

doi: 10.3969/j.issn.1674-0858.2016.01.1

冬虫夏草的研究进展、现存问题与研究展望

丘雪红, 曹莉, 韩日畴*

(广东省昆虫研究所, 广东省野生动物保护与利用公共实验室, 广东省农业害虫综合治理重点实验室, 广州 510260)

摘要: 冬虫夏草 *Ophiocordyceps sinensis* 是传统的名贵中药材, 具有非常重要的食用与药用价值。本文从天然冬虫夏草的地理分布与形态特征, 冬虫夏草菌的分离、分类、遗传与进化、大量培养, 寄主昆虫蝠蛾的分类、分布、生物学与人工饲养, 冬虫夏草的化学成分与药效作用等方面综述了冬虫夏草的研究进展, 分析了冬虫夏草研究现存的问题, 并展望未来的研究方向。

关键词: 冬虫夏草; 蝠蛾; 分布; 分类; 形态; 生物学; 人工栽培; 化学成分与药效作用

中图分类号: Q968.1; S435.673

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2016) 01-0001-23

The progress, issues and perspectives in the research of *Ophiocordyceps sinensis*

QIU Xue-Hong, CAO Li, HAN Ri-Chou* (Guangdong Entomological Institute, Guangdong Public Laboratory of Wild Animal Conservation and Utilization, Guangdong Key Laboratory of Integrated Pest Management in Agriculture, Guangzhou 510260, China)

Abstract: The Chinese caterpillar fungus *Ophiocordyceps sinensis* is a traditional and valuable medicine, which is widely used for medicinal and health foods. In this paper, the progresses on the geographical distribution and morphological characteristics of natural *O. sinensis*; the isolation, classification, genetic and evolution and mass production of *O. sinensis* fungus; the classification, geographical distribution, biology and artificial rearing of the Hymenoptera host insect; the artificial cultivation of fruit bodies of *O. sinensis*; and the chemical constituents and bioactivities of *O. sinensis* were reviewed; the current issues and the future prospects in the research of *O. sinensis* were discussed.

Key words: *Ophiocordyceps sinensis*; Hymenoptera; geographic distribution; classification; morphological characteristics; biology; artificial cultivation; chemical constituents and bioactivities

冬虫夏草 *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) Sung, Sung, Hywel-Jones & Spatafora = *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. 是指由冬虫夏草菌侵染蝠蛾科 Hymenoptera 昆虫的幼虫而形成的幼虫尸体与真菌子座的复合体 (Sung *et al.*, 2007; Lo *et al.*, 2013); 是我国传统的名贵中药材, 具有免疫调节、抗菌、抗肿瘤、抗氧化、抗衰老、降血糖血脂等广泛的药理作用, 与人参、鹿茸并称“中药

三大宝” (Lo *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2015)。

自 20 世纪 80 年代以来, 国内外学者对冬虫夏草做了大量的研究工作, 国外研究工作主要集中在 2 个方面: (1) 冬虫夏草化学成分研究, 主要是活性物质分离、检测及其化学结构解析; (2) 冬虫夏草药理、药效, 包括活性物质药效检测及药理作用的机制研究等方面 (Zhu *et al.*, 1998;

基金项目: 广东省科技计划项目 (2015B070701019); 广东省科学院科研平台环境与能力建设专项 (2016GDASPT-0107)

作者简介: 丘雪红, 女, 博士, 主要从事资源昆虫、杀虫微生物、虫草的研究, E-mail: xhqi@126.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: hanrc@gdei.gd.cn

收稿日期 Received: 2015-12-25; 接受日期 Accepted: 2016-01-11

Buenz *et al.*, 2005; Kumar *et al.*, 2011; Shashidhar *et al.*, 2013)。我国对冬虫夏草的研究由于天时和地利, 处于世界领先水平, 主要包括: (1) 冬虫夏草菌的检测、鉴定, 遗传多样性 (Wang and Yao, 2011; Jin *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2013); (2) 冬虫夏草生物学、生态学研究, 主要包括冬虫夏草的生境、生活史及资源分布 (杨大荣等, 1987; 刘飞等, 2005; 张古忍等, 2007; 陈仕江等, 2010; Li *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2012; 张永杰, 2012); (3) 冬虫夏草化学成分及药理作用研究, 主要集中在活性成分分离、检测和药理、药效作用以及作用机制 (Yang *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2014); (4) 冬虫夏草的人工培养研究, 主要是冬虫夏草菌菌丝体发酵、寄主蝙蝠蛾的人工培养、子实体培养等方面 (Leung and Wu, 2007; Yue *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2014; Cao *et al.*, 2015; Tao *et al.*, 2015)。尤其在人工培养研究方面, 已初步实现冬虫夏草真菌及寄主蝙蝠蛾幼虫的人工培养, 利用菌种发酵等技术开发生产出多种替代产品。但虫菌结合、实现浸染并长出子实体的关键工业化技术仍需完善。本文试图全面综述冬虫夏草的研究进展和未来研究方向。

1 冬虫夏草的地理分布

1.1 分布特点

冬虫夏草是生长在青藏高原高寒地区的特有物种, 其产区气温低、昼夜温差大、无绝对无霜

期、冻土时间长, 日照充足、紫外线强, 植被类型来为高山草甸或亚高山草甸、高寒灌丛等, 土壤类型为高山草甸土或亚高山草甸土 (图 1)。全球范围内, 冬虫夏草仅在中国、不丹、印度和尼泊尔 4 个国家有分布 (Winkler, 2008)。中国是冬虫夏草最主要的分布地, 占全球冬虫夏草分布面积的 90% 以上, 主要分布于西藏、青海、四川、云南和甘肃等省 3000 - 5200 m 的高海拔地区, 北起祁连山、南至滇西北高山、东到川西高原山地、西达喜马拉雅山的大部分地区, 约占我国国土面积 10%, 其中青海和西藏为最主要分布地, 占到全国冬虫夏草产量的 80% 以上 (杨大荣, 1999; 章力建等, 2010; Li *et al.*, 2011)。我国冬虫夏草的核心分布区包括: 西藏那曲地区的那曲县、比如县、索县、巴青县等地, 昌都地区的丁青县、边坝县、洛隆县、芒康县等地, 林芝地区的林芝县、工布江达县、波密县等地; 青海玉树藏族自治州的玉树县、杂多县、称多县、囊谦县等地, 果洛藏族自治州的玛沁县、甘德县等地; 四川阿坝藏族羌族自治州的壤塘县等地, 甘孜藏族自治州的理塘县、巴塘县、德格县等地; 云南迪庆藏族自治州的德钦县、香格里拉县以北一带, 甘肃甘南藏族自治州玛曲县以西一带 (杨大荣等, 2010)。近年来由于全球气候和青藏高原生态环境变化, 冬虫夏草分布出现两极分化, 个体大的往高海拔 4600 m 以上分布; 个体小的往低海拔 3600 m 以下分布, 部分种群已经分布到暗针叶林和高山灌丛带中 (杨大荣等, 2010)。



图 1 冬虫夏草的生态环境

Fig. 1 The ecological environment of *Ophiocordyceps sinensis*

1.2 影响地理分布的关键因素

冬虫夏草生存在高寒、缺氧、低气压的高寒

草甸生态系统, 在长期的适应进化过程中, 冬虫夏草菌及其寄主蝙蝠蛾科昆虫 (Nielsen *et al.*,

2000; Zou *et al.*, 2010) 与高寒草甸生态系统中的生物和非生物因子相互作用、相互依存并维持着脆弱的平衡关系, 外力的干扰和任何环境因子的变化都可能会影响这种平衡关系, 从而影响冬虫夏草的发生与资源可持续利用 (张古忍等, 2011)。

冬虫夏草的寄主单一, 其分布特征根据寄主蝠蛾昆虫的分布规律。蝠蛾的分布表现出明显的地带性、区域性和垂直性分布特点 (杨大荣等, 1987)。蝠蛾昆虫除了短暂的成虫期外, 其他虫态都在土壤中生活, 其分布规律直接受到取食植物、地形、地貌、海拔、气候、土壤等众多因素的影响 (刘飞等, 2005; 张古忍等, 2011)。蝠蛾幼虫具有多食性, 喜食莎草科 *Cyperaceae*、蓼科 *Polygonaceae*、禾本科 *Gramineae*、龙胆科 *Gentianaceae* 等高山草甸植物的幼嫩的须根和鳞茎 (张泽锦等, 2009)。青藏高原生态地理环境复杂

多样, 随着海拔升高, 植被递减, 植物种类产生垂直变化, 幼虫的食物也有变化。而蝠蛾幼虫依托取食植物分布选择栖息环境, 从而制约了冬虫夏草的分布 (杨大荣等, 2010)。

天然冬虫夏草一般多集中在土壤排水良好的向阳坡地或山脊或丘顶上, 坡度在 $15^{\circ} - 30^{\circ}$ 之间, 地形为丘状高原、高山地区 (尹小武, 2009)。不同分布区甚至同一分布区不同的蝠蛾种类有变化, 不同产区冬虫夏草的海拔分布有所差异 (见表 1)。西藏那曲地区和青海玉树地区这两个核心分布区的冬虫夏草分布海拔要高于边缘分布区的四川、云南和甘肃。冬虫夏草的海拔分布下限正在上移、分布范围正在缩小。冬虫夏草海拔分布下限的升高, 取决于其它环境因子如温度、土壤湿度等的变化, 而这些因子又不同程度地受到自然环境条件变化和人为干扰等的影响 (张古忍等, 2011)。

表 1 不同产地冬虫夏草海拔分布 (张古忍等, 2011)

Table 1 Elevation of *Ophiocordyceps sinensis* distributed in different aeras (Zhang *et al.*, 2011)

产地 Area	分布范围 (m) Distribution range	最适范围 (m) Optiomal range	分布下限 (m) Low end of range	分布上限 (m) Upper end of range
西藏那曲	4100 - 5000	4300 - 4800	4100	5000
青海玉树 (1960 年代)	3500 - 5100	4000 - 4600	3500	5100
青海玉树 (1960 年代)	4100 - 5000	4300 - 4800	4100	5000
云南西北 (1960 年代)	3600 - 5000	4000 - 4600	3600	5000
云南西北 (1960 年代)	4000 - 5000	4000 - 4600	4000	5000
四川理县	3500 - 4700	4000 - 4600	3500	4700
四川康定	3650 - 4250			
四川康定	3200 - 4700			
甘肃甘南	3350 - 4250	3800 - 4100	3350	4250

冬虫夏草和蝠蛾昆虫集中分布在高寒草甸地带, 这些区域气温变化幅度极大, 因而对冬虫夏草的生长影响也很大, 冬虫夏草于大气平均温度 2.6°C 开始生长, 最适温度 $7^{\circ}\text{C} - 12^{\circ}\text{C}$ (雷豪清, 1995)。冬虫夏草生长发育的最适大气相对湿度为 $80\% - 95\%$, 在此范围, 子座生长快速而肥大; 低于 70% 的环境则不利于冬虫夏草的生长, 子座生长极慢甚至干枯, 无法完成正常的有性阶段 (雷豪清, 1995; 陈仕江等, 2001; 徐海峰, 2007; 李少松, 2009)。产地的降水量也严重影响着冬虫夏草的生长发育和的产量。陈仕江等 (2001) 报道, 西

藏那曲东部冬虫夏草产区的年降水量明显高于西部非冬虫夏草产区; 产区降水量多集中于下半年, 特别是冬虫夏草快速生长发育的 6 - 9 月, 早春的降雪量直接影响当年冬虫夏草的产量, 降雪多则当年的冬虫夏草产量高, 反之产量低。光照同样影响着蝠蛾的生长和冬虫夏草的产量 (雷豪清, 1995)。李黎等 (1993) 发现光照能控制虫草子座生长高度, 减缓生长速度, 延长虫草虫体部分的空腐时间。

寄主昆虫蝠蛾主要是在土壤中度过其生命周期, 作为其栖息环境的土壤, 其种类与结构、温

湿度条件、理化性状直影响冬虫夏草的种群分布(陈仕江等, 2000; 张古忍等, 2011)。蝠蛾幼虫主要分布在高寒的高原草甸土、山地草甸土和高山草甸土中, 尤以高原草甸土为多。高原草甸土大多是酸性土, 土壤结构多为石头或粉状小块及碎屑结构, 质地为砂壤土或轻壤土(尹小武, 2009)。土壤温湿度与蝠蛾幼虫的生活状态和生长发育密切相关。土壤对冬虫夏草的影响主要表现在如下方面: 1) 土壤可直接或间接的影响蝠蛾幼虫的活动、生长发育和种群数量; 2) 土壤的环境条件可直接影响冬虫夏草菌核及子座的形成(陈仕江等, 2000; 张古忍等, 2011)。

2 冬虫夏草形态特征

2.1 冬虫夏草的形态特征

冬虫夏草由虫体(菌核)与从虫头部长出的真菌子座相连而成。天然冬虫夏草的虫体似蚕, 长3-5 cm, 直径0.3-0.8 cm; 外表粗糙, 呈深黄色至黄棕色, 环纹明显, 有20-30个, 近头部的环纹较细; 头部红棕色, 长有子座; 腹部有足

8对, 胸足4对明显; 质脆, 易折断, 断面略平坦, 呈淡黄色, 中间可见“V”形纹。子座长4-8 cm, 直径约0.3 cm, 表面呈灰棕色至棕褐色, 从虫体头部长出, 单生, 少见2个或3个分支, 呈细长圆柱形, 稍扭曲, 头部稍膨大, 柄部有纵皱纹; 质柔韧, 断面类白色, 似纤维状; 气微腥, 味微苦(图2)(Au *et al.*, 2012; 康帅等, 2013; 孙超等, 2015)。

夏季当冬虫夏草真菌的菌丝或孢子经过消化道、虫体节间膜等处侵入适龄蝠蛾幼虫后, 菌丝或孢子在活虫体内开始萌发分解虫体内的组织, 吸取营养, 大量繁殖, 慢慢地充满整个虫体体腔, 形成坚硬的僵虫, 之后在漫长寒冷的冬季僵化程度越来越高, 并形成菌核。菌核的形成, 只消化了幼虫的内部器官, 虫皮则形成一层坚实的菌膜, 起保护作用, 使菌核能够克服不良环境的影响, 从而保持完好无损的幼虫尸体, 俗称冬虫。春末夏初, 当环境的温度逐渐升高, 子座就从虫体的头部长出, 穿过土壤, 形如小草, 故名夏草, 子座刚刚长出的初期内部充实, 后变中空。子座可分为顶端不孕部分、可孕部分及子座柄, 可孕部



图2 天然冬虫夏草

Fig. 2 Nature *O. sinensis*

注: A, 天然冬虫夏草的子实体; B-D, 新鲜出土的天然冬虫夏草; D, 去除菌膜的新鲜天然冬虫夏草。
Note: A, Fruit body of *O. sinensis*; B-C, *O. sinensis* with soil; D, Fresh *O. sinensis* without external mycelial cortices.

