

四川省蝉花自然分布与生境因子研究

李昊杰,郑吉阳,王 敦*

(西北农林科技大学 昆虫学研究所,陕西 杨陵 712100)

摘 要:对四川省蝉花资源分布进行调查,并分析蝉花自然分布与海拔、林地类型、光照、温度、坡度、相对湿度的相关性。结果发现,四川省蝉花自然分布区域有绵阳市安州区、北川羌族自治县通、乐山市犍为县、南充市蓬安县和金城山等地。先后分离获得蝉花菌分离株 20 株,经过分子鉴定蝉花种类分别为大蝉草和小虫草。相关生态因子分析发现,四川省蝉花生长密度与海拔没有相关性;四川省蝉花生长密度与光照强度、温度、坡度、相对湿度存在显著相关性。其中蝉花生长密度与光照强度正相关,但随着温度、坡度、相对湿度的升高呈现出先增加后减少的趋势。该研究首次对蝉花资源自然分布及其影响因子进行探索,对于深入了解蝉花的生物学及人工培育提供了重要的科学基础。

关键词:蝉花;四川;自然分布;生长密度;环境因子

中图分类号:S567.39

文献标志码:A

文章编号:1001-7461(2023)02-0180-05

Research of Natural Distribution and Habitat Factors of *Cordyceps cicadae* in Sichuan Province

LI Hao-jie, ZHENG Ji-yang, WANG Dun*

(Institute of Entomology, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China)

Abstract: The natural distribution of *Cordyceps cicadae* in Sichuan Province was investigated and its correlation with environmental factors was analyzed with altitude, forest type, sunlight intensity, temperature, slope and humidity. The *C. cicadae* in Sichuan naturally distributed in mountainous regions in Anzhou District and Beichuan County of Mianyang City, Qianwei County of Leshan City, Peng'an County and Jincheng Mountain of Nanchong City. Totally 20 isolates were collected and isolated. The identification indicated that the isolates belonged to two species, *Cordyceps cicadae* and *Ophiocordyceps sobolifera*. Among environmental factors, the altitude was not correlated with *C. cicadae* distribution density while the sunlight intensity, temperature, slope and humidity were significantly correlated with the density. The distribution density was positively correlated with the sunlight intensity and it increased and then decreased following the raising of temperature, slope and humidity. This study first reported of natural distribution and its environmental factors for *C. cicadae* resource and it might provide a basis for understanding the biology and artificial culture of *C. cicadae*.

Key words: *Cordyceps cicadae*; Sichuan Province; natural distribution; distribution density; environmental factor

蝉花,为麦角菌科真菌大蝉草 *Cordyceps cicadae* Shing 的无性型蝉拟青霉 *Paecilomyces cicadae*

(Miquel) Samson 寄生在竹蝉 *Platylomia pili*、蟋蟀 *Platyleura kaempferi*、山蝉 *Cicada flammata*、

收稿日期:2022-02-04 修回日期:2022-06-09

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFD0600202-03)。

第一作者:李昊杰。研究方向:资源昆虫。E-mail: hulkyl_li@foxmail.com

* 通信作者:王 敦,博士,教授。研究方向:昆虫与微生物资源利用与害虫生物防治。E-mail: dunwang@foxmail.com

黑蚱 (*Cryptotympana pustulata*) 和小鸣蝉 (*Oncotympana maculatieollis*) 等若虫上的真菌孢梗束或子座及幼虫尸体的干燥复合体^[1], 别称蝉蛹草、蝉茸、胡蝉和蛴等, 与冬虫夏草同属于菌物界、真菌门、子囊菌纲、麦角菌目、麦角菌科、虫草属^[2]。蝉花主要产于江苏、浙江、福建、四川、西藏等地^[3]。蝉花在我国很早就已经开始作为药材使用, 其药用始载于南北朝时期的《雷公炮炙论》, 比冬虫夏草要早 800 a。蝉花具有多方面的药用价值, 宋代《证类本草》上记载它具有主治小儿天吊、夜啼心悸、祛风止痉, 治疗麻疹、目赤、多泪的功效^[4], 而现代医学研究表明蝉花内含虫草素、虫草酸和多球壳菌素等多种活性成分, 具有治疗肾衰、增强免疫功能、抗疲劳和抗肿瘤等药理活性^[5-6]。蝉花虫草具有较高的潜在价值, 但是自然界蝉花资源非常稀少, 加之由于大量的人类采集活动严重破坏了其生长环境, 使得野生蝉花资源的日趋减少。因此, 研究蝉花的基础生物学与自然分布影响因子并尽早实现蝉花的人工种植, 是保护野生蝉花资源的必要手段。

