii*。

从表 2 可以看出, 蝉棒束孢为霍山佛子岭地区竹林中的优势种, 占总数的 90.4%。

## 2.3 滁州琅琊山林场竹林中虫生真菌种类

通过对琅琊山林场周围竹林与榆杨树的混杂林中虫草及其相关真菌的野外调查, 在此地区一共采集到标本 22 个(见表 3)。鉴定出的种类分别为多座线虫草(小蝉草) *Ophiocordyceps sobolifera*、拟细线虫草 *O. gracilioides*、蝉棒束孢 *Isaria cicadae*、细脚棒束孢 *I. tenuipes*、球孢白僵菌 *Beauveria bassiana*、柱孢绿僵菌 *Metarhizium cylindrospora*。

表 3 琅琊山竹林中虫草及其相关真菌标本统计  
Table 3 *Ophiocordyceps* and its allies in bamboo forest of Langya mountain

菌名 Species	寄主 Host	个数 Amount	占总数% Percentage
多座线虫草 <i>Ophiocordyceps sobolifera</i>	蝉若虫 Nymph of cicadidae	1	4.5
拟细线虫草 <i>O. gracilioides</i>	鞘翅目幼虫 Larva of coleoptera	1	4.5
蝉棒束孢 <i>Isaria cicadae</i>	蝉若虫 Nymph of cicadidae	14	63.7
细脚棒束孢 <i>I. tenuipes</i>	鳞翅目茧 Cocoon of lepidoptera	1	4.5
球孢白僵菌 <i>Beauveria bassiana</i>	蝉 Cicadidae	2	9.1
柱孢绿僵菌 <i>Metarhizium cylindrospora</i>	蝉 Cicadidae	3	13.7

从表 3 可以看出蝉棒束孢为琅琊山地区竹林中的优势种, 占总数的 63.7%。并且从所采集的标本中可以看出在这一地区虫草及其相关真菌的主要寄主为蝉和蝉若虫, 占总数的 91%。

## 2.4 优势种发生分析

通过对这 3 个地区竹林中虫草及其相关真菌的调查, 可以很明显的看出安徽省这 3 个不同地区的竹林中优势种均为蝉棒束孢。

通过对比上述 3 个表中蝉棒束孢标本数量可以得知: 在牯牛降国家地质公园竹林中所采集到的蝉棒束孢的数量共 195 株要远远大于霍山和琅琊山地区的标本数量。明显的说明在 6~9 月之间皖南竹林地区蝉棒束孢的发生数量要远大于皖西和皖东竹林地区。

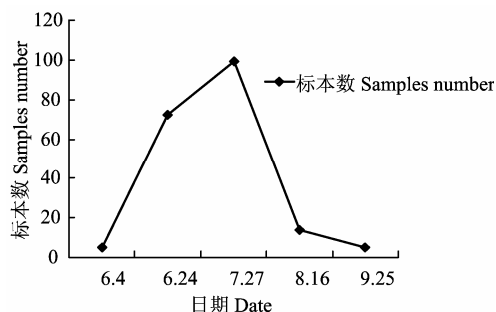


图 1 牯牛降国家地质公园竹林中蝉棒束孢发生周期  
Figure 1 The occurrence cycle of *Isaria cicadae* in bamboo forest of Guniujiang National Geopark

牯牛降国家地质公园竹林中蝉棒束孢的发生规律: 通过 6~9 月对此地区的采样研究发现蝉棒束孢多发生于接近水源坡度为 20~40° 的向阳坡面上, 地表有较为茂密的竹林生长, 土壤表面较为阴凉, 呈现较为明显的垂直分布。此地区蝉棒束孢的发生周期(图 1): 从 6 月初开始有少量蝉棒束孢长出地表, 6 月中下旬至 8 月上旬雨水较为丰富的这段期间为此区蝉棒束孢的发生高峰期, 八月中旬之后在野外环境中由于气温降低、降雨减少和部分长出的蝉棒束孢霉变或被虫蛀食而逐渐减少。

在霍山佛子岭地区竹林中蝉棒束孢多发生于竹林中向南的坡面上, 并且多集中于有溪流流经的地域。其发生周期多集中在 7 月中旬至 8 月中旬雨水较丰富的时节。由于此区为安徽省主要竹林区, 因此有较多的人为开采, 加之地表储水能力较差, 所以在选定的采样区域中仅采集到 19 株蝉棒束孢。

滁州琅琊山林场竹林样地地势较为平坦, 为竹林与榆、杨树混杂林, 植被较为茂盛, 地表储水能力较强, 此区蝉棒束孢多发生于混杂林交界, 榆树树根附近, 此区蝉棒束孢的寄主蝉若虫较牯牛降和霍山的寄主体型偏小, 应为不同种类的蝉。其发生周期多集中在 7 月中下旬至 9 月初。

## 2.5 3 个竹林中虫草及其相关真菌名录

多座线虫草(小蝉草) *Ophiocordyceps sobolifera* (Hill ex Watson) G. H. Sung, J. M. Sung, Hywel-Jones