分褐色或黑色, 外皮粗糙, 具多数微小颗粒状突起, 称球果, 即为子囊壳。子囊壳近表面生, 基部稍陷于子座内, 椭圆形至卵形, $380 - 550 \mu\text{m} \times 140 - 240 \mu\text{m}$ 。随着子座头部的逐渐膨大, 子囊壳和子囊孢子也逐渐成熟, 成熟的子囊孢子从子囊壳口弹射出来, 散落到土壤中, 在适宜的条件下又去侵染其他的蝙蝠蛾幼虫 (Buenz *et al.*, 2005)。

2.2 不同虫草的差异

由于冬虫夏草天然资源稀少, 价格高昂, 市场上出现了大量其他种类虫草的混淆品, 主要有亚香棒虫草、蛹虫草、凉山虫草、新疆虫草、阔孢虫草、分支虫草等, 这些虫草与冬虫夏草在性状与显微特征方面均存在差异, 见表 2。

表 2 冬虫夏草与混淆品的性状与显微特征比较 (陈小秋等, 2011)

Table 2 The main macroscopic and microscopic characteristics of *Ophiocordyceps sinensis* and its adulterants (Chen *et al.*, 2011)

部位特征 Characteristics in different parts	冬虫夏草 <i>O. sinensis</i>	亚香棒虫草 <i>Cordyceps hawkesii</i>	凉山虫草 <i>C. liangshanensis</i>	新疆虫草 <i>C. gracilis</i>	阔孢虫草 <i>C. crassispora</i>
菌核	虫体表面黄色至棕黄色。环纹明显, 30 - 40 个。足 8 对, 其中 4 对明显。气门浅黄色至黄棕色, 点状, 背部有 1 对近头部的气门较明显	虫体表面浅黄色至深棕色。环纹稍明显, 20 - 30 个。足 8 对, 不明显, 大小相近。气门浅黄色至黄棕色, 点状, 多数, 分布不规则	虫体表面黄棕色至橙棕色。环纹不明显, 去菌膜后, 可见 20 - 30 个环纹。足 8 对, 不明显, 气门不明显	虫体表面棕黄色至红棕色。环纹明显, 30 - 40 个。足 8 对, 其中 4 对明显。气门棕黑色, 点状, 多数	虫体表面棕黄色至棕黑色, 呈泡状不规则突起。环纹、足及气门均极不明显
子座	子座上上部稍膨大, 顶端不圆钝	子座上上部多膨大, 顶端圆钝, 有时可见 2 个或以上的分枝	缺子座或细长, 顶端不圆钝	缺子座	子座多卷曲, 上部多明显膨大, 基部较细, 顶端圆钝
体壁细胞表面观	浅黄色至黄色, 侧面有大量的丛生锐刺毛和绒毛	浅黄色至黄棕色; 可见深棕色斑点及网状纹理	金黄色至褐黄色; 沟纹明显; 躯壳周围有大量的丛生锐刺毛和绒毛	黄色至棕黄色; 呈网状纹理	金黄色; 具有不规则的鱼鳞状纹理
体壁细胞侧面观	具大量的丛生刺状毛	呈紧密排列纵向延长的柱形细胞	呈波浪纹排列	呈紧密排列纵向延长的柱形细胞	呈层纹状或横向纹理
短刚毛	黄色至橙黄色; 排列不规则; 顶端钝圆, 基部渐阔, 有些上部略呈钩状	黄色至棕黄色; 排列整齐; 棒状或基型刚毛	浅黄色至金黄色; 排列不规则; 顶端钝圆, 基部较阔	红黄色至棕黄色; 排列不规则; 顶端钝圆, 基部较阔, 有的呈椭圆形	黄色至棕黄色; 排列整齐; 棒状或基型刚毛

2.3 冬虫夏草的鉴别

不法商贩为追求高额利润, 除了混淆品外, 冬虫夏草市场上还出现的以假乱真、以次充好的现象 (孙超, 2015): 用植物地蚕、石蚕、甘遂、甘露、僵蚕等冒充冬虫夏草的虫体; 以淀粉、石膏、黄花菜等为原料人工模压、染色伪造冬虫夏草的虫体 (徐如英, 2010); 将冬虫夏草浸泡明矾水、饱和硫酸钾溶液或喷洒金属粉, 或在冬虫夏草内部插入铁丝、铜丝, 在子实体底部捏黑色泥

粉、铁粉等以增加重量或美化外观 (杨艳青和段军华, 2012); 收购已经提取过有效成分的冬虫夏草次品, 经过烘干、着色处理后将次品以高价卖出。

针对市场上冬虫夏草非正品及伪制品的不断增多, 国内外学者采用了形状、显微、理化与分子等不同的方法鉴别冬虫夏草的真假。形态上主要观察虫体和子座的颜色、大小, 足的数目, 气味等 (中国药典, 2010; 康帅等, 2013; 孙超, 2015)。

显微上主要观察虫体中央的结构、躯壳表皮有无着生绒毛、躯壳内有无菌丝等,子座的横切面与纵切面、子囊壳的包埋位置、子囊壳及子囊孢子形态、大小等 (Au *et al.*, 2012; 康帅等, 2013)。理化鉴别方法主要有:紫外吸收光谱法、红外光谱法、薄层色谱法、毛细管电泳法、蛋白电泳法、免疫分析鉴定法、高效液相色谱法和核磁指纹图谱等 (孙超, 2015)。分子鉴别主要运用分子生物学技术从真菌和昆虫两方面对冬虫夏草的子座与菌核进行真假鉴别;对样品的子座进行冬虫夏草菌的 ITS 序列分析,对菌核进行昆虫的细胞色素 *c* 氧化酶 CO I 基因、胞色素 *b* Cytb 基因序列分析 (Chen *et al.*, 2004; 孙超, 2015; 孙超等, 2015);还有学者结合 ITS 序列分析与随机扩增多态性 DNA (RAPD) - 特征序列扩增区域 (SCAR) 标记技术快速鉴定冬虫夏草样品,两种方法所得结果一致 (Lam *et al.*, 2015)。

3 冬虫夏草真菌

3.1 冬虫夏草真菌的分离

目前常用的冬虫夏草菌分离途径主要有组织分离方法与子囊孢子分离法 (张永杰, 2012)。使用组织分离法分离冬虫夏草菌时,要选取新鲜、完整及子座饱满的冬虫夏草,操作是先剥去冬虫夏草虫体 (菌核) 外的菌膜与土粒,以干净毛刷尽量去除菌核上的泥土,然后在无菌条件下对冬虫夏草进行表面消毒。表面消毒剂一般为 75% 酒精或 0.1% 氯化汞 (升汞)。表面消毒后,以无菌小刀分别削去菌核及子座的表皮,将子座剪成小块、将菌核削成小块,削菌核时尽量避免接触昆虫肠道。将获得组织小块接种于适合的培养平板上,9℃ - 18℃ 条件下培养直至菌落长出。组织分离法比较简单,成功率也比较高,一般 80% 以上 (张永杰, 2012)。以组织分离法,本实验室成功从云南、四川、青海采集的新鲜冬虫夏草分离到能在人工培养基上长出子实体的冬虫夏草菌株 (曹莉和韩日畴, 2014a; Cao *et al.*, 2015)。

以子囊孢子分离法分离冬虫夏草菌,一般选取新鲜、子座可孕膨大、子囊壳清晰的冬虫夏草,在无菌条件下收取成熟的子囊孢子,接种于真菌培养基上,放置于合适的温度下培养,直至长出单个菌落。子囊孢子分离法相对来说比较复杂,但所分离获得的单子囊孢子菌株可为遗传学方面

的研究提供重要的研究材料。张永杰 (2012) 采用该方法获得了 130 多个冬虫夏草菌的单子囊孢子培养物,发现子囊孢子于 20℃ 培养约 30 d 时可形成 1 - 3 mm 的菌落;而刘彦威 (2005) 在 15℃ 下培养则需要 50 d 才形成可见菌落。研究还发现,以子囊孢子分离法分离冬虫夏草菌时,使用的分离培养基对分离成功率影响很大,1/2 PPDA 是所用 4 种培养基中最适合分离冬虫夏草菌单子囊孢子菌株的培养基 (张永杰, 2012)。

自 20 世纪 80 年代以来,科研人员开始分离与报道了分离获得的冬虫夏草无性型或与之相关的菌株。沈南英 (1983) 首先报道从冬虫夏草子实体上分离出一种丝孢菌,该菌被初步鉴定为定为头孢菌属 *Cephalosporium* 新种。随后不断有学者从冬虫夏草分离出真菌。蒋毅和姚一建 (2003) 总结了截至 20 世纪末从冬虫夏草分离并报道的真菌,共涉及 13 属 22 个学名,如中国被毛孢 *Hirsurella sinensis*、中国拟青霉 *Paecilomyces sinensis*、蝙蝠蛾被孢霉 *Mortierella hepialid*、头孢霉新种 *C. sinensis*、蝙蝠蛾柱霉 *Scytalidium hepialid*、中国弯颈霉 *Tolypocladium sinensis*、顶孢头孢霉 *Cephalosporium acremonium*、蝙蝠蛾拟青霉 *P. hepiali* 等。科研人员还从冬虫夏草上分离并报道了一些其他真菌 (Jiang and Yao, 2006; 张永杰等, 2010)。在分离到的众多真菌中,只有中国被毛孢 (*Hirsurella sinensis* Liu, Guo, Yu & Zeng, 1998) 才是冬虫夏草菌真正的无性型 (刘锡璠等, 1989), 这已得到了生物学与分子系统学的证据支持 (莫明和等, 2001; 魏鑫丽等, 2006)。分子系统学分析结果表明,沈南英的菌株与中国被毛孢为同一物种。由于符合国际植物命名法规的名称是中国被毛孢,因此,基于沈南英报道的 3 个名称,均被处理为中国被毛孢的同物异名 (魏鑫丽等, 2006)。冬虫夏草菌是一种嗜低温真菌,最适生长温度为 15℃ - 20℃,生长非常缓慢 (郭英兰等, 2010; Dong and Yao, 2011)。Dong and Yao (2011) 基于培养温度和生长时间审核了所有有关冬虫夏草菌株的发表论文,认为 PubMed 数据库中自 1998 年发表的四分之三论文中描述的菌株不可靠。根据“一种真菌只能有一个名称”的国际藻类、真菌及植物命名法规,冬虫夏草菌无性型与有性型应用同样的名称 *Ophiocordyceps sinensis* (Lo *et al.*, 2013)。

3.2 冬虫夏草菌的形态

冬虫夏草真菌属于子囊菌,其生活史分为有

性阶段和无性阶段, 孢子分为有性孢子(子囊孢子)和无性孢子(分生孢子)。子囊孢子主要产自子座头部的可孕部分, 该部分为褐色或黑褐色, 长 2.0–3.0 cm, 表面具有微小颗粒突起, 称为子囊壳; 子囊壳贴近可孕部分的表面着生, 基部稍陷于子座内, 梨形或椭圆形至卵形, 大小为 206–550 μm \times 125–380 μm ; 子囊壳内部就长有许多细长的子囊, 大小为: 200–485 μm \times 4–16 μm , 每个子囊内含有 2–8 个子囊孢子; 子囊孢子线形或柱状、多隔(图 3), 大小范围在 180–350 μm \times 3.5–8.0 μm 之间, 平行或螺旋形排列于子囊内, 其发育需经历原子囊孢子期、孢子伸长期和子囊孢子形成期三个阶段。子囊孢子萌发后可直接形成菌丝或直接形成产孢细胞及顶生的分生孢子。分生孢子在适当的条件下可通过有丝分裂进行多次无性繁殖(梁宗琦等, 1995; 刘作易等, 2003;

郭英兰等, 2010; 肖岩岩等, 2011)。刘作易等(2003)对冬虫夏草子囊孢子的微循环产孢进行观察发现, 在营养贫瘠和高湿度的情况下, 子囊孢子表现出 3 种萌发现象: (1) 以出芽的方式进行萌发, 产生椭圆形的芽孢子; (2) 如果子囊孢子相互靠在一起, 就会出现“H”形结合, 有的两个子囊孢子之间产生多个“H”形结合, 从而进行相互融合; (3) 子囊孢子具有多个隔膜, 且不易断裂, 可以朝不同方向产生产孢细胞, 产孢细胞为单生或分叉, 有时也产生不止一次分枝的分生孢子梗。何苏琴等(2011)报道, 产自甘肃省冬虫夏草主产区的冬虫夏草具有丰富的形态多样性, 少数具有 2–4 个子座, 个别子座叉状分枝; 在子囊孢子弹射期, 子座可孕部产生明显的缩胀变化; 中国被毛孢在培养条件下产生无色和近黑色两种颜色的分生孢子。

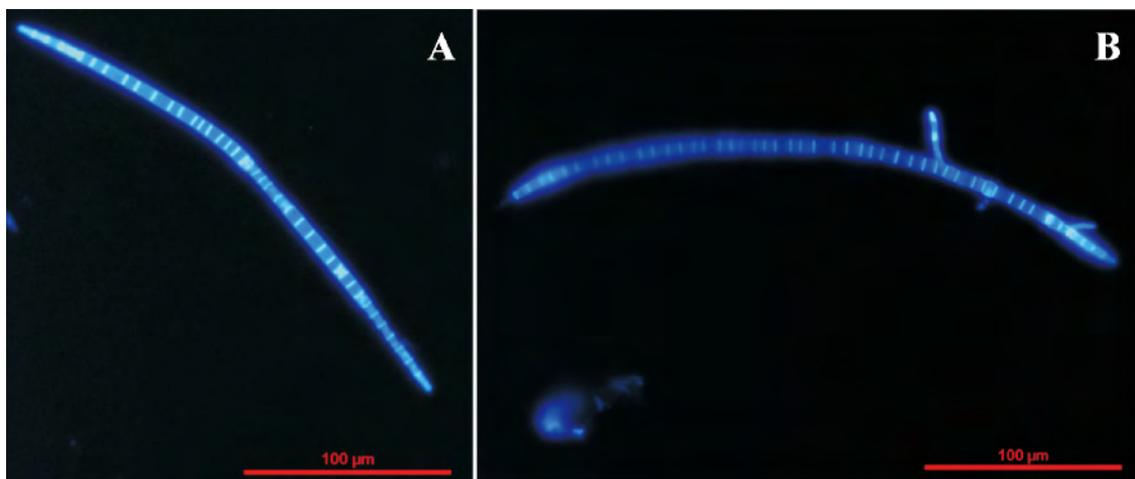


图 3 冬虫夏草的子囊孢子

Fig. 3 The morphology of ascospores of *Ophiocordyceps sinensis*

注: A, 新鲜收取的子囊孢子; B, 萌芽中的子囊孢子。Note: A, Fresh ascospore; B, Sprouting ascospore.

冬虫夏草菌的无性型阶段在实际生活中被广泛培养利用, 其无性型的基本特征可归纳为(图 4)(沈南英等, 1983; 刘锡璠等, 1989; 刘作易等, 2003; 尹小武, 2009; 毛雄民等, 2013):

菌落: 接种绿豆大小的菌块于 PPDA 培养基上置于 15 $^{\circ}\text{C}$ 温度下黑暗培养, 14 d 后菌落开始膨大, 边缘处长短而稀疏的菌丝; 培养 30 d 左右, 菌落逐渐隆起并生出灰白色菌丝, 并且开始褶皱; 40 d 左右菌落背面出现凹陷, 可见黑色素渗入培养基中; 菌落质地坚硬。菌丝: 菌丝分支、平滑或具微疣, 可见到隔膜或环状凸起, 直径 1–4 μm 不等, 可明显的分为粗菌丝和细菌丝, 可观察到

“H”型的菌丝融合现象。分生孢子梗: 分生孢子梗单生或簇生, 不分支或分支, 多见无柄产孢细胞单生于营养菌丝的顶端或侧枝; 产孢细胞为瓶形小梗, 单点内壁产孢, 平滑或具微疣, 针形或钻形, 逐渐向上尖削成一狭窄的颈部。分生孢子: 分生孢子无隔膜、平滑, 肾形、椭圆形或长椭圆形、半球形或近球形, 肾形分生孢子大小为 2.55–10.90 μm \times 2.33–6.7 μm , 椭圆形或长椭圆形分生孢子大小为 2.11–13.76 μm \times 1.85–7.74 μm 。毛雄民等(2013)发现不同产地菌株或是同一产地的不同菌株在同一培养基的菌落形态主要特征相似, 但菌落形态、颜色、突起均存在细微的差

异; 在同一培养基上分生孢子大小与菌株的产地有关, 从大到小依次是云南、西藏、青海、四川

采集的菌株; 同一种菌株在不同培养基上产生的分生孢子形态及大小差异不明显。

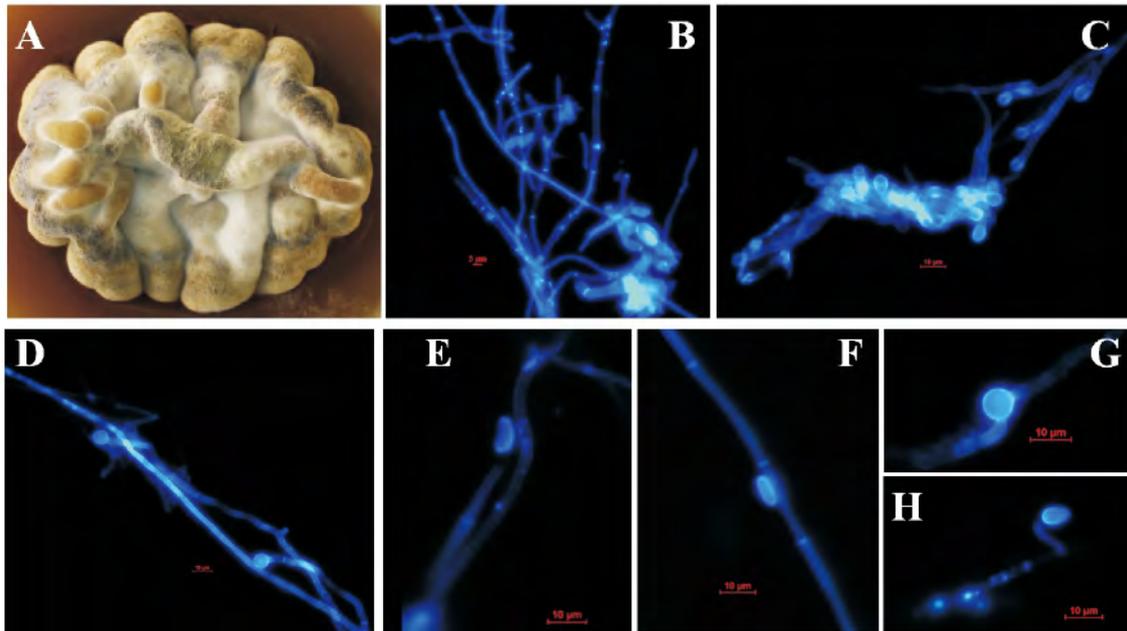


图4 冬虫夏草菌的菌落、菌丝与分生孢子形态

Fig. 4 The morphology of solid colony, mycelia and conidia of *Ophiocordyceps sinensis*

注: A, 菌落; B, 菌丝与分子孢子 (引自 Cao *et al.*, 2015); C - H, 分生孢子。Note: A, Solid colony; B, Mycelia and conidia (Cao *et al.*, 2015); C - H, Conidia.