四川省位于中国内陆西南腹地, 地处长江上游, 四周与 7 个省(市、区)接壤, 其东部与重庆市相邻, 南部与云南、贵州相连, 西部与西藏自治区毗邻, 北接青海、甘肃、陕西省。全省总面积 48.6 万 km², 占全国土地面积的 5.06%, 辖 21 个市(州)、183 个县(市、区)。四川省是全国三大林区、五大牧区之一, 是生物多样性富集的地区, 其中就包括 18 属 160 余种竹种资源^[7-8], 而蝉花作为一种多生于竹林及针阔混交林带的大型真菌, 丰富的竹种资源便为蝉花的生长提供了得天独厚的自然条件。本研究系统调查了四川省蝉花产地, 并探讨了蝉花生长密度与其生长环境因素的关系。

1 材料与方法

1.1 调查地点选择

调查对象为蝉花虫草, 在文献中查找有记录的四川省蝉花产地, 包括宜宾市^[9]、北川羌族自治县、绵阳市^[10]。此外, 通过网上相关论坛查、网购平台等途径找没有文献记载的四川省蝉花产地, 包括乐山市和南充市, 并依次前往各个产地及周边县市进行调查。

1.2 样线及样地选择

根据各个产地的植被分布、海拔梯度变化及可行性在每个产地均设置 3 条样线, 样线间隔 > 10 km, 每条样线均贯穿山脚至山顶。采用蛇形路线法调查, 每条样线内均采用等距取样法选择 5 处样地 (5 m×5 m) 进行环境信息调查与蝉花生长密度调

查。在样线中发现蝉花, 则按照后续方法记录全部调查数据。

1.3 环境因素调查

分别用 GPS 定位仪、光度计、温湿度计、坡度计测量蝉花产地的各个样地海拔、光照强度、温度、湿度及坡度, 并计算每个样线的平均值。并详细记录每个样地的林分组成情况。

1.4 蝉花生长密度调查

在样地内计数蝉花株数, 5 个样地蝉花株数平均值即为该样线平均株数, 将蝉花的平均株数换算为 100 m² 中的蝉花株数即为该样线的蝉花生长密度。

1.5 数据统计分析

调查得到的数据用 Microsoft Excel 2019 进行统计分析, 用 IBM SPSS Statistics 23 进行 Pearson 相关性分析, 用 GraphPad Prism 8 进行回归分析并作图。

1.6 蝉花种类鉴定

将采集得到的蝉花根据 Masoudi 等^[11]的方法进行组织总 DNA 的提取。以提取的总 DNA 为模板, 进行扩增及测序, 引物采用真菌核糖体基因间隔区通用 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')。PCR 反应体系 (25 μL): ddH₂O 10.5 μL、2×Taq PCR StarMix with Loading Dye 12.5 μL、正反方向引物 (10 μmol/L) 各 0.5 μL、DNA 模板 1 μL。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 1 min, 35 个循环; 72 °C 10 min。用 1% 琼脂糖胶检测 PCR 扩增产物, 将 PCR 未纯化产物送至生物工程(上海)股份有限公司进行测序。将测序结果在 GenBank 中进行同源序列比对鉴定。

2 结果与分析

2.1 四川省蝉花自然分布情况

走访调查四川省有文献及网上资料记载的蝉花产地后, 最终确定了四川省的蝉花产地为绵阳市安州区铜钱村、北川羌族自治县通泉镇战斗村、乐山市犍为县双溪镇半边山、南充市蓬安县长乐镇、南充市蓬安县金城山森林公园, 其生境为苦竹林或针阔混交林带。各产地地理信息见表 1。