& Spatafora, in Sung, Hywel-Jones, Sung, Luangsa-ard, Shrestha & Spatafora, *Stud. Mycol.* 57:46, 2007.<sup>[9-10]</sup>=*Cordyceps sobolifera* (Hill ex Watson) Berk. & Broome, *J. Linn. Soc., Bot.* 14(2):110, 1873.<sup>[11]</sup>

子座单生, 棒状, 不分枝, 从寄主头部长出, 淡褐色。柄柱状, 24.24×4.24 mm, 与寄主头部相连部分有缢缩。可孕部分为柄上部, 较柄膨大呈柱状, 15.90×6.18 mm。子囊壳埋生, 瓶型。子囊柱状, 基部变窄, 宽 5.2~7.0 μm, 子囊帽半球形, 高 3.0~3.8 μm, 宽 4.9~6.2 μm。

寄主: 蝉若虫

研究标本: lys20120716-04

无性型: *Hirsutella* sp.

大蝉草 *Cordyceps cicadae* Shing, *Acta Microbiol* 15(1): 23, 1975.

子座单生, 少数 2 个, 不分枝, 从寄主头部长出, 棒状, 27.28~62.16×3.42~12.06 mm, 黑色; 子囊壳埋生, 拟卵型, 360~420×160~220 μm。未完全成熟。

寄主: 蝉若虫

研究标本: gyt20120604-01, gyt20120604-02 等。

无性型: 未知(尚在鉴定中)

拟细线虫草 *Ophiocordyceps gracilioides* Kobayasi, G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora =*Cordyceps gracilioides* Kobayasi, *Sci. Rep. Tokyo Univ.* 5: 140, 1941.

子座单生, 从寄主中部长出, 直立, 肉质。柄圆柱形, 40.92×2.62 mm, 白色。头部球形, 直径 5.72 mm, 黄褐色。

寄主: 鞘翅目幼虫

研究标本: lys20120716-06

无性型: *Paraisaria gracilioides* (Kobayasi) C. R. Li, M. Z. Fan & Z. Z. Li. *Mycosystema.* 23(1): 165-166, 2004.<sup>[12]</sup>

*Ophiocordyceps* sp.

子座单生, 从寄主头部长出, 柄部浅褐色或浅黄色, 部分上部分叉, 顶端呈白色花簇状, 未成熟。

寄主: 蝉若虫

研究标本: gyt20120604-04, gyt20120604-06 等。

蝉棒束孢 *Isaria cicadae* (Miq.) Samson, *Studies in Mycology* (6): 52, 1974.

寄主: 蝉若虫。研究标本: gyt20120624-03, fzl20120807-05 等。

有性型: 未知。

细脚棒束孢 *Isaria tenuipes* (Peck.) Samson, *Stud. Mycol.* 6: 49, 1974.=*Paecilomyces tenuipes* Peck<sup>[13]</sup>

寄主: 鳞翅目幼虫。研究标本: lys20120716-05, gyt20120925-09 等。

有性型: 高雄山虫草 *Cordyceps takaomontana* Yakushiji & Kumazawa

球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, *Bull. Soc. Bot. France* 59: 40, 1912.

寄主: 蝉, 鳞翅目幼虫, 蝗虫等。研究标本: lys20120716-10, lys20120904-09 等。

有性型: 球孢虫草 *Cordyceps bassiana* Z.Z.Li et al.<sup>[14]</sup>

布氏白僵菌 *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch, *Trans. Br. Mycol. Soc.* 10: 249, 1924.

寄主: 鞘翅目。研究标本: gyt20120624-12, fzl20120807-11。

有性型: 布氏虫草 *Cordyceps brongniartii* Shimazu

柱孢绿僵菌 *Metarhizium cylindrospora* Q. T. Chen & H. L. Guo, *Acta Mycologica Sinica* 5(3): 180, 1986.<sup>[15-16]</sup>

寄主: 蝉。研究标本: lys20120716-10, lys20120716-11 等。

有性型: 牯牛降异虫草近似种 *Metacordyceps aff. guniujiangensis* C.R. Li.<sup>[17]</sup>

### 3 讨论

药用蝉花称蝉棒束孢 *Isaria cicadae* 的有性型阶段被认为是大蝉草 *Cordyceps cicadae*<sup>[18]</sup>, 调查中采集到的绝大多数为蝉棒束孢 *I. cicadae*, 也发现了小蝉草 *Ophiocordyceps sobolifera* 以及少数大蝉草 *Cordyceps cicadae*。采集到的大蝉草未完全成熟, 其无性型较难分离, 但是其无性型显然不是蝉棒束孢, 进一步研究还在进行中。

小蝉草 *Ophiocordyceps sobolifera* 与长座虫草 *Ophiocordyceps longissima* Kobayasi 有一定的相似度。与长座虫草相比两者寄主均为蝉若虫, 子座颜色均为浅棕色或淡褐色, 可孕部与柄有明显界限, 不同在于小蝉草子座单生, 不分枝, 而长座虫草子座单生或分叉长度较长。两者的子囊壳均为埋生, 瓶形, 且子囊壳大小, 次生子囊孢子大小都较为接近。从 Sung 等人建立的系统发育树可以看出, 小蝉草与长座虫草的亲缘关系非常近<sup>[11]</sup>。目前对于小蝉草的无性型还存在疑问需要通过形态学和分子生物学进一步研究。