3.3 冬虫夏草真菌的分类

目前, 全世界报道记载的的虫草属真菌 500 余种 (张姝等, 2013), 中国已知约 120 种 (梁宗琦, 2007)。长期以来, 人们将所有虫草菌全都归到麦角菌科虫草属中, 冬虫夏草归属于子囊菌门 Ascomycota、子囊菌纲 Ascomycetes、粪壳菌亚纲 Sordariomycetidae、肉座菌目 Hypocreales、麦角菌科 Clavicipitaceae、虫草属 *Cordyceps*, 其拉丁名为 *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. (Kirk *et al.*, 2001)。

近年来, 基于表型和基因型相结合的系统发育系统学研究结果, 真菌学家发现曾被归入广义麦角菌科虫草属的约 400 个分类群实际并非单系类群, 亦即并非同一祖先的后代; 传统的麦角菌科和虫草属都不是单系类群 (Sung *et al.*, 2007; 郭英兰等, 2010; Kepler *et al.*, 2012)。近年来, 真菌的高等分类阶元有了新的变化 (Hibbett *et al.*, 2007), 虫草属以及属内成员的分类地位都发生过多次变动 (梁宗琦, 2007)。现在广义的麦角菌科被划分成 3 个科, 即 Clavicipitaceae、Cordycipitaceae 和 Ophiocordycipitaceae。广义虫草

属的大部分成员现已被划分到 5 个属中, 即 *Cordyceps* Fr.、*Elaphocordyceps* G. H. Sung & Spatafora、*Metacordyceps* G. H. Sung, J. M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora、*Ophiocordyceps* Petch 和 *Tyrannicordyceps* Kepler & Spatafora。冬虫夏草菌在现行分类系统中属于子囊菌门 Ascomycota、粪壳菌纲 Sordariomycetes、肉座菌目 Hypocreales、线性虫草科 Ophiocordycipitaceae、线性虫草属 *Ophiocordyceps*, 学名为 *Ophiocordyceps sinensis* (Sung *et al.*, 2007)。

为了明确冬虫夏草菌的无性型, 20 世纪 80 年代以来, 研究学者从天然冬虫夏草上分离并报道了多达 22 个真菌名称 (Jiang and Yao, 2002); 然而, 在这些真菌中, 只有中国被毛孢 *Hirsutella sinensis* X. J. Liu, Y. L. Guo, Y. X. Yu & W. Zeng 才是冬虫夏草菌真正的无性型 (刘锡琏等, 1989; 魏鑫丽等, 2006)。自 2013 年 1 月 1 号起, 法规规定一种真菌只能有一个名称, 这将终止无性型拥有独立名称的命名系统; 国际藻类、真菌及植物命名法规将冬虫夏草菌无性型名字由 *Hirsutella sinensis* 更名为 *Ophiocordyceps sinensis* (Lo *et al.*, 2013)。

3.4 冬虫夏草真菌的遗传和进化

冬虫夏草生长于青藏高原海拔 3000 m 以上的高寒草甸土中, 其进化受到青藏高原造山运动的显著影响。冬虫夏草菌主要靠弹射的子囊孢子进行传播, 但由于冬虫夏草菌不同地理种群间受高山阻隔而导致基因交流水平较低, 从而使冬虫夏草菌产生遗传分化。研究表明, 冬虫夏草具有明显的地域性, 同一地区菌株间分化程度较低, 不同地区遗传差异较大 (张云武等, 1999; 朱子雄等, 2011); 而遗传分化与地理分布的高度和梯度有相关性, 发生于青藏高原的南北走向, 表现在不同的纬度之间, 与经度和海拔的相关性不显著 (Liang *et al.*, 2008; 郝剑瑾等, 2009; Zhang *et al.*, 2010; 毛雄民等, 2013; 张姝等, 2013)。研究冬虫夏草菌的遗传多样性使用的分子标记涉及随机扩增多态性 DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD) (Chen *et al.*, 1999)、简单序列重复间区扩增多态性 (inter-simple sequence repeat, ISSR) (朱子雄等, 2011)、核糖体 DNA 内转录间隔区 (nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer, nrDNA ITS) 的序列 (Kinjo and Zang, 2001)、交配型基因 MAT1-2-1 的序列等 (Zhang *et al.*, 2009; 张姝等, 2013)。

3.5 冬虫夏草菌丝的大量培养

我国从 20 世纪 70 年代后期就开始冬虫夏草菌人工栽培技术的研究, 但由于冬虫夏草有性型的人工培养难度大, 很多科研单位或研究人员转而开发研究冬虫夏草的替代产品, 进行冬虫夏草无性型及相关真菌的发酵培养及其产品的开发利用。目前已经实现菌丝体的深层发酵技术, 开发的虫草制剂多款产品已投入市场。由冬虫夏草菌的发酵菌丝体制成的“百令胶囊”, 作为国家中药一类新药, 已被用于治疗慢性肾衰、II 型糖尿病、尿路感染、肝脏疾病、哮喘、结核及辅助治疗肿瘤等 (刘丽娟等, 2004)。此外, 国内外也有许多厂家在利用从冬虫夏草分离的其他真菌进行产品开发 (Zhang *et al.*, 2012; 张永杰, 2012), 如由蝙蝠蛾被孢霉发酵菌丝体制成的“至灵胶囊”, 由蝙蝠蛾拟青霉菌丝体发酵物制成的国家中药一类新药“金水宝胶囊”, 由虫草头孢 *Cephalosporium sinensis* 开发出的“宁心宝胶囊”, 由粉红粘帚霉 *Gliocladium roseum* Bainier 开发出的“心肝宝胶囊”等 (张姝等, 2013)。

冬虫夏草菌是子囊菌, 其生活史包括子囊孢

子阶段与分生孢子阶段, 其培养过程与其他子囊菌一样, 包括菌株筛选、菌株激活、中间培养、批量培养 (Zhou *et al.*, 2014)。基于培养基不同, 冬虫夏草菌的培养方法有固体培养 (刘飞等, 2009) 与液体培养 (葛飞等, 2009) 2 种。培养过程中, 温度、湿度、氧气与营养成分是培养与获得有效产品的关键因素 (Wang *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2014)。一般来说, 冬虫夏草菌的最佳生长温度是 18℃ - 20℃, 在 20℃ 条件下, 菌丝生长快, 但温度高于 25℃ 时, 菌丝停止生长。最适的 pH 范围为 5 - 6, 最佳的碳源是葡萄糖、氮源是蛋白胨, 同时还需要适量的酵母提取物。另外, 添加少量的磷酸二氢钾、硫酸镁可促进菌丝生长 (王忠, 2001a, 2001b; 王淑芳等, 2003)。为了从冬虫夏草液体发酵中获得较高产量的活性成分, 许多研究者针对液体培养基的配方和菌丝的培养条件进行优化和改进。汤蕾等 (2005) 以配比浓度为麦芽糖 2.17%、葡萄糖 2.95%、蛋白胨 2.74% 的培养基获得了较高产量的腺苷。刘彦威等 (2006) 在液体培养基中以氯化铵为氮源获得较高产量的甘露醇。全卫丰等 (2007) 用蔗糖 3%、玉米粉 5%、豆饼粉 4%、MgSO₄ · 7H₂O 0.05%、KH₂PO₄ 0.1%、VB₁ 0.01%, pH6.5 配比的培养基, 在 22℃、120 rpm/min 摇床的条件下培养 7 d 时发酵液中的胞外粗多糖含量最高。

相对来说, 有关冬虫夏草固体培养的研究报道较少。李春如等 (2004) 研究表明, 单从菌丝生物量来看, 固体培养的最佳氮源为奶粉, 其后依次为黄豆粉、酵母粉和麸皮, 最差的为蛋白胨和 NH₄NO₃; 碳源对菌株的生长影响较小, 比较适合碳源为葡萄糖、蔗糖和果糖, 其次为乳糖、淀粉等。刘永霞 (2004) 报道, 冬虫夏草菌菌丝生长最佳碳源为葡萄糖、最佳氮源为蛋白胨、最佳产孢碳源为乳糖、最佳产孢氮源为蚕蛹粉。刘天美 (2010) 以蝙蝠蛾幼虫为氮源 (鲜虫添加量为 40 g/L), 以冬虫夏草原产地土浸提取液为培养基水源, 培养空气相对湿度为 65% 的条件下, 菌落直径增加最快, 生物量最高。Mei 等 (2013) 研究了培养参数 (培养基、温度、pH) 对冬虫夏草菌的菌落直径、分生孢子生长和产量的影响, 结果表明 C 培养基 (麦芽膏 25 g/L, 淀粉 10 g/L, 琼脂 12 g/L) 最适合菌株产孢和分生孢子生长, PPDA 培养基最适合菌丝生长, M 培养基 (马铃薯 200 g/L, 葡萄糖 20 g/L, 酵母粉 1 g/L, 胰蛋白胨

1 g/L, 琼脂 15 g/L) 可兼备支持产孢和菌丝生长; 可溶性淀粉是促进菌株产孢的良好碳源, 葡萄糖是促进菌丝生长的理想碳源, 氮源能够促进菌丝的生长但非产孢及孢子生长的关键因子; 高浓度的铁离子会抑制菌丝的生长及产孢, 但能够促进孢子的生长。毛雄民等 (2013) 报道了在培养基中添加蚕蛹粉有利于冬虫夏草菌生长。周宇燧等 (2013) 报道了氮源对菌丝体生物量的影响从大到小依次为: 黄粉虫蛹粉、牛肉蛋白胨、黄粉虫粉, 蛋白胨、大豆, 冬虫夏草菌在培养时优先选择与蝙蝠蛾幼虫相似的动物性蛋白。

4 冬虫夏草寄主昆虫 - 蝠蛾

4.1 蝙蝠蛾的分类

在自然条件下, 冬虫夏草菌需要侵染蝙蝠蛾科 *Hepialidae* 昆虫的幼虫才能形成冬虫夏草, 2010 版《中国药典》收载, 冬虫夏草为冬虫夏草菌寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座与幼虫尸体复合体, 但对于蝙蝠蛾科具体种属并没有明确的定义。20 世纪 50 年代以前, 我国还没有科研人员对蝠蛾进行分类和研究报道。1886 年, 英国的 Poujade 在四川省宝兴县雪山上发现一种蝠蛾, 并定名为德氏蝠蛾 *Hepialus davidi*, 他是最早最科学地描述和发表我国青藏高原有蝠蛾属昆虫分布的学者; 后来 Alphe raky、Staudinger 等学者分别于 1889 和 1895 年在西藏发现了暗色蝠蛾 *H. nebulosus* (同种异名: 泥色蝠蛾 *H. luteus*) 与异色蝠蛾 *H. varians* 两个种类。法国的 Oberthur 在 1909 年整理由中国西藏、四川带去的药材和植物标本中, 发现一头蝠蛾成虫, 并定名为 *H. armoricanus*, 但这些外国学者只是对蝠蛾进行了简单的形态描述, 并未做系统的研究 (朱弘复, 1965)。自朱弘复 (1965) 首次报道冬虫夏草的寄主昆虫以来, 多位学者相继对冬虫夏草寄主昆虫进行了报道, 尤其是杨大荣等多年来对冬虫夏草的寄主昆虫进行了深入的研究和调查 (邱乙等, 2015)。目前, 全世界已知的蝙蝠蛾大约有 300 多种, 大多数分布在澳洲, 在新西兰、日本、法国等低海拔地区及内蒙古也有分布, 但这些地区的蝠蛾都不是冬虫夏草的寄主昆虫 (尹定华等, 1991)。许多文献对冬虫夏草菌的寄主昆虫种类进行了统计, 但得到的结果差别较大, 随着调查的进行, 不断有新的寄主昆虫种类被发现 (涂永勤等, 2009;

Maczey *et al.*, 2010; Zou *et al.*, 2011), 于不同年份统计的冬虫夏草菌寄主昆虫种类也从 30 多种到 60 多种不等 (王伟等, 1996; 杨大荣等, 1996; 刘飞等, 2006)。最近, Wang and Yao (2011) 全面总结与分析了业已发表的冬虫夏草寄主昆虫种类, 认为文献中涉及 13 个属的 91 种昆虫中有 57 个种可能是冬虫夏草菌的寄主昆虫, 26 个被排除掉, 还有 8 个无法确定; 这 57 种寄主包括 *Bipectilus* 属 1 种, *Endoclita* 属 1 种, *Gazoryctra* 属 1 种, *Hepialus* 属 12 种, *Magnificus* 属 2 种, *Pharmacis* 属 3 种和 *Thitarodes* 属 37 种。邱乙等 (2015) 课题组近 10 年在西藏、青海、四川、甘肃、云南五个主产地采集并鉴定冬虫夏草寄主样本的基础上, 结合文献报道情况系统总结了 60 种主要的冬虫夏草寄主昆虫, 发现钩蝠蛾属 *Thitarodes* 37 种、无钩蝠蛾属 *Ahamus* 16 种和蝠蛾属 *Hepialus* 7 种为冬虫夏草的主要寄主昆虫。

除种类数不确定外, 冬虫夏草菌寄主昆虫的分类体系也不稳定。长期以来, 蝠蛾属 *Hepialus* Fabricius 被认为是冬虫夏草菌寄主昆虫最主要的属 (杨大荣等, 1996)。但是, Nielsen *et al.* (2000) 建议将中国科学家 1984 年以后报道的蝠蛾属几乎所有的昆虫物种都组合到钩蝠蛾属 *Thitarodes* 中。最近, 邹志文等 (2010) 以蝠蛾雄性生殖器抱器瓣结构特征为依据, 对中国蝠蛾属昆虫的分类系统重新进行了修订。他们在建立拟蝠蛾属 *Parahepialus* Z. W. Zou & G. R. Zhang 和无钩蝠蛾属 *Ahamus* Z. W. Zou & G. R. Zhang, 并在引入钩蝠蛾属的基础上, 将中国蝠蛾属的 60 个种分别归入拟蝠蛾属 (1 种)、无钩蝠蛾属 (18 种)、蝠蛾属 (1 种) 和钩蝠蛾属 (40 种)。在这 4 个属中, 除蝠蛾属外的其他 3 个属都有冬虫夏草菌的寄主昆虫。然而, 令人遗憾的是, 目前冬虫夏草菌寄主昆虫分子系统学的研究还非常薄弱。截止目前, GenBank (公共的 DNA 序列数据库) 中冬虫夏草菌寄主昆虫的 DNA 序列非常少 (包括 69 条线粒体细胞色素 b 基因序列和 139 条细胞色素氧化酶 I 基因序列), 而且仅来自两个不同的实验室 (张姝等, 2013)。冬虫夏草菌寄主昆虫更广泛范围的标本采集, 以及蝙蝠蛾昆虫分子系统学的研究显得十分必要。