2.2 蝉花生长与环境因素相关性分析

在四川省 5 处已确定的蝉花产地进行了蝉花生长环境因素与生长密度走样线调查, 并记录了各个样线的环境因子数据与蝉花生长密度数据 (表 2)。

2.2.1 蝉花生长密度与海拔的回归分析 为了进一步探索蝉花生长密度 (Y) 与海拔 (X₁) 的关系, 对

海拔高度与蝉花生长密度进行回归分析(图 1)。选取 R^2 最大的曲线方程,但此时 $P>0.05$,因此蝉花生长密度与海拔不存在显著相关性。

表 1 四川省蝉花产地地理信息

Table 1 Geographical information of *Cordyceps cicadae* origin in Sichuan Province

	经度	纬度
绵阳市安州区铜钱村	104°20.983'E	31°39.417'N
北川羌族自治县通泉镇战斗村	104°32.485'E	31°45.985'N
乐山市犍为县双溪镇半边山	103°48.250'E	29°9.333'N
南充市蓬安县长乐镇混沅寺村	106°27.083'E	30°45.650'N
南充市蓬安县金城山森林公园	106°27.750'E	30°45.583'N

表 2 四川省蝉花产地环境信息与蝉花生长密度统计

Table 2 Environmental information and growth density of *C. cicadae* in Sichuan province

地点	海拔/m	光照强度/lx	温度/℃	坡度/(°)	相对湿度 (%)	蝉花生长密度/(株·100 m ⁻²)
绵阳市安州区铜钱村	760.8	1 214.00	28.87	11.5	78.33	35.6
	724.3	1 450.00	28.14	7.62	76.67	25.6
	745.6	1 244.00	26.12	7.73	77.62	28.0
北川县通泉镇战斗村	814.8	1 876.67	28.28	14.6	80.25	49.6
	858.0	2 259.00	26.78	12.1	79.75	41.6
	832.4	1 876.67	27.72	10.67	80.40	45.6
乐山市犍为县双溪镇	876.0	3 933.67	27.74	13.75	80.20	48.0
	877.0	3 360.00	26.34	7.73	81.72	38.4
	880.0	3 551.00	26.06	10.7	83.00	34.4
南充市蓬安县长乐镇混沅寺村	673.0	2 993.50	26.67	32.1	80.30	41.6
	694.0	3 260.50	26.54	28.33	79.50	42.4
	650.0	3 604.67	26.46	29.5	81.20	39.2
南充市蓬安县金城山	809.0	1 267.67	25.86	1.93	78.60	18.4
	785.5	1 367.00	25.40	1.84	78.00	13.6
	803.6	1 308.33	25.88	2.33	78.20	16.8

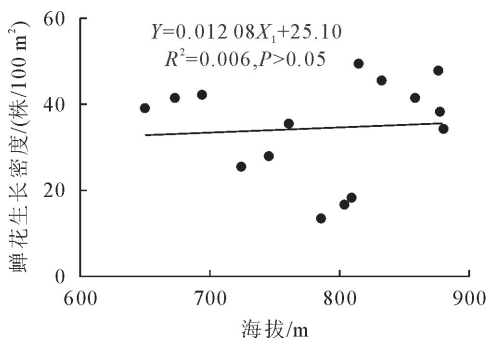


图 1 蝉花生长密度与海拔散点图

Fig. 1 Scatterplot of growth density of *C. cicadae* vs. elevation

2.2.4 蝉花生长密度与坡度的回归分析 对坡度(X_4)与蝉花生长密度(Y)进行回归分析,见图 4。保留决定系数 R^2 最大的曲线方程,该曲线为二次函数模型。回归分析表明蝉花生长密度与坡度具有相关性。蝉花生长密度随坡度的增加先增加后减少。

2.2.5 蝉花生长密度与相对湿度的回归分析 对相对湿度(X_5)与蝉花生长密度(Y)进行回归分析,

2.2.2 蝉花生长密度与光照强度的回归分析 探索蝉花生长密度(Y)与光照强度(X_2)的关系,对海拔高度与蝉花生长密度进行回归分析,见图 2。保留决定系数 R^2 最大, $P<0.05$ 的曲线方程,该曲线为一次函数模型。回归分析表明蝉花生长密度与海拔存在显著相关性。