调查中发现不同地区的蝉花寄主种类有所差异, 皖西混杂林中所采集到的蝉花寄主蝉若虫的种类不同于其他地区, 据文献记载蝉花的寄主昆虫我国已报道的有 5 种, 分别是蚱蝉 *Cryptotympana pastulata* Fabr.、山蝉 *Cicada flammata* Dist.、鸣蝉 *Oncotympana maculaticollis* Motsch.、竹蝉 *Platylocma pieli* Koto 和螳蛄 *Platypleure kaempferi* Fabr.<sup>[19]</sup>。皖西混杂林中采到的蝉花寄主昆虫鉴定为蝉科昆虫螳蛄 *Platypleure kaempferi* 若虫, 而其它两区竹林中蝉花的寄主为竹蝉 *Platylocma pieli* 若虫。螳蛄若虫虫体较小, 一般体长在 20~25 mm<sup>[20]</sup>, 而竹蝉若虫的个体较大, 体长一般都在 35 mm 以上。同时皖南地区竹林所采集到的虫生真菌数量要大于其它地区。推测其原因可能是由于皖南样地 6~9 月的雨水较为充足, 竹林样地的自然环境保护较好, 环境条件更为适宜蝉棒束孢的发生。但是在我们选择样地过程中发现皖南山区的外围山系可能因湿度和坡度原因蝉花数量也明显少于内山。

通过对竹林中虫草及其相关真菌的调查可以明显看出竹林中虫生真菌的主要寄主为蝉和蝉若虫, 这就为更好的研究蝉和蝉若虫为寄主的虫生真菌提供了一个采集生境。

## 参考文献:

- [1] Kobayasi Y, Shimizu D. Iconography of vegetable wasps and plant worms[M]. Osaka: Hoikusha Publishing Co. Ltd., 1983.
- [2] 刘波. 中国药用真菌[M]. 2 版. 太原: 山西人民出版社, 1978: 27.
- [3] 王海颖, 陈以平. 陈以平教授巧用蝉花经验[J]. 中国中医药信息志, 2000, 7(10): 71.
- [4] 何晓波, 芦柏震, 周俐斐, 等. 蝉花总多糖对细胞免疫和液体免疫反应的促进作用[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(7): 1468-1468.
- [5] 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.
- [6] 金周慧, 陈以平, 邓跃毅. 蝉花菌丝延缓肾小球硬化的作用机制研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2005, 6(3): 132-136.
- [7] 彭凡, 曹珊, 张琪, 等. 安徽省万仙山地区虫草资源的初步调查[J]. 安徽农业大学学报, 2011, 38(3): 400-403.
- [8] 梁宗琦. 我国虫草属真菌研究开发的现状及思考[J]. 食用菌学报, 2001, 8(2): 53-62.
- [9] Sung G H, Hywel-Jones N L, Sung J M, et al. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi[J]. *Studies in Mycol*, 2007, 57: 5-59.
- [10] 宋斌, 吴兴亮, 李泰辉. 广西的虫草种类[J]. 贵州科学, 2011, 29(1): 47-51.
- [11] 宋斌, 林群英, 李泰辉, 等. 中国虫草属已知种类及其分布[J]. 菌物研究, 2006, 4(4): 10-26.
- [12] Li C R, Ming L, Fan M Z, et al. *Paraisaria gracilioides* comb. nov., the anamorph of *Cordyceps gracilioides*[J]. *Mycosystema*, 2004, 23(1): 165-166.
- [13] 李春如, 左登平, 南圣姬, 等. 高雄山虫草及其细脚拟青霉无性型[J]. 菌物学报, 2007, 26(2): 217-220.
- [14] Li Z Z, Li C R, Huang B, et al. Discovery and demonstration of the teleomorph of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., an important entomogenous fungus[J]. *Chinese Sci Bull*, 2001, 9: 751-753.
- [15] 郭好礼, 陈庆涛, 叶柏龄, 等. 绿僵菌的三个新种[J]. 真菌学报, 1986, 5(3): 177-184.
- [16] 黄勃, 李世贵, 李春如, 等. 柱孢绿僵菌和绿色野村菌分类地位的研究[J]. 菌物学报, 2004, 23 (1): 33-37.
- [17] Li C R, Huang B, Fan M Z, et al. *Metacordyceps guniujiangensis* and its *Metarhizium* anamorph: a new pathogen on cicada nymphs[J]. *Mycotaxon*, 2010, 111: 221-231.
- [18] 幸兴球. 大蝉草和小蝉草的分类[J]. 微生物学报, 1975, 15(1): 21-26.
- [19] 罗靖, 宋捷民. 中药蝉花的本草考学考证[J]. 江西中医学院学报, 2007, 19(6): 14-15.
- [20] 李冰岚. 蝉花的本草学考证[J]. 现代应用药学, 1993, 10(2): 21-22.