4.2 蝙蝠蛾分布规律

冬虫夏草寄主昆虫的地理分布有其特定规律, 如仅分布于青海、西藏、四川、云南、甘肃五省,

海拔分布范围在 3000 – 5100 m 及其以上的某些地区。纬度偏南地区最佳分布海拔为 4200 – 4600 m, 分布上限为 5100 m, 分布下限为 3600 m; 在纬度偏北地区最佳海拔分布在 3700 – 4300 m, 分布上限为 5000 m, 分布下限为 3000 m。冬虫夏草寄主昆虫分布区域十分狭窄, 常常是不同地区, 不同山脉就形成不同的种类, 甚至同一山脉不同坡向不同海拔就会形成不同的种类。如贡嘎钩蝠蛾 *T. gongganensis* 仅分布在四川康定贡嘎山海拔 3800 – 4400 m, 玉龙无钩蝠蛾 *A. yulongensis* 仅分布在云南省玉龙雪山海拔 4150 – 5000 m。

蝙蝠蛾昆虫是一类高海拔生存的蛾类, 主要分布在我国四川、云南、西藏、青海、甘肃等高寒地带。在四川主要分布于甘孜州、阿坝州境内的近 20 个县; 在云南主要分布于迪庆、怒傈族自治州、丽江、大理白族自治州等地区的横断山谷区; 在西藏主要分布于那曲、昌都、日喀则、林芝等 11 县以及拉萨市郊县等地; 在甘肃主要分布于武都县、文县、甘南州的碌曲县等地区; 在青海主分布于化隆回族自治县、同仁县、玉树州、果洛、黄南、海东、海北等地区 (叶宝林等, 1995; 陈仕江等, 2002; 周明秀, 2004)。

蝙蝠蛾的分布表现出明显的地带性、区域性和垂直性分布特点 (杨大荣等, 1987)。蝙蝠蛾每一个种群都有特定的地理位置和分布格局, 常常是不同的地区或者不同的山脉形成不同的种类, 甚至是同一山脉不同的坡向和沟谷就形成不同的种类。究其原因如下: 1) 蝙蝠蛾昆虫生活史。蝙蝠蛾昆虫多数时间都在土壤内生活, 活动范围很窄, 羽化后生活在地面上的成虫也因寿命短 (不取食, 仅能生存 3 – 8 d) 和难于远距离迁徙 (雌蛾仅能飞翔 30 – 50 m 的距离, 就算顺风顺坡也只能飞 300 – 500 m 的距离) 而与不同种或种群杂交。2) 地理和气候环境严重阻碍了蝠蛾种与种群间的基因交流。蝠蛾分布除了区域性和地域性分布的规律外, 还有垂直分布的特征。在不同的山系、不同的海拔高度之间, 蝠蛾的分布就不同, 甚至在同一海拔高度区间的不同种类其垂直分布范围也不相同。四川、青海和云南的垂直分布范围较广, 垂直分布距离可达 2000 m; 西藏和甘肃的垂直分布范围较窄, 分布距离只有 1000 m 左右 (刘飞等, 2005; 杨大荣等, 2009)。

4.3 蝙蝠蛾的生物学

蝙蝠蛾为全变态昆虫, 生活周期包括卵、幼

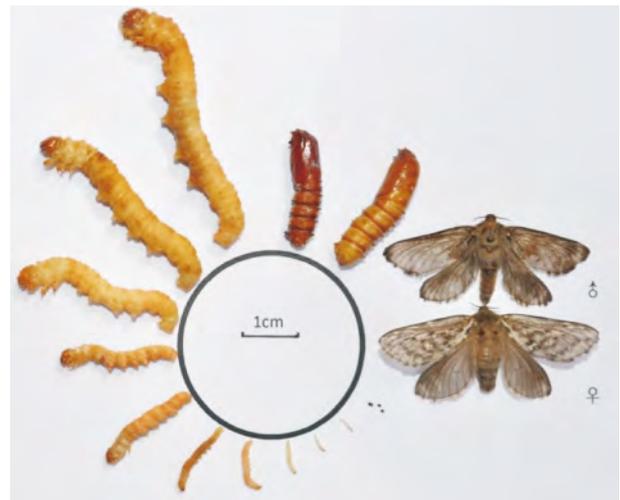


图5 低海拔实验室人工饲养的虫草钩蝠蛾各龄期 (Tao et al., 2015)。

Fig. 5 Various stages of *Thitarodes armoricanus* (Tao et al., 2015)

注: 顺时针方向分别为卵、1 – 10 龄期幼虫、雄蛹、雌蛹、雄虫与雌虫。Note: Clockwise: eggs, first-to tenth-instar larvae, male pupa, female pupa, male adult and female adult.

虫、蛹和成虫阶段, 其中幼虫期最长, 占了生活周期的大部分时间, 其生活史见图 5。最适宜的生长土壤为高寒草甸和高寒灌木丛土。在自然界条件下, 蝙蝠蛾完成其生活史所需时间因种类、产地不同而异, 通常为 3 – 6 年, 且幼虫期长达 2 或 3 年以上, 成虫期较短, 约 30 d (尹定华等, 2004; 徐海峰, 2004)。尽管不同地区的蝙蝠蛾种类的生活史不同, 但是总体来说有规律性。在自然环境中蝙蝠蛾昆虫完成整个世代的周期受到种类、地理分布、食物、植被、土壤结构、温度、湿度和自然天敌等多种生态因子的综合控制。

卵: 呈椭圆形; $0.6 - 1.1 \mu\text{m} \times 0.4 - 0.7 \mu\text{m}$; 初产时为乳白色或白色, 渐渐变成乳黄色, 后变成米黄色或黄色, 再变成灰色或灰褐色, 最后直到孵化前变成黑色, 未受精的卵最终不会孵化 (杨大荣等, 2009)。自然界中, 受精卵通常在 8 – 9 月、温度高于 10°C 的潮湿条件下孵化。在四川、青海、云南和甘肃地区, 卵历时 30 – 40 d; 在西藏那曲地区卵历时约 70 d。卵的孵化率因地区不同而异, 约 70% – 90% (尹定华等, 2004)。

幼虫: 初孵幼虫乳白色, 体长约 2 mm; 老熟幼虫头壳红棕色, 体米黄色。初孵幼虫活动在土壤表层, 并以植物幼嫩的根茎为食, 随着龄期增

大,入土逐渐加深,随之取食入土较深的植物(杨大荣等,1996)。幼虫在自然土壤中营隧道式生活,杂食性,主要以植物嫩根为食,其取食的物种涉及19个科,主要取食莎草科 Cyperaceae、禾本科 Gramineae、毛茛科 Ranunculaceae、蓼科 Polygonaceae、水麦冬科 Juncaginaceae、菊科 Compositae 等(张泽锦等,2009)。幼虫期漫长,龄期通常为7-9龄,历期900-1300 d,且具有明显的世代交替现象;由于自然界条件下容易受到天敌的侵袭,幼虫的存活率通常小于10%。每年10月至次年4月冻土期蝙蝠蛾幼虫在土壤中处于休眠状态。

蛹: 蛹体呈长椭圆形,长23.0-31.7 mm;头顶有角状瘤,红褐色或红棕色,头壳宽4.5-6.0 mm;腹部正面3节明显缩短,每节有倒刺2排;第7节有瘤状突,8、9节上的生殖孔明显,雌蛹明显大于雄蛹(李梦楼,2004)。当环境温度在10℃左右,湿度在40%-50%时,幼虫陆续开始化蛹,蛹初期为乳白色,继而变为乳黄色或黄色,之后蛹壳开始变硬,接近羽化期的时候,雄蛹就变为褐色,雌蛹则变为深黄色。蛹在土中常借助体表突起移动,以避免不良环境;随着蛹慢慢成熟及地表温度上升,蛹将会在隧道中逐渐向土表移动,快羽化时到达地表(王宏生,2002)。自然界中,蝙蝠蛾幼虫一般于6月至7月开始化蛹,蛹期30-40 d,因种类、区域而有所不同。

成虫: 每年6-8月份,当温度达到15℃左右,湿度在70%-90%,土壤含水量在50%左右蛹开始羽化成成虫。羽化后的成虫雌雄异体,通常雌蛾比例高于雄蛾。成虫不取食,不饮水,寿命只有3-7 d,雌蛾寿命略长于雄蛾。雄蛾具有趋光性,而雌蛾趋光性弱或趋光性。成虫羽化展翅完成后不久便开始交配,雌蛾一生只交配1次,而雄蛾可交配2-3次,雌蛾交配5-40 min后开始产卵,交配可促进雌蛾产卵。未交配的雌虫也能产卵,但不能孵化,余腹卵也较多。交配后雌虫可产卵3-6次,一般将卵散产于附近草丛中或灌丛植被中,每只雌蛾产卵200-800粒。

4.4 蝙蝠蛾的人工饲养

寄主昆虫的人工饲养是人工培育冬虫夏草最重要环节之一。多年来学者们对冬虫夏草寄主生长发育过程中的适宜饲料、温度、湿度、光照、饲养基质等进行了大量研究(王宏生,2002; Zhou *et al.*, 2014; 王晓瑞等,2015)。

引入实验室人工饲养,全年可生长、发育,无越冬休眠期,故1-2.5年、甚至更短蝙蝠蛾即可完成一代(杨大荣等,1991; Zhou *et al.*, 2014; Tao *et al.*, 2015)。在人工饲养过程,不同的昆虫对温度与湿度的需求不同。蝙蝠蛾的饲养温度一般为8℃-20℃,温度过高易引起互相残杀,造成死亡,温度过低则会减少取食量与延迟生长。杨大荣等(1991)于实验室条件下饲养蝙蝠蛾时,卵期在11℃-17℃条件下历期28-41 d,幼虫期在8℃-15℃条件下历期498-605 d,蛹期在8℃-12℃条件下历期40-50 d。尽管在稳定的实验室饲养条件,不同种类或同种的不同个体,蝙蝠蛾完成一个世代的时间也有所不同。作者实验室在9℃-13℃、50%-80% RH. 的条件下饲养剑川蝙蝠蛾 *T. jianchuanensis* 与虫草钩蝙蝠蛾 *T. armoricanus* 时,剑川蝙蝠蛾的生活周期历时263-494 d,幼虫具有7-9个龄期;虫草钩蝙蝠蛾的生活周期历时443-780 d,幼虫具有7-10个龄期;两种蝙蝠蛾均发生由7龄、8龄或9龄幼虫发育成蛹的现象,虫草钩蝙蝠蛾还有极少数的9龄幼虫可发育至10龄幼虫(Tao *et al.*, 2015)。

饲料是人工饲养寄主昆虫过程中的重要因素,目前,蝙蝠蛾的人工饲养主要饲喂以蓼科植物根块、胡萝卜、苹果、马铃薯等为主的天然饲料,其中胡萝卜为蝙蝠蛾幼虫喜食食物,且含水含糖量高,易于咀嚼,而被广泛应用(王忠等,2001a)。广东省昆虫研究所已在低海拔地区以胡萝卜成功规模化人工饲养蝙蝠蛾昆虫,首次完成了蝙蝠蛾的生命表(曹莉和韩日畴,2014b; Tao *et al.*, 2015)。Yu等(2004)报道在低海拔实验室条件下成功大规模饲养蝙蝠蛾,蝙蝠蛾可在一年内完成1个世代,并获得大量幼虫;但文中并未提及所用饲料。关于蝙蝠蛾的人工饲料鲜有报道,王宏生(2002)组配了4种人工饲料饲喂虫草蝙蝠蛾5龄幼虫,饲喂90 d后,人工饲料的幼虫成活率只有36.66%-60%,显著低于饲喂胡萝卜组的成活率(71.67%)。

饲养过程中蝙蝠蛾幼虫容易受到病原菌(如绿僵菌 *Metarhizium* sp.、白僵菌 *Beauveria* sp.、拟青霉 *Paecilomyces* sp.、头孢霉 *Cephalosporium* sp.、毛霉菌 *Mucor* sp. 等)、线虫、螨、小昆虫的危害而死亡(Lu *et al.*, 2015)。为了保证幼虫存活率,应控制人工饲养蝙蝠蛾环境中的微生物。

5 冬虫夏草子实体的人工培育

目前,世界上能够成功人工培育的虫草子实体种类不多。除了利用含米饭的培养基栽培蛹虫草子实体外,还通过以昆虫为寄主来培养蛹虫草。潘中华等(2002)和汪西强等(2002)分别利用家蚕蛹 *Bombyx mori* L. 和蚱蝉蛹 *Cryptotympana pustulata* F. 培植蛹虫草。李春如等(2005)以台湾虫草 *C. formosana* 菌感染黄粉虫 *Tenebrio molitor* L. 形成菌索。我们实验室利用大蜡螟 *Galleria mellonella* 幼虫也成功培植出蛹虫草子实体(韩日畴等,2006)。

对于冬虫夏草的人工培养,据报道沈南英等(1983)在人工条件下获得冬虫夏草有性子实体;俞永信等(2004)也宣称培养出与天然完全相似的冬虫夏草;青海、四川等地的研究所经过几十年的探索,也基本掌握了冬虫夏草菌及其寄主蝙蝠蛾的生活史,并在高海拔地区取得了培育冬虫夏草菌有性型的经验(陈仕江等,2010);重庆中药研究院、中国科学院西双版纳热带植物园、中山大学等利用人工或半人工栽培的方法在虫草产

区培养冬虫夏草获得了一定的成功。遗憾的是以往所描述的成功重复性差(张姝等,2013; Zhou *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2014)。可喜的是,经过不懈的努力,最近在冬虫夏草人工培养领域取得了突破。首先是冬虫夏草菌的研究及培育,尽管目前冬虫夏草正确的无性型仍存在争议,但广东省昆虫研究所(曹莉和韩日畴,2014a; Cao *et al.*, 2015)和兰州交通大学(李建宏,2013)已取得突破,于人工培养基上成功获得具有子囊孢子的子实体。

特别是广东省昆虫研究所,于广州低海拔实验室从四川、云南、青海分离获得冬虫夏草菌,并在米饭培养基中成功培育出冬虫夏草子实体,所培育的子实体长4-12 cm,子实体棒状、不分枝、灰褐色,与野外采集的冬虫夏草的子实体形态相似(图6);多次重复可稳定培育出子实体,四川、云南、青海菌株的出草率分别为50%-67%、30%-35%、3%-5%(曹莉和韩日畴,2014a; Cao *et al.*, 2015)。同时,广东省昆虫研究所在冬虫夏草菌侵染蝙蝠蛾幼虫技术方面也取得进展,于室内以冬虫夏草菌感染蝙蝠蛾幼虫成功获得冬虫夏草子实体(图7)。



图6 人工培养基上培育出的冬虫夏草菌子实体(引自Cao *et al.*, 2015)

Fig. 6 The fruiting bodies of *Ophiocordyceps sinensis* cultured in artificial media (Cao *et al.*, 2015)



图7 人工条件下冬虫夏草菌感染蝙蝠蛾幼虫形成的冬虫夏草子实体

Fig. 7 The fruiting bodies of *Ophiocordyceps sinensis* from the infected host larvae

6 冬虫夏草的化学成分和药效作用

6.1 化学成分和生物活性

冬虫夏草化学成分包括糖类和糖衍生品、核苷酸和核苷、甾醇类、脂肪酸及其衍生物、蛋白质、环二肽、氨基酸、虫草酸、聚胺类、挥发性成分、有机酸、维生素与无机元素等 (Sharma, 2004; Zhao *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2015)。棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸和麦角甾醇是天然冬虫夏草和人工培养冬虫夏草的主要成分, 然而, 天然冬虫夏草中棕榈酸和油酸的含量远高于人工培养虫草 (Yang *et al.*, 2009)。天然冬虫夏草的虫体、子实体和人工发酵的冬虫夏草菌丝中的蛋白质、脂肪、碳水化合物等主要成分的含量差异较大 (Lo *et al.*, 2013)。发酵菌丝中的碳水化合物含量为 39.4%, 而天然冬虫夏草虫体和子实体中碳水化合物含量则低些, 分别为 24.20% 和 24.9% (Hsu *et al.*, 2002)。在蛋白质和脂肪含量方面, 发酵菌丝 (分别为 14.8% 和 6.63%) 则低于而天然冬虫夏草虫体 (分别为 29.1% 和 8.62%) 和子实体 (分别为 30.4% 和 9.09%) (Hsu *et al.*, 2002)。但是, Smirnov 等 (2009) 发

现冬虫夏草菌丝中含有高量的蛋白质 (29%), 低量的脂肪 (7%), 结果与其他研究类似。他们还发现菌丝中含有丰富的胞内多糖 (15%)、磷脂 (占总脂类 28%)、不饱和脂肪酸 (C18:1 占总脂肪酸 44%, C18:2 占总脂肪酸 53%)。在粗脂肪、粗蛋白、总氨基酸和必需氨基酸含量方面, 含量由高至低顺序如下: 摇瓶培养菌丝 > 深层培养菌丝 > 天然冬虫夏草子实体 (Li *et al.*, 2006)。深层培养菌丝的不饱和脂肪酸含量占总脂肪酸的 65.9%, 明显低于天然冬虫夏草子实体 (86.9%) 和摇瓶培养菌丝 (76.5%); 深层培养菌丝的四核苷 (腺苷、鸟苷、鸟苷和肌苷) 总量为 6.20 mg/g, 显著高于天然冬虫夏草子实体 (1.80 mg/g) 和摇瓶培养的菌丝 (1.60 mg/g)。此外, 无性型菌胞内多糖的糖含量和蛋白含量分别是 92.7% 和 5.2%, 胞内多糖由单糖甘露糖、半乳糖和葡萄糖以 4.0:8.2:1.0 摩尔比组成, 分子量是 23 kDa (Li *et al.*, 2006)。固体培养和深层发酵菌丝含 51 种挥发性化合物, 其中酚类、酸类和烷烃为主要化合物, 丁羟基甲苯含量最高, 固体培养和深层发酵菌丝的丁羟基甲苯含量分别占总挥发性化合物的 47.38% 和 46.12% (Yu *et al.*, 2012)。

目前, 已报道的冬虫夏草菌丝、培养液、菌核、子实体等各种材料的生物活性成分 20 多种, 包括核苷类 (腺苷、鸟苷、核酸碱基、核苷酸、虫草素)、多糖类 (胞外多糖、胞内多糖、CPS-1、CPS-2)、甾醇类 (麦角甾醇、HI-A 甾醇、其他甾醇)、虫草酸、蛋白质 (酸脱氧核糖核酸酶 CSDNase、丝氨酸蛋白酶 CSP)、氨基酸和多肽等; 已发现的生物活性 30 多种, 包括免疫调节、免疫抑制、抗补体、抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抗菌、护肝、补肾、抗糖尿病、降低胆固醇血症、抗动脉粥样硬化、抗血栓、降血压和舒张血管、护肺、防光、抗抑郁、抗骨质疏松、抗脑缺血损伤、平喘、抗疲劳、类固醇生成、红细胞生成、抗心律失常、抗衰老、睾酮分泌、镇静、预防和治疗肠部损伤、防止移植排斥反应和减轻狼疮等 (Lo *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2015)。

6.2 抑菌、抗炎、抗病毒作用

研究表明, 冬虫夏草的发酵液或提取物具有抗菌 (程显好和白毓谦, 1995; 魏涛等, 2002; 刘高强等, 2007)、抗炎 (吴友良和贡成良,

2003; 王峰等, 2009)、抗病毒 (Ohta 等, 2007; 王茂水, 2009; 刘彦威等, 2011) 等药效作用 (Liu *et al.*, 2015)。冬虫夏草对原核生物中的革兰氏阴性菌 (如大肠埃希菌) 和阳性菌 (如金黄色葡萄球菌)、芽孢杆菌 (如枯草芽孢杆菌、苏云金芽孢杆菌) 和非芽孢杆菌 (如鼻疽杆菌)、放线菌 (如链霉菌) 均有拮抗性, 但对酵母和丝状真菌没有抗菌活性 (程显好和白毓谦, 1995; 武忠伟等, 2008)。当用虫草水提取液对人工诱导致炎的小鼠实验时, 发现其具有明显的抗炎作用 (吴友良和贡成良, 2003); 用冬虫夏草菌粉给二甲苯致耳廓肿胀模型小鼠灌胃, 结果证实它具有抑制肿胀的抗炎效果 (王峰等, 2009)。研究还发现冬虫夏草提取物中具有抗流感病毒的活性, 可降低甲型流感病毒感染小鼠的病毒滴度 (毒力) (Ohta 等, 2007)、具有抗甲型流感病毒活性和人巨细胞病毒活性的功能 (王茂水, 2009)、对新城疫 (Newcastle disease ND; 又称亚洲鸡瘟) 病毒具有预防和抑杀作用, 而对细胞没有毒性 (刘彦威等, 2011)。

6.3 抗氧化作用

学者通过黄嘌呤氧化实验、溶血诱导实验、脂质过氧化实验等多种不同实验方法分析冬虫夏草提取液的抗氧化活性, 结果证实冬虫夏草具有高效的抗氧化活性, 可抑制羟基自由基诱导形成的丙二醛、抑制脂质过氧化和低密度脂蛋白氧化、减少胆固醇酯在巨噬细胞内的积累、消除 DPPH 自由基与螯合金属离子 (Yamaguchi *et al.*, 2000a, 2000b; Li *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2011; Dong and Yao, 2012; Rathor *et al.*, 2014; 赵聃聃等, 2015)。冬虫夏草菌的高效抗氧化活性与其含有超氧化歧化酶 (SOD)、D-甘露醇、粘多糖、核苷类物质、黑色素、酚类与黄酮类等化合物密切相关 (Yang *et al.*, 2011; Dong and Yao, 2012; Rathor *et al.*, 2014)。

6.4 抗肿瘤作用

冬虫夏草具有广泛的抗癌活性, 其提取物在体外可明显抑制、杀伤肿瘤细胞的活性。研究已发现, 冬虫夏草菌丝体提取物对小鼠肉瘤 (S-180)、小鼠肺癌 (Lewis)、小鼠乳腺癌 (MA-737) 等肿瘤细胞 (姜平等, 1982)、小鼠黑色素瘤细胞 (Wu 等, 2007)、早幼白血病 HL-60 癌细胞 (Matsuda 等, 2009)、肉瘤细胞 (Mei 等, 2014)、兔肝内部肿瘤细胞 (罗小平等, 2012) 等

具有抑制作用。冬虫夏草含有核苷类 (衍生物)、甾醇类和多糖类等物质与抗肿瘤活性有关。冬虫夏草抗肿瘤机制可能涉及到: 直接的细胞毒性, 诱导肿瘤细胞发生凋亡, 激活或增强免疫功能 (Zhang and Wu, 2007; Chen *et al.*, 2012)。肿瘤细胞的生长繁殖需要大量腺苷, 而冬虫夏草结构与腺苷相似, 能代替腺苷参与到肿瘤细胞的生长繁殖, 进而抑制肿瘤细胞的生长; 冬虫夏草还能直接通过抑制核酸、蛋白质的合成或葡萄糖跨膜转运而抑制肿瘤细胞的生长 (胡敏等, 2008)。Aghaei 等 (2012) 和 Otsuki 等 (2012) 发现腺苷能上调抑癌基因 p53 的表达, 阻滞细胞周期的进展, 诱导癌细胞发生凋亡。冬虫夏草还能通过调控 Bcl-2、Bxa 基因表达的水平进而诱导人乳癌细胞凋亡 (刘东颖等, 2007)。冬虫夏草也能通过诱导肿瘤细胞自噬, 而非细胞凋亡的途径, 呈浓度依赖性地降低胰腺癌 PANC-1 细胞的存活率 (曹鹏等, 2012)。

6.5 免疫调节作用

在正常或免疫功能低下时, 冬虫夏草可能增强机体的免疫功能; 在免疫增强状态下冬虫夏草又发挥免疫抑制作用, 显示出对免疫功能的双向调节作用。冬虫夏草的虫草多糖、麦角甾醇、D-甘露醇、腺嘌呤等化学物质, 对单核巨噬细胞、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞及自然杀伤 (natural killer NK) 细胞都有刺激活化作用, 在免疫调节功能上发挥了重要作用。Li 等 (2009) 发现天然冬虫夏草水分提取液通过树突细胞调节辅助 T 细胞 Th1/Th2 比例来调节免疫反应。冬虫夏草菌丝体分离出来的胞外多糖对小鼠体内的癌细胞具有抑制作用, 同时提高腹腔巨噬细胞的吞噬能力, 提高淋巴细胞的繁殖能力, 显著地提高免疫能力 (Zhang *et al.*, 2008; Yue *et al.*, 2013)。Wu 等 (2014) 从冬虫夏草中提取多糖-cordysinan, 它对巨噬细胞没有副作用, 可刺激巨噬细胞分泌细胞因子和趋化因子, 促进免疫细胞参与免疫应答。通过向培养基添加冬虫夏草菌丝提取液, 能增加多种细胞因子的表达、分泌, 消除外毒素 B 的抑制作用 (Kuo *et al.*, 2007)。冬虫夏草内多种活性物质在细胞免疫和细胞因子等方面协同参与提高免疫功能 (Zhou *et al.*, 2008)。

6.6 抗衰老作用

冬虫夏草菌能促进机体体液免疫功能、增强机体抵抗力以及改善机体功能, 从而有助于延缓

衰老。Ji 等 (2009) 研究了冬虫夏草对老鼠学习记忆及与年龄有关的酶活性的影响, 结果冬虫夏草提取物可提高与年龄有关的酶 (如 SOD、GSH-Px、过氧化氢酶) 活性, 降低衰老小鼠的脂质过氧化和单胺氧化酶的活性水平, 增强大脑功能及 D-半乳糖诱导的衰老小鼠的抗氧化酶的活性。黄可等 (2014) 发现, 冬虫夏草可改善糖尿病肾病大鼠的肾功能, 降低 ROS 及 MDA 水平, 提高 SOD 和 GPx 水平以及肾小管 Klotho 的表达, 表明冬虫夏草可通过抗氧化及抗衰老减轻肾小管损伤, 从而延缓糖尿病肾病进展。冬虫夏草的类固醇激素合成的诱导与抗衰老功能相关。Chen 等 (2010) 发现, 通过提高类固醇合成急性调节蛋白 mRNA 表达和线粒体电化学梯度, 冬虫夏草能增加类固醇睾丸间质细胞和改善雄性生殖功能。对去卵巢大鼠的实验表明, 冬虫夏草可减少血清碱性磷酸酶活性、耐酒石酸的酸性磷酸酶活性、干扰素- γ 的水平, 升高骨钙素和雌二醇水平, 从而具有抗骨质疏松活性 (Qi *et al.*, 2011, 2012)。冬虫夏草的防辐射活性与其延迟衰老功能相关, Liu 等 (2006) 发现冬虫夏草热水提取物可清除自由基, 把 8 Gy 全身照射小鼠的死亡时间中位数从 13 d 推迟至 20 d, 把 10 Gy 全身照射小鼠的死亡时间从 9 d 推迟到 18 d。

7 研究存在的问题与研究展望

冬虫夏草含多种生物活性物质, 具有多种药效作用, 备受国内外学者的关注, 经过国内外学者几十年的探索, 冬虫夏草的各方面研究均取得了可喜的进展。目前, 冬虫夏草的分类地位、无性型、昆虫寄主范围已明确, 生物学、遗传背景、化学与活性成分、药理药效功能等方面日趋明了, 其人工培养或栽培技术也日趋成熟。然而, 冬虫夏草的研究中仍存在着一些问题。

7.1 拉丁学名的命名与使用

尽管 2007 年起, 冬虫夏草重命名为 "*Ophiocordyceps sinensis*", 但仍较多文献依旧使用 "*Cordyceps sinensis*", 当用以 "*Ophiocordyceps sinensis*" 和 "*Cordyceps sinensis*" 为文章标题、摘要、关键词于 Scopus 数据库搜索 2008-2012 年的文献时, 分别搜索到 84 和 255 篇文献 (Lo *et al.*, 2013); 甚至最近, 还有多篇文献依旧使用 "*Cordyceps sinensis*" 为冬虫夏草的学名 (Liu

et al., 2015)。即使冬虫夏草的无性型已经确认为中国被毛孢 *H. sinensis*, 大多数文章依然使用术语 "*Cordyceps sinensis*"、"*Cordyceps*" 和 "*Cordyceps*" 来代表传统中药冬虫夏草。自 2013 年 1 月 1 号起, 国际藻类、真菌及植物命名法规规定 "一种真菌只能有一个名称", 将冬虫夏草菌无性型名字由 "*Hirsutella sinensis*" 更名为 "*Ophiocordyceps sinensis*" (Lo *et al.*, 2013)。这意味着, 天然冬虫夏草、有性型和无性型冬虫夏草菌将使用同一个拉丁学名。

7.2 研究材料的可靠性

已报道的冬虫夏草菌丝、培养液、菌核、子实体等各种材料的生物活性成分 20 多种, 生物活性 30 多种, 但是, 多数文章没有考虑到冬虫夏草菌的生物活性成分和生物活性与培养基和培养条件的关系 (Lo *et al.*, 2013)。低温条件下生长及生长缓慢是冬虫夏草菌的重要特征。有些文献使用的材料从其培养条件和培养时间分析可能不是真正的冬虫夏草菌, 因此, 尽管冬虫夏草相关的文献资料非常多, 但真正有科学价值、可靠的研究结果不多 (Dong and Yao, 2010)。在研究和文献分析中我们需高度重视研究材料的可靠性问题, 否则容易被用错误材料所得出的错误结果所误导。

7.3 冬虫夏草菌与寄主昆虫之间的关系

冬虫夏草真菌不能等同于天然冬虫夏草, 天然冬虫夏草是在自然条件下由冬虫夏草菌感染幼虫、致死后形成的子实体。寄主昆虫为冬虫夏草菌提供营养, 在适宜的气候和环境条件下形成子实体。深层发酵的冬虫夏草菌微观下形态可以视为菌丝, 没有子实体。天然冬虫夏草的冬虫夏草菌与其昆虫寄主之间的关系及其病理学、生态学依旧不清楚; 这些问题的明了将能促进冬虫夏草人工栽培的进程。

7.4 冬虫夏草的人工培育

由于生境特殊、价格昂贵和过度采挖, 野生冬虫夏草资源已濒临枯竭。为了保护青藏高原的生态环境、虫草资源, 同时让冬虫夏草为人类健康服务, 目前采用两条途径: 一是研发替代品, 如冬虫夏草和蛹虫草菌丝培养物; 二是冬虫夏草子实体甚至虫菌复合体的人工培养。实现第二种途径一直是冬虫夏草研究工作者的共同梦想。人工培育冬虫夏草需要克服四个里程碑式的关键技术: 一是培养具有感染力的冬虫夏草真菌; 二是规模化人工饲养蝠蛾寄主昆虫; 三是明晰冬虫夏

草菌侵染蝠蛾昆虫的机制; 四是冬虫夏草菌于人工培养基或侵染的蝠蛾幼虫中长出子实体及其相关机制。随着基因组测序的完成, 生物学、分子生物学、化学等领域技术手段的引入, 各领域科学家的联合攻关, 社会各界的重视, 以上技术日渐攻破, 冬虫夏草规模化人工栽培已不是梦想。

参考文献 (References)

- Au D, Wang L, Yang D, *et al.* Application of microscopy in authentication of valuable Chinese medicine I - *Cordyceps sinensis*, its counterfeits, and related products [J]. *Microscopy Research and Technique*, 2012, 75: 54 - 64.
- Aghaei M, Karami-Tehrani F, Panjehpour M, *et al.* Adenosine induces cell-cycle arrest and apoptosis in androgen-dependent and -independent prostate cancer cell lines, LNCap-FGC-10, DU-145, and PC3 [J]. *Prostate*, 2012, 72 (4): 361 - 375.
- Buenz EJ, Bauer BA, Osmundson TW, *et al.* The traditional Chinese medicine *Cordyceps sinensis* and its effects on apoptotic homeostasis [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, 96: 19 - 29.
- Cao L, Han RC (a). A method for artificial cultivation of fruiting bodies of *Ophiocordyceps sinensis* [P]. Chinese Patent Application, No. ZL201410289703. 0. 2014. [曹莉, 韩日畴 (a). 一种冬虫夏草子实体人工栽培方法 [P]. 专利号: ZL201410289703. 0. 2014]
- Cao L, Han RC (b). Artificial cultivation of host insects of *Ophiocordyceps sinensis* in low altitude areas [P]. Chinese Patent Application, No. ZL201410413333. 7. 2014. [曹莉, 韩日畴 (b). 一种冬虫夏草寄生昆虫蝙蝠蛾的人工低海拔饲养方法 [P]. 专利号: ZL201410413333. 7. 2014]
- Cao L, Ye Y, Han R. Fruiting body production of the medicinal Chinese caterpillar mushroom, *Ophiocordyceps sinensis* (Ascomycetes), in artificial medium [J]. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2015, 17 (11): 1017 - 1022.
- Cao P, Zhang ZZ, Cai XT, *et al.* Inhibiting proliferation of cultured *Cordyceps mcelium* and Natural *Cordyceps Snensis* on human pancreatic carcinoma PANC-1 cells [J]. *Journal of Medical Science in Central South China*, 2012, 40 (1): 6 - 10, 41. [曹鹏, 张真真, 蔡雪婷, 等. 蛹虫草菌丝体与冬虫夏草抑制人胰腺癌 PANC-1 细胞株增殖作用的比较研究 [J]. 中南医学科学杂志, 2012, 40 (1): 6 - 10, 41]
- Chen SJ, Yin DH, Dan Z, *et al.* Ecological investigation of Chinese caterpillar fungus (*Cordyceps sinensis*) in Naqu Tibet China [J]. *Journal of Southwest Agricultural University* (Natural Science Edition), 2001, 23 (4): 289 - 296. [陈仕江, 尹定华, 丹增, 等. 中国西藏那曲冬虫夏草的生态调查 [J]. 西南农业大学学报 (自然科学版), 2001, 23 (4): 289 - 296]
- Chen SJ, Yin DH, Li L, *et al.* Resources and distribution of *Cordyceps sinensis* in Naqu Tibet [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2000, 23 (11): 673 - 675. [陈仕江, 尹定华, 李黎, 等. 西藏那曲地区冬虫夏草资源及分布 [J]. 中药材, 2000, 23 (11): 673 - 675]
- Chen SJ, Yin DH, Zhong GY, *et al.* Study on the biology of adults parasite of *Cordyceps sinensis*, *Hepialus biruensis* [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2002, 27 (12): 893 - 895. [陈仕江, 尹定华, 钟国跃, 等. 冬虫夏草寄主比如蝠蛾成虫生物学特性研究 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27 (12): 893 - 895]
- Chen SJ, Zhong GY, Ma KS. Considerations on the sustainable utilization of *Ophiocordyceps sinensis* resource [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2010, 32: 44 - 47. [陈仕江, 钟国跃, 马开森. 冬虫夏草资源可持续利用的思考 [J]. 中国草地学报, 2010, 32: 44 - 47]
- Chen XQ, Liu BL, Zhao ZZ, *et al.* Studies on macroscopic and microscopic identification of *Cordyceps sinensis* and its counterfeits [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2011, 36 (9): 1141 - 1144. [陈小秋, 刘宝玲, 赵中振, 等. 冬虫夏草与其混淆品的性状及显微鉴别研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36 (9): 1141 - 1144]
- Chen W, Yuan F, Wang K, *et al.* Modulatory effects of the acid polysaccharide fraction from one of anamorph of *Cordyceps sinensis* on Ana-1 cells [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, 142 (3): 739 - 745.
- Chen YC, Huang BM. Regulatory mechanisms of *Cordyceps sinensis* on steroidogenesis in MA-10 mouse Leydig tumor cells [J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2010, 74 (9): 1855 - 1859.
- Chen YJ, Zhang YP, Yang YX, *et al.* Genetic diversity and taxonomic implication of *Cordyceps sinensis* as revealed by RAPD markers [J]. *Biochemical Genetics*, 1999, 37: 201 - 213.
- Chen YQ, Hu B, Xu F, *et al.* Genetic variation of *Cordyceps sinensis*, a fruit-body-producing entomopathogenic species from different geographical regions in China [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, 230 (1): 153 - 158.
- Cheng XH, Bai YQ. Preliminary study on antibacterial substances of *Cordyceps sinensis* mycelium and fermentation broth [J]. *Edible Fungal of China*, 1995, 14 (3): 37 - 38. [程显好, 白毓谦. 冬虫夏草菌丝体及发酵液中抗菌活性物质的初步研究 [J]. 中国食用菌, 1995, 14 (3): 37 - 38]
- National Pharmacopoeia Commission. Chinese Pharmacopoeia [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2010, 106: 682. [国家药典委员会. 中国药典 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010, 106: 682]
- Dong CH, Yao YJ. On the reliability of fungal materials used in studies on *Ophiocordyceps sinensis* [J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2011, 38: 1027 - 1035.
- Dong CH, Yao YJ. Isolation, characterization of melanin derived from *Ophiocordyceps sinensis*, an entomogenous fungus endemic to the Tibetan Plateau [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2012, 113 (4): 474 - 479.
- Ge F, Gui L, Li CR, *et al.* Studies on solid-state fermentation condition of *Hirsutella sinensis* anamorph of *Cordyceps sinensis* [J]. *Journal of Biology*, 2009, 26 (3): 22 - 25. [葛飞, 桂琳, 李春如, 等. 冬虫夏草无性型—中国被毛孢固态发酵条件的初步研究 [J]. 生物学杂志, 2009, 26 (3): 22 - 25]

- Guo YL, Xiao PG, Wei JC. On the biology and sustainable utilization of the Chinese medicine treasure *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G. H. Sung *et al* [J]. *Modern Chinese Medicine*, 2010, 12 (11): 3 - 8. [郭英兰, 肖培根, 魏江春. 论冬虫夏草生物学与可持续利用 [J]. *中国现代中药*, 2010, 12 (11): 3 - 8]
- Han RC, Liu XF, Cao L, Chen JH. The cultivation method of *Cordyceps militaris* fruiting body by infecting *Galleria mellifera* larvae [P]. Chinese Patent Application, No. ZL200610123355. 5. 2006. [韩日畴, 刘小芬, 曹莉, 等. 以大蜡螟幼虫培育的蛹虫草子实体及其培育方法 [P]. 国家发明专利, 专利号: ZL200610123355. 5. 2006]
- Hao JJ, Cheng Z, Liang HH, *et al*. Genetic differentiation and distributing pattern of *Cordyceps sinensis* in China revealed by rDNA ITS sequences [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2009, 40: 112 - 116. [郝剑瑾, 程舟, 梁洪卉, 等. 基于 rDNA ITS 序列探讨我国冬虫夏草的遗传分化及分布格局 [J]. *中草药*, 2009, 40: 112 - 116]
- He SQ, Wang SX, Luo JC, *et al*. The re-study for morphology of *Ophiocordyceps sinensis* and *Hirsutella sinensis* [J]. *Microbiology China*, 2011, 38 (11): 1730 - 1738. [何苏琴, 王三喜, 罗进仓, 等. 冬虫夏草和中国被毛孢形态学再研究 [J]. *微生物学通报*, 2011, 38 (11): 1730 - 1738]
- Hibbett DS, Binder M, Bischoff JF, *et al*. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi [J]. *Mycological Research*, 2007, 111 (5): 509 - 547.
- Hsu TH, Shiao LH, Hsieh C, *et al*. A comparison of the chemical composition and bioactive ingredients of the Chinese medicinal mushroom DongChongXiaCao, its counterfeit and mimic, and fermented mycelium of *Cordyceps sinensis* [J]. *Food Chemistry*, 2002, 78: 463 - 469.
- Hu M, Pi HM, Zheng YM. The chemical constituents and pharmacological actions of *Ophiocordyceps sinensis* [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2008, 19 (11): 2804 - 2806. [胡敏, 皮惠敏, 郑元梅. 冬虫夏草的化学成分及药理作用 [J]. *时珍国医国药*, 2008, 19 (11): 2804 - 2806]
- Huang K, Xie SH, An N, *et al*. The research of *Cordyceps* decrease the tubular damage through anti-oxidation and anti-aging in diabetic rats [J]. *Medical Innovation of China*, 2014, 11 (22): 15 - 17. [黄可, 谢淑华, 安宁, 等. 冬虫夏草通过抗氧化及抗衰老减轻糖尿病肾病大鼠肾小管损伤的研究 [J]. *中国医学创新*, 2014, 11 (22): 15 - 17]
- Ji DB, Ye J, Li CL, *et al*. Antiaging effect of *Cordyceps sinensis* extract [J]. *Phytotherapy Research*, 2009, 23 (1): 116 - 122.
- Jiang P, Huang SG, Wu GM. Study on the anti-tumor effects of *Cordyceps sinensis* in animal [J]. *Qinghai Medical Journal*, 1982, 3: 23 - 24. 姜平, 黄淑光, 吴国民. 冬虫夏草抗动物肿瘤作用的研究 [J]. *青海医药杂志*, 1982, 3: 23 - 24.
- Jiang Y, Yao YJ. Names related to *Cordyceps sinensis* anamorph [J]. *Mycotaxon*, 2002, 84: 245 - 254.
- Jiang Y, Yao YJ. Anamorphic fungi related to *Cordyceps sinensis* [J]. *Mycosystema*, 2003, 22 (1): 161 - 176. [蒋毅, 姚一建. 冬虫夏草无性型研究概况 [J]. *菌物系统*, 2003, 22 (1): 161 - 176]
- Jiang Y, Yao YJ. ITS sequence analysis and ascomatal development of *Pseudogymnoascus roseus* [J]. *Mycotaxon*, 2006, 94: 55 - 73.
- Jin GS, Wang XL, Li Y, *et al*. Development of conventional and nested PCR assays for the detection of *Ophiocordyceps sinensis* [J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2012, 52: 1 - 9.
- Jin WF, Wang J, Du SL, *et al*. Study on liquid fermentation of *Cordyceps sinensis* to produce extracellular polysaccharide [J]. *Bulletin of Fermentation Science and Technology*, 2007, 36 (3): 2 - 4. [全卫丰, 汪洁, 杜姝莲, 等. 冬虫夏草液体发酵产胞外多糖的研究 [J]. *发酵科技通讯*, 2007, 36 (3): 2 - 4]
- Kang S, Zhang J, Lin RC. Morphological and microscopic characteristics of Chinese caterpillar fungus [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2013, 48 (3): 428 - 434. [康帅, 张继, 林瑞超. 冬虫夏草的性状 [J]. *药学学报*, 2013, 48 (3): 428 - 434]
- Kepler RM, Sung GH, Harada Y, *et al*. Host jumping onto close relatives and across kingdoms by *Tyranicordyceps* (*Clavicipitaceae*) gen. nov. and *Ustilagoidea* (*Clavicipitaceae*) [J]. *American Journal of Botany*, 2012b, 99: 552 - 561.
- Kinjo N, Zang M. Morphological and phylogenetic studies on *Cordyceps sinensis* distributed in southwestern China [J]. *Mycoscience*, 2001, 42: 567 - 574
- Kirk PM, Cannon PF, David JC, *et al*. *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi* (10th Edition) [M]. Wallingford: CAB International, 2001, 1 - 655.
- Kumar R, Negi PS, Singh B, *et al*. *Cordyceps sinensis* promotes exercise endurance capacity of rats by activating skeletal muscle metabolic regulators [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, 136: 260 - 266.
- Kuo CF, Chen CC, Lin CF, *et al*. Abrogation of streptococcal pyrogenic exotoxin B-mediated suppression of phagocytosis in U937 cells by *Cordyceps sinensis* mycelium via production of cytokines [J]. *Food and Chemistry Toxicology*, 2007, 45 (2): 278 - 285.
- Lam KY, Chan GK, Xin GZ, *et al*. Authentication of *Cordyceps sinensis* by DNA analyses: Comparison of ITS sequence analysis and RAPD - Derived molecular markers [J]. *Molecules*, 2015, 20 (12): 22454 - 22462.
- Lei HQ. Studies on the relationship between the hydrothermal condition and the development of *Cordyceps sinensis* in Yushu [J]. *Qinghai Prataculture*, 1995, 4 (4): 19 - 20, 36. [雷豪清. 浅谈玉树州冬虫夏草生长与水热条件的关系 [J]. *青海草业*, 1995, 4 (4): 19 - 20, 36]
- Leung PH, Wu JY. Effects of ammonium feeding on production of bioactive metabolites (cordycepin and exopolysaccharides) in mycelial culture of a *Cordyceps sinensis* fungus [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 103: 1942 - 1949.
- Li C, Li Z, Fan M, *et al*. The composition of *Hirsutella sinensis*, anamorph of *Cordyceps sinensis* [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2006, 19: 800 - 805.
- Li CR, Peng F, Fan MZ, *et al*. Studies on liquid and solid culture conditions of *Hirsutella sinensis* strain RCEF0273, the anamorph of *Cordyceps sinensis* [J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2004, 31 (4): 460 - 465. [李春如, 彭凡, 樊美珍, 等. 中国被毛孢 RCEF0273 培养工艺的研究 [J]. *安徽农业大学学*

- 报, 2004, 31 (4): 460-465]
- Li CR, Xia CR, Lin YR, et al. *Hirsutella huangshanensis* sp. nov., the anamorph of *Cordyceps formosana* and its infection on *Tenebrio molitor* [J]. *Mycosystema*, 2005, 24 (3): 349-355. [李春如, 夏成润, 林英任, 等. 台湾虫草的被毛孢无性型新种及其对黄粉虫的侵染研究 [J]. 菌物学报, 2005, 24 (3): 349-355]
- Li CY, Chiang CS, Tsai ML, et al. Two-sided effect of *Cordyceps sinensis* on dendritic cells in different physiological stages. *Journal of Leukocyte Biology*, 2009, 85 (6): 987-995.
- Li JH. Construction of cDNA library of the initial period of fruit-body development for *Cordyceps sinensis* and analysis of expressed sequence tags (ESTs) [D]. Master's thesis for Lanzhou Jiaotong University, 2013. [李建宏. 冬虫夏草菌子实体发育起始阶段 cDNA 文库的构建及 ESTs 分析 [D]. 兰州交通大学硕士毕业论文. 2013]
- Li L, Yin DH, Tang GH. Relationship between illumination and growth of the stroma of *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 1993, 18 (2): 80-82, 124-125. [李黎, 尹定华, 汤国华, 等. 冬虫夏草子座生长发育与光照的关系 [J]. 中国中药杂志, 1993, 18 (2): 80-82, 124-125]
- Li ML, Yan SC, Yang W. Resource Entomology [M]. Beijing: China Forestry Publishing, 2014, 54-55. [李梦楼, 严善春, 杨伟. 资源昆虫学 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2004, 54-55]
- Li SP, Li P, Dong TTX, et al. Anti-oxidant activity of different types of natural *Cordyceps sinensis* and cultured *Cordyceps mycelia* [J]. *Phytomedicine*, 2001, 8 (3): 207-212.
- Li SS. Studies on the stroma development of *Cordyceps sinensis* and the molecular identification of its host species [D]. Guangzhou: Sun Yat-sen University, 2009. [李少松. 冬虫夏草子座发育观察及其寄主蝠蛾种质资源分子鉴别方法的研究 [D]. 广州: 中山大学, 2009]
- Li Y, Wang XL, Jiao L, et al. A survey of the geographic distribution of *Ophiocordyceps sinensis* [J]. *The Journal of Microbiology*, 2011; 49: 913-919.
- Liang HH, Cheng Z, Yang XL, et al. Genetic diversity and structure of *Cordyceps sinensis* populations from extensive geographical regions in China as revealed by inter-simple sequence repeat markers [J]. *Journal of Microbiology*, 2008, 46: 549-556.
- Liang ZQ. Flora Fungorum Sinicorum. Vol. 32. *Cordyceps* [M]. Science Press, Beijing. 2007, 1-190. [梁宗琦. 中国真菌志. 第三十二卷. 虫草属 [M]. 北京: 科学出版社, 2007, 1-190]
- Liang ZQ, Liu AY, Liu ZY. The development of ascospores in *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. [J]. *Acta Mycologica Sinica*, 1995, 14 (2): 148-152. 梁宗琦, 刘爱英, 刘作易. 冬虫夏草子座孢子的发育 [J]. 真菌学报, 1995, 14 (2): 148-152.
- Liu DY, Xie GR, Shi YR, et al. Effects of *Cordyceps sinensis* on induction of apoptosis and regulation of apoptosis related genes in breast cancer cell. *Journal of Tianjin Medical University*, 2007, 13 (2): 206-209. [刘东颖, 谢广茹, 史玉荣, 等. 冬虫夏草对乳腺癌细胞凋亡的诱导及相关基因表达的调控 [J]. 天
- 津医科大学学报, 2007, 13 (2): 206-209]
- Liu F, Zeng W, Zhang DL, et al. Comparative studies on the biological character of the *Hepialus* introduced [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2009, 20, 3128-3129. [刘飞, 曾纬, 张德利, 等. 引种冬虫夏草寄主昆虫的生物学特性比较研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20 (12): 3128-3129]
- Liu F, Wu XL, Yin DH, et al. Advance on the species and distribution of host insect of *Cordyceps sinensis* [J]. *Chongqing Journal of Research on Chinese Drugs and Herbs*, 2006, 1: 47-47. [刘飞, 伍晓丽, 尹定华, 等. 冬虫夏草寄主昆虫的种类和分布研究概况 [J]. 重庆中草药研究, 2006, 1: 47-47]
- Liu F, Wu XL, Yin DH, et al. Advances in the biology of the Chinese caterpillar fungus *Cordyceps sinensis* [J]. *Chongqing Journal of Research on Chinese Drugs and Herbs*, 2005, 51 (1): 45-52. [刘飞, 伍晓丽, 尹定华, 等. 冬虫夏草寄主昆虫的生物学研究概况 [J]. 重庆中草药研究, 2005, 51 (1): 45-52]
- Liu GQ, Wang XL, Yang Q, et al. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological actions of *Cordyceps sinensis* [J]. *Food Science and Technology*, 2007, 1: 202-205, 209. [刘高强, 王晓玲, 杨青, 等. 冬虫夏草化学成分及其药理活性的研究 [J]. 食品科技, 2007, 1: 202-205, 209]
- Liu LJ, Ma SY, Yuan BR. Pharmacological effects and clinical applications of Bailing capsule [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2004, 26: 493-496. [刘丽娟, 马世尧, 袁宝荣. 百令胶囊的药理作用及临床应用 [J]. 中成药, 2004, 26: 493-496]
- Liu TM. Studies on the cultivation of *Hirsutella sinensis*, cordycepin in mycelium and utilization of waste medium [D]. Sichuan: Master's Thesis of Sichuan Agriculture University, 2010, 1-59. [刘天美. 中国被毛孢的培养及其有效成分测定和废液综合利用研究 [D]. 四川农业大学硕士学位论文, 2010, 1-59]
- Liu WC, Wang SC, Tsai ML, et al. Protection against radiation-induced bone marrow and intestinal injuries by *Cordyceps sinensis*, a Chinese herbal medicine [J]. *Radiation Research*, 2006, 166 (6): 900-907.
- Liu XJ, Guo YL, Yu YX, et al. Isolation and identification of the anamorphic state of *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc [J]. *Acta Mycologica Sinica*, 1989, 8: 35-40. [刘锡璉, 郭英兰, 俞永信, 等. 冬虫夏草菌无性阶段的分离和鉴定 [J]. 真菌学报, 1989, 8: 35-40]
- Liu YW. Culture and identification of anamorph of *Cordyceps sinensis* and its anti-tumor mechanism [D]. Beijing: PhD Thesis of China Agricultural University. 2005, 1-111. [刘彦威. 2005. 冬虫夏草无性型培养与鉴定及其抗肿瘤机制的研究 [D]. 北京: 中国农业大学博士学位论文. 1-111.]
- Liu YW, Su JL, Han B, et al. Effects on determining mannitol content of mycelium of *Cordyceps Sinensis* by different culture condition [J]. *Food Science*, 2006, 27 (1): 90-92. [刘彦威, 苏敬良, 韩博, 等. 不同培养条件对冬虫夏草菌丝体甘露醇的影响 [J]. 食品科学, 2006, 27 (1): 90-92]
- Liu YW, Wang B, Liu N, et al. Effects of water extract from *Cordyceps sinensis* mycelium on anti-newcastle disease virus [J]. *Journal of Hebei University of Engineering (Natural Science Edition)*, 2011,

- 28 (2): 87–90. [刘彦威, 王斌, 刘娜, 等. 冬虫夏草菌丝体水提物的抗新城疫病毒作用 [J]. 河北工程大学学报 (自然科学版), 2011, 28 (2): 87–90]
- Liu Y, Wang J, Wang W, *et al.* The chemical constituents and pharmacological actions of *Cordyceps sinensis* [J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 575063. doi: 10.1155/2015/575063.
- Liu YX. The biological characteristics, domestication, mycelium fermentation of *Cordyceps sinensis* anamorph [D]. Guiyang: Master's thesis for Guizhou University, 2004. [刘永霞. 冬虫夏草无性型中国被毛孢生物学特性及驯化、菌丝体发酵研究 [D]. 贵阳: 贵州大学硕士学位论文, 2004]
- Liu ZY, Liang ZQ, Liu AY. Investigation on microcycleconidiation of ascospores and conidiogenous structures of anamorph of *Cordyceps sinensis* [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2003, 31 (1): 3–5. [刘作易, 梁宗琦, 刘爱英. 冬虫夏草子囊孢子萌发及其无性型观察 [J]. 贵州农业科学, 2003, 31 (1): 3–5]
- Liu TM. Studies on the cultivation of *Hirsutella sinensis*, Cordycepin in mycelium and utilization of waste medium [D]. Sichuang: Master's thesis for Sichuang Agricultural University, 2010, 1–59. [刘天美. 中国被毛孢的培养及其有效成分测定和废液综合利用研究 [D]. 四川: 四川农业大学硕士学位论文, 2010, 1–59]
- Lo HC, Hsieh C, Lin FY, *et al.* A systematic review of the mysterious caterpillar fungus *Ophiocordyceps sinensis* in Dong ChongXiaCao and related bioactive ingredients [J]. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 2013, 3 (1): 16–32.
- Lu Z, Shi P, He Y, *et al.* Review on natural enemies and diseases in the artificial cultivation of chinese caterpillar mushroom, *Ophiocordyceps sinensis* (Ascomycetes) [J]. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2015, 17 (7): 693–700.
- Luo XP, Liu X, Cao WT, *et al.* Study on the effect of transcatheter super-selective tumor-feeding intraarterial infusion of rabbit implanted VX2 hepatic tumor by *Cordyceps sinensis* [J]. *Chongqing Medicine*, 2012, 41 (31): 3246–3249. [罗小平, 刘曦, 曹闻挺, 等. 冬虫夏草经肿瘤滋养动脉插管注入对兔 VX2 肝癌模型的疗效研究 [J]. 重庆医学, 2012, 41 (31): 3246–3249]
- Macey N, Dhendup K, Cannon P, *et al.* *Thitarodes namnai* sp. nov. and *T. caligophilus* sp. nov. (Lepidoptera: Hepialidae), hosts of the economically important entomopathogenic fungus *Ophiocordyceps sinensis* in Bhutan [J]. *Zootaxa*, 2010, 2412: 42–52
- Mao XM, Zhao SM, Cao L, *et al.* The morphology observation of *Ophiocordyceps sinensis* from different origins [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2013, 35 (3): 343–353. [毛雄民, 赵世明, 曹莉, 等. 不同产地冬虫夏草无性型的形态观察 [J]. 环境昆虫学报, 2013, 35 (3): 343–353]
- Matsuda H, Akaki J, Nakamura S, *et al.* Apoptosis-inducing effects of sterols from the dried powder of culture mycelium of *Cordyceps sinensis* [J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2009, 57 (4): 411–414.
- Mei CY, Zhang Y, Mao XM, *et al.* The effects of culture parameters on the conidial germination and yields of *Ophiocordyceps sinensis* [J]. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 2013, 4 (4): 44–51.
- Mei YX, Yang W, Zhu PX, *et al.* Isolation, characterization, and antitumor activity of a novel heteroglycan from cultured mycelia of *Cordyceps sinensis* [J]. *Planta Medica*, 2014, 80 (13): 1107–1112.
- Mo MH, Chi SQ, Zhang KQ. Microcycle conidiation of *Cordyceps sinensis* and anamorph isolation [J]. *Mycosystema*, 2001, 20 (4): 482–485. [莫明和, 迟胜起, 张克勤. 冬虫夏草的微循环产孢及其无性型的分离 [J]. 菌物系统, 2001, 20 (4): 482–485]
- Nielsen ES, Robinson GS, Wagner DL. Ghost-moths of the world: a global inventory and bibliography of the Exoporia (Mnesarchaeoidea and Hepialoidea) (Lepidoptera) [J]. *Journal of Natural History*, 2000, 34 (6): 823–878.
- Ohta Y, Lee JB, Hayashi K, *et al.* In vivo anti-influenza virus activity of an immunomodulatory acidic polysaccharide isolated from *Cordyceps militaris* grown on germinated soybeans [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55 (25): 10194–10199.
- Otsuki T, Kanno T, Fujita Y, *et al.* A3 adenosine receptor-mediated p53-dependent apoptosis in Lu-65 human lung cancer cells [J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2012, 30 (1): 210–220.
- Pan XH, Gong CL, Zhu JZ. The artificial cultivation and application of silkworm *Cordyceps militari* [J]. *Jiangsu Sericulture*, 2002, 3: 21–24. [潘中华, 贡成良, 朱军贞. 蚕蛹虫草工厂化培育工艺及应用 [J]. 江苏蚕业, 2002, 3: 21–24]
- Qi W, Wang PJ, Guo WJ, *et al.* The mechanism of *Cordyceps sinensis* and strontium in prevention of osteoporosis in rats [J]. *Biological Trace Element Research*, 2011, 143 (1): 302–309.
- Qi W, Yan YB, Lei W, *et al.* Prevention of disuse osteoporosis in rats by *Cordyceps sinensis* extract [J]. *Osteoporosis International*, 2012, 23 (9): 2347–2357.
- Qiu Y, Cheng YL, Peng C, *et al.* Study on host insects of *Ophiocordyceps sinensis* [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2015, 26 (3): 720–722. [邱乙, 程元柳, 彭成, 等. 中国冬虫夏草寄主昆虫研究 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26 (3): 720–722]
- Rathor R, Mishra KP, Pal M, *et al.* Scientific validation of the Chinese caterpillar medicinal mushroom, *Ophiocordyceps sinensis* (Ascomycetes) from India: immunomodulatory and antioxidant activity [J]. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2014, 16 (6): 541–553.
- Shashidhar MG, Giridhar P, Sankar U, *et al.* Bioactive principles from *Cordyceps sinensis*: A potent food supplement – A review [J]. *Journal of Functional Food*, 2013, 5: 1013–1030.
- Sharma S. Trade of *Cordyceps sinensis* from high altitudes of the Indian Himalaya: Conservation and biotechnological priorities [J]. *Current Science*, 2004, 86: 1614–1619.
- Shen NY. Advance on the *Cordyceps sinensis* [J]. *Medicinal Fungi*, 1983, 1 (2): 85, 88. [沈南英. 冬虫夏草研究概况 [J]. 药用真菌, 1983, 1 (2): 85, 88]

- Shen NY, Zeng L, Zhang XZ, et al. The isolation of *Cordyceps sinensis* [J]. *Edible Fungi*, 1983, 5: 1-3. [沈南英, 曾璐, 张显耻, 等. 冬虫夏草真菌的分离 [J]. 食用菌, 1983, 5: 1-3]
- Smirnov DA, Shcherba VV, Bisko NA, et al. Some Biologically Active Substances from a Mycelial Biomass of Medicinal Caterpillar Fungus *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. (Ascomycetes) [J]. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2009, 11: 69-76.
- Sun C. The determination of quality parameters of *Ophiocordyceps sinensis* different origins [D]. Master's Thesis of Anhui University, 2015. [孙超. 不同产地冬虫夏草的质量参数测定 [D]. 安徽大学硕士论文, 2015]
- Sun C, Qiu XH, Cao L, et al. The determination of quality parameters of *Ophiocordyceps sinensis* from different origins [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2015, 37 (5): 1049-1054. [孙超, 丘雪红, 曹莉, 等. 不同产地冬虫夏草的质量参数测定 [J]. 环境昆虫学报, 2015, 37 (5): 1049-1054]
- Sung GH, Hywel-Jones NL, Sung JM, et al. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the *Clavicipitaceous* fungi [J]. *Studies in Mycology*, 2007, 57: 5-59.
- Tang L, Yu XB, Hao XC, et al. Optimizing fermentation nucleotides of *Cordyceps sinensis* by response surface method [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2005, 31 (11): 60-62. [汤蕾, 余晓斌, 郝学财, 等. 应用响应面法优化虫草发酵核苷类物质 [J]. 食品与发酵工业, 2005, 31 (11): 60-62]
- Tao Z, Cao L, Zhang Y, et al. Laboratory rearing of *Thitarodes armoricanus* and *Thitarodes jianchuanensis* (Lepidoptera: Hepialidae), hosts of the Chinese medicinal fungus *Ophiocordyceps sinensis* (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae) [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2015, 13: doi: 10.1093/jee/tov319.
- Tu YQ, Ma KS, Zhang DL. A new species of the genus *Hepialus* (Lepidoptera: Hepialidae) from China [J]. *Entomotaxonomia*, 2009, 31 (2): 123-126. [涂永勤, 马开森, 张德利. 蝙蝠蛾属 *Hepialus* 一新种记述 (鳞翅目: 蝙蝠蛾科) [J]. 昆虫分类学报, 2009, 31 (2): 123-126]
- Wang F, Wang L, Zhang CJ, et al. Anti-inflammation effects of Yunnan *Cordyceps Sinensis* [J]. *Journal of Kunming Medical University*, 2009, (2): 36-39. [王峰, 王玲, 张才军, 等. 人工培养云南冬虫夏草菌粉的抗炎效果的动物实验研究 [J]. 昆明医学院学报, 2009, (2): 36-39]
- Wang HS. The preliminary study on artificial rearing *Hepialus* spp. [J]. *Entomological Knowledge*, 2002, 2: 144-146. [王宏生. 冬虫夏草蝙蝠蛾人工饲养技术的初步研究 [J]. 昆虫知识, 2002, 2: 144-146]
- Wang MS. Antiviral activities of water extract from *Cordyceps sinensis* against HCMV [D]. Nanning: Guangxi Medical University, 2009, 1-72. [王茂水. 冬虫夏草水提取物抗人巨细胞病毒研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学硕士学位论文, 2009, 1-72]
- Wang XR, Lin S, Liu ZQ, et al. Research advances in artificial culture of *Ophiocordyceps sinensis* [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2015, 34: 34 (7): 1569-1574. [王晓瑞, 林善, 柳志强, 等. 冬虫夏草人工培养研究进展 [J]. 基因组学与应用生物学, 2015, 34 (7): 1569-1574]
- Wang XQ, Chen CQ, Zhang R. Artificial cultivation of *Cordyceps militaris* by using cicada pupa [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2002, 30 (6): 965, 968. [汪西强, 陈春秋, 张韧. 蝉蛹人工培育蛹虫草方法的研究 [J]. 安徽农业科学, 2002, 30 (6): 965, 968.
- Wang YC, Ko WS, Chang CC. Methods for making and compositions comprising fermentation products of *Cordyceps sinensis* [P]. US Patent App. 2009, 12/461, 304.
- Wang Z, Ma QL, Ma FQ, et al. Biological property of insect host *hepialus minyuancus* of *Cordyceps sinensis* (Berkeley) Saccrdo [J]. *Gansu Agricultural Science and Technology*, 2001a, 7 (7): 38-39. [王忠, 马启龙, 马福全, 等. 虫草寄主昆虫门源蝙蝠蛾的生物学特性研究 [J]. 甘肃农业科技, 2001a, 7 (7): 38-39]
- Wang Z, Ma QL, Qiao ZQ. Study on the isolation culture of *Cordyceps sinensis* (Berkeley) Saccrdo in Gansu province [J]. *Gansu Agricultural Science and Technology*, 2001b, 7 (7): 43-44. [王忠, 马启龙, 乔正强. 甘肃冬虫夏草菌分离培养研究 [J]. 甘肃农业科技, 2001b, 7 (7): 43-44.]
- Wang XL, Yao YJ. Host insect species of *Ophiocordyceps sinensis*: a review [J]. *ZooKeys*, 2011, 127: 43-59
- Wang W, Zhong YC, Zhou SN, et al. Studies on *Cordyceps sinensis* I. Confirmations of Chinese name and the insect hosts [J]. *Sun Yat-sen University Forum*, 1996, (2): 50-54. [王伟, 钟英长, 周世宁, 等. 中国虫草 *Cordyceps sinensis* 的研究 I. 名称和寄主的订正 [J]. 中山大学学报论丛, 1996, (2): 50-54]
- Wang SF, Zhu HX, Zhu P. The preliminary cultivation and observation on the vitality of *Hirsutella sinensis* [J]. *Edible Fungi China*, 2003, 22 (6): 4-6. [王淑芳, 朱慧新, 朱平. 中国被毛孢的初步培养与生活力的观察 [J]. 中国食用菌, 2003, 22 (6): 4-6.]
- Wei T, Wei WL, Gong XJ, et al. Investigation of the effects of *Cordyceps sinensis* mycelium on expectoration, cough, antibacterial and anti-inflammatory [J]. *Food Science*, 2002, 23 (3): 126-130. [魏涛, 魏威凛, 贡晓娟, 等. 冬虫夏草菌丝体镇咳、祛痰及抗菌消炎作用的研究 [J]. 食品科学, 2002, 23 (3): 126-130]
- Wei XL, Yin XC, Guo YL, et al. Analyses of molecular systematics on *Cordyceps sinensis* and its related taxa [J]. *Mycosystema*, 2006, 25: 192-202. [魏鑫丽, 印象初, 郭英兰, 等. 冬虫夏草及其相关类群的分子系统学分析 [J]. 菌物学报, 2006, 25: 192-202]
- Winkler D. Yartsa Gunbu (*Cordyceps sinensis*) and the fungal commodification of Tibet's rural economy [J]. *Economic Botany*, 2008, 62 (3): 291-305.
- Wu DT, Meng LZ, Wang LY, et al. Chain conformation and immunomodulatory activity of a hyperbranched polysaccharide from *Cordyceps sinensis* [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 110: 405-414.
- Wu JY, Zhang QX, Leung PH. Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Cordyceps sinensis* mycelium on various cancer cells in culture and B16 melanoma in C57BL/6 mice [J]. *Phytomedicine*, 2007,

- 14 (1): 43–49.
- Wu YL, Gong CL. Research on medical contents and pharmacological action of *Cordyceps sinensis* [J]. *Journal of Changshu College*, 2003, 17 (2): 65–69. [吴友良, 贡成良. 关于虫草的药用成分和药理作用的研究 [J]. 常熟高专学报, 2003, 17 (2): 65–69.]
- Wu ZW, Wang YB, Zhao XF, et al. Antibacterial activity of fermentation broth by *Cordyceps sinensis* and *Cordyceps militaris* [J]. *Journal of Microbiology*, 2008, 28 (4): 47–50. [武忠伟, 王运兵, 赵现方, 等. 冬虫夏草和蛹虫草发酵液抗菌活性研究 [J]. 微生物学杂志, 2008, 28 (4): 47–50.]
- Xiao YY, Chen C, Dong JF, et al. Morphological observation of ascospores of *Ophiocordyceps sinensis* and its anamorph in growth process [J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2011, 38 (4): 587–591. [肖岩岩, 陈超, 董建飞, 等. 冬虫夏草子囊孢子及其无性型在培养过程中的形态学观察 [J]. 安徽农业大学学报, 2011, 38 (4): 587–591]
- Xu HF. Ecological investigation of *Cordyceps sinensis* in Zaduo of Qinghai Province [J]. *Prataculture & Animal Husbandry*, 2007, 2: 30–34. [徐海峰. 青海杂多县冬虫夏草的生态调查 [J]. 草业与畜牧, 2007, 2: 30–34]
- Xu RY. Identification of *Cordyceps sinensis* [J]. *China Pharmaceuticals*, 2010, 19 (24): 69–70. [徐如英. 冬虫夏草的真伪鉴别 [J]. 中国药业, 2010, 19 (24): 69–70]
- Yamaguchi Y, Kagota S, Nakamura K, et al. Antioxidant activity of the extract from fruiting bodies of cultured *Cordyceps sinensis* [J]. *Phytotherapy Research*, 2000a, 14 (8): 647–649.
- Yamaguchi Y, Kagota S, Nakamura K, et al. Inhibitory effects of water extracts from fruiting bodies of cultured *Cordyceps sinensis* on raised serum lipid peroxide levels and aortic cholesterol deposition in atherosclerotic mice [J]. *Phytotherapy Research*, 2000b, 14 (8): 650–652.
- Yang FQ, Feng K, Zhao J, et al. Analysis of sterols and fatty acids in natural and cultured *Cordyceps* by one-step derivatization followed with gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2009, 49: 1172–1178.
- Yang DR, 1999. The regional and ecogeographical distribution of *Cordyceps sinensis* [J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 26 (Suppl.): 143–148. [杨大荣. 中华虫草的区域分布和生态地理研究 [J]. 安徽农业大学学报, 1999, 26 (增): 143–148]
- Yang DR, Li CD, Shen FR, et al. Study on the reproductive behavior of *Hepialus baimaensis* Liang [J]. *Zoological Research*, 1991, 12 (4): 361–365. [杨大荣, 李朝达, 沈发荣, 等. 白马蝠蛾生殖习性的研究 [J]. 动物学研究, 1991, 12 (4): 361–365]
- Yang DR, Li CD, Shu C, et al. Studies on the Chinese species of the genus *Hepialus* and their geographical distribution [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 1996, 39: 413–422. [杨大荣, 李朝达, 舒畅, 等. 1996. 中国蝠蛾属昆虫的种类和地理分布研究 [J]. 昆虫学报, 1996, 39: 413–422]
- Yang DR, Long YC, Shen FR, et al. Research on the ecology of Yunnan *Hepialids* I. Regional and ecogeographical distribution [J]. *Zoological Research*, 1987, 8 (1): 1–11. [杨大荣, 龙勇诚, 沈发荣, 等. 云南虫草蝠蛾生态学的研究—I 区域分布和生态地理分布 [J]. 动物学研究, 1987, 8 (1): 1–11]
- Yang DR, Peng YQ, Chen JY, et al. Advance on the genus *Hepialus* – the host insect of Chinese caterpillar fungus *Ophiocordyceps sinensis* [C]. Annual Conference of Entomological Society of Yunnan Province, 2009. [杨大荣, 彭艳琼, 陈吉岳, 等. 中国冬虫夏草寄主—蝠蛾属昆虫研究进展 [C]. 云南省昆虫学会 2009 年年会论文集, 2009]
- Yang DR, Peng YQ, Chen JY, et al. The distribution pattern of *Cordyceps sinensis* in China and the response to environmental changes [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2010, 32 (Suppl.): 22–27. [杨大荣, 彭艳琼, 陈吉岳, 等. 2010. 中国冬虫夏草分布格局与环境变化对其分布的影响 [J]. 中国草地学报, 2010, 32 (增): 22–27]
- Yang ML, Kuo PC, Hwang TL, et al. Anti-inflammatory principles from *Cordyceps sinensis* [J]. *Journal of Natural Products*, 2011, 74: 1996–2000.
- Yang YQ, Duan JH. Discrimination of *Cordyceps sinensis* from the counterfeit [J]. *World Journal of Integrated Traditional and Western Medicine*, 2012, 7 (1): 31–33. [杨艳青, 段军华. 冬虫夏草与其伪品的鉴别 [J]. 世界中西医结合杂志, 2012, 7 (1): 31–33.]
- Ye BL, Lin Q, Wang HC. Preliminary research of *Cordyceps* resource in Qinghai province [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 1995, 18 (12): 606–607. [叶宝林, 林迁, 王慧春. 青海冬虫夏草资源初探 [J]. 中药材, 1995, 18 (12): 606–607]
- Yin DH, Chen SJ, Li L, et al. Study on the biological character of the host of *Cordyceps sinensis*, *Hepialus biruensis* in Tibet [J]. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, 2004, (2): 1–5. [尹定华, 陈仕江, 李黎, 等. 西藏冬虫夏草寄主比如蝠蛾生物学特性的研究 [J]. 特产研究, 2004, 2: 1–5]
- Yin DH, Zeng W, Ye DJ. Research progress in host insects of *Cordyceps sinensis* [J]. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, 1991, 3: 28–31. 尹定华, 曾伟, 叶代峻. 冬虫夏草菌寄主虫草蝠蛾的研究进展 [J]. 特产研究, 1991, 3: 28–31.
- Yin XW. Identification of *Cordyceps sinensis* anamorph and study of its growth characteristics. Master's Thesis of Shanghai Jiaotong University, 2009. [尹小武. 冬虫夏草无性型的鉴定和生长特征研究 [D]. 上海, 上海交通大学硕士学位论文, 2009]
- Yu S, Zhang Y, Fan M. Analysis of volatile compounds of mycelia of *Hirsutella sinensis*, the anamorph of *Ophiocordyceps sinensis* [J]. *Applied Mechanics and Materials*, 2012, 140: 253–257.
- Yu YX. Studies on artificial culture of *Cordyceps sinensis* [J]. *Journal of Fungal Research*, 2004, 2: 42–46. [俞永信. 人工培养冬虫夏草研究 [J]. 菌物研究, 2004, 2 (2): 42–46.]
- Yue K, Ye M, Lin X, et al. The artificial cultivation of medicinal caterpillar fungus, *Ophiocordyceps sinensis* (Ascomycetes): a review [J]. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2013, 15 (5): 425–434.
- Zhang GR, Gu DX, Liu X. A new species of *Hepialus* (Lepidoptera, Hepialidae) from China [J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 2007,

- 32 (2): 473–476. [张古忍, 古德祥, 刘昕. 2007. 中国蝠蛾属一新种 (鳞翅目, 蝠蛾科) [J]. 动物分类学报, 32 (2): 473–476]
- Zhang GR, Yu JF, WU GG, *et al.* Factors influencing the occurrence of *Ophiocordyceps sinensis* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31 (14): 4117–4125. [张古忍, 余俊锋, 吴光国, 等. 冬虫夏草发生的影响因子 [J]. 生态学报, 2011, 31 (14): 4117–4125]
- Zhang LJ, Li B, Hu YJ, Resource management of *Ophiocordyceps sinensis* in China [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2010, 32 (Suppl.): 1–5. [章力建, 李兵, 胡育骄. 中国冬虫夏草资源管理概况 [J]. 中国草地学报, 2010, 32 (增): 1–5]
- Zhang QX, Wu JY, *Cordyceps sinensis* mycelium extract induces human premyelocytic leukemia cell apoptosis through mitochondrion pathway [J]. *Experimental Biology and Medicine*, 2007, 232 (1): 52–57.
- Zhang S, Zhang YJ, Liu XZ. *et al.* On the reliability of DNA sequences of *Ophiocordyceps sinensis* in public databases [J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2013, 40: 365–378.
- Zhang S, Zhang YJ, Shrestha B, *et al.* *Ophiocordyceps sinensis* and *Cordyceps militaris*: Research advances, issues and perspectives [J]. *Mycosystema*, 2013, 32 (4): 577–597. [张姝, 张永杰, Shrestha B, 等. 冬虫夏草菌和蛹虫草菌的研究现状、问题及展望 [J]. 菌物学报, 2013, 32 (4): 577–597]
- Zhang W, Li J, Qiu S, *et al.* Effects of the exopolysaccharide fraction (EPSF) from a cultivated *Cordyceps sinensis* on immunocytes of H22 tumor bearing mice [J]. *Fitoterapia*, 2008, 79 (3): 168–173.
- Zhang YJ. Biology of the Chinese caterpillar fungus *Ophiocordyceps sinensis* [M]. Beijing: Science Press, 2012, 1–113. [张永杰. 冬虫夏草菌的生物学研究 [M]. 北京: 科学出版社. 2012, 1–113]
- Zhang YJ, Li EW, Wang CS, *et al.* *Ophiocordyceps sinensis*, the flagship fungus of China: Terminology, life strategy and ecology [J]. *Mycology*, 2012, 3: 2–10.
- Zhang YJ, Sun BD, Zhang S, *et al.* Mycobiotal investigation of natural *Ophiocordyceps sinensis* based on culture-dependent investigation [J]. *Mycosystema*, 2010, 29: 518–527. [张永杰, 孙炳达, 张姝, 等. 分离自冬虫夏草可培养真菌的多样性研究 [J]. 菌物学报, 2010, 29: 518–527]
- Zhang YJ, Xu LL, Zhang S, *et al.* Genetic diversity of *Ophiocordyceps sinensis*, a medicinal fungus endemic to the Tibetan Plateau: Implications for its evolution and conservation [J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2009, 9: 290.
- Zhang YJ, Zhang S, Wang M, *et al.* High diversity of the fungal community structure in naturally-occurring *Ophiocordyceps sinensis* [J]. *PLoS ONE*, 2010, 5: e15570.
- Zhang YW, Chen YJ, Shen FR, *et al.* Study of genetic divergence in *Cordyceps sinensis* and *C. crassispora* from northwest of Yunnan by using RAPD [J]. *Mycosystema*, 1999, 18: 176–183. [张云武, 陈永久, 沈发荣, 等. 滇西北地区冬虫夏草和阔孢虫草的遗传分化研究 [J]. 菌物系统, 1999, 18: 176–183]
- Zhang ZJ, Ye M, Zhou ZJ, *et al.* Advance on the artificial rearing of host insects of *Cordyceps sinensis* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2009, 40 (Suppl.): 85–87. [张泽锦, 叶萌, 周祖基, 等. 冬虫夏草寄生昆虫饲养研究进展 [J]. 中草药, 2009, 40 (增): 85–87].
- Zhao DD, Huang LD, Suo FY, *et al.* Study on antioxidant activities of cultured *Ophiocordyceps sinensis* [J]. *Edible Fungi of China*, 2015, 34 (1): 65–69. [赵聃聃, 黄罗冬, 索菲娅, 等. 冬虫夏草菌培养物抗氧化活性研究 [J]. 中国食用菌, 2015, 34 (1): 65–69.]
- Zhao J, Xie J, Wang L. *et al.* Advanced development in chemical analysis of *Cordyceps* [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2014, 87: 271–289.
- Zhou MX. The distribution and utilization of *Cordyceps sinensis* resources in Gooluo state [J]. *Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2004, 34 (3): 37–38. [周明秀. 果洛州冬虫夏草资源分布及其利用 [J]. 青海畜牧兽医杂志, 2004, 34 (3): 37–38]
- Zhou X, Luo L, Dressel W, *et al.* Cordycepin is an immunoregulatory active ingredient of *Cordyceps sinensis* [J]. *American Journal of Chinese Medicine*, 2008, 36 (5): 967–980.
- Zhou XW, Li LJ, Tian EW. Advances in research of the artificial cultivation of *Ophiocordyceps sinensis* in China [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2014, 34: 233–243.
- Zhou YJ, Jiang MY, Jiang FX, *et al.* Influence of different nitrogen source on *Hirsutella sinensis* growth [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2013, 40 (18): 22–24. [周宇燊, 江明艳, 姜福星, 等. 不同氮源对中国被毛孢生长的影响 [J]. 广东农业科学, 2013, 40 (18): 22–24]
- Zhu HF. The host insect of Chinese “Insect Herb”, *Hepialus armoricanus* Oberthür [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 1965, 14 (6): 620–621. [朱弘复. 冬虫夏草的寄生昆虫是虫草蝙蝠蛾 [J]. 昆虫学报, 1965, 14 (6): 620]
- Zhu JS, Halpern GM, Jones K. The scientific rediscovery of an ancient Chinese herbal medicine: *Cordyceps sinensis* Part I [J]. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 1998, 4: 289–303.
- Zhu ZX, Xie F, Zhang N. Genetic diversity of *Ophiocordyceps sinensis* in Gansu Province based on inter-simple sequence repeat (ISSR) analyses [J]. *Mycosystema*, 2011, 30: 501–507. [朱子雄, 谢放, 张楠甘肃省冬虫夏草遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 菌物学报, 2011, 30: 501–507]
- Zou ZW, Liu X, Zhang GR. Revision of taxonomic system of the genus *Hepialus* (Lepidoptera, Hepialidae) currently adopted in China [J]. *Journal of Hunan University of Science and Technology: Natural Science Edition*, 2010, 25 (1): 114–120. [邹志文, 刘昕, 张古忍. 中国蝠蛾属 (鳞翅目, 蝠蛾科) 现行分类系统的修订 [J]. 湖南科技大学学报 (自然科学版), 2010, 25: 114–120]
- Zou ZW, Liu X, Zhang GR. Two new species of *Thitarodes* (Lepidoptera: Hepialidae) from Tibet in China [J]. *Pan-Pacific Entomologist*, 2011, 87: 106–113.