2.2.3 蝉花生长密度与温度的回归分析 对温度(X_3)与蝉花生长密度(Y)进行回归分析,见图 3。保留决定系数 R^2 最大, $P<0.05$ 的曲线方程,该曲线为二次函数模型。回归分析表明蝉花生长密度与温度存在显著相关性。随着温度升高,蝉花生长密度先增加后减少。

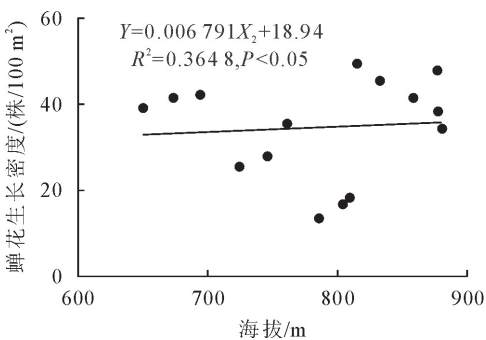


图 2 蝉花生长密度与光照强度散点图

Fig. 2 Scatterplot of growth density of *C. cicadae* vs. light intensity

见图 5。保留决定系数 R^2 最大的曲线方程,该曲线为二次函数模型。回归分析表明蝉花生长密度与坡度具有相关性。蝉花生长密度随相对湿度的升高,先增加后减少。

2.3 四川省蝉花生长密度与林分组成的关系

在调查各个样线时,对不同产地的林分组成进行了调查,调查数据如表 3。结果发现四川省的野生蝉花资源主要分布在竹林及针阔混交林中。其

中,竹林主要以毛竹为主,伴生有少量柳杉、棕榈、茶树等其他树种;针阔混交林中以针叶树木马尾松为主,伴生有少量木姜子、漆树、油桐、木姜子等阔叶树木。结合表 2 中各个产地的蝉花密度可知,蝉花是由毛竹、棕榈、茶树、杂灌等构成的林地中,具有较高的生长密度。

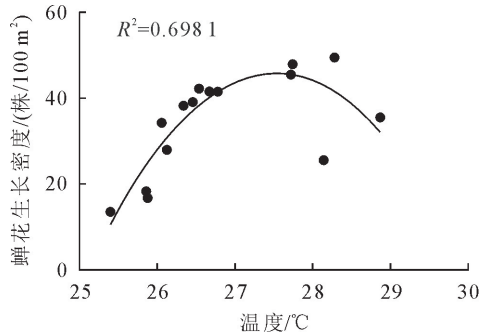


图 3 蝉花生长密度与温度散点图

Fig. 3 Scatterplot of growth density of *C. cicadae* vs. temperature

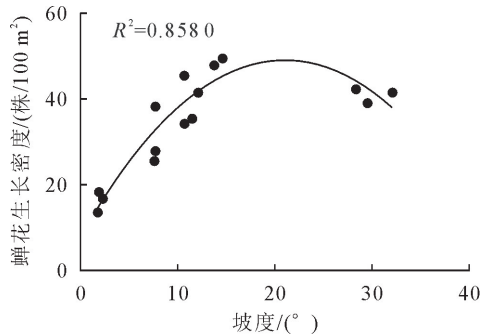


图 4 蝉花生长密度与坡度散点图

Fig. 4 Scatterplot of growth density of *C. cicadae* vs. slope

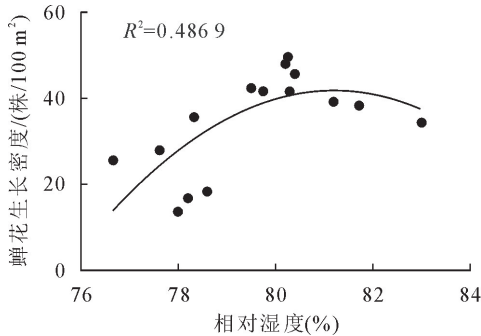


图 5 蝉花生长密度与相对湿度散点图

Fig. 5 Scatterplot of growth density of *C. cicadae* vs. relative humidity

2.4 四川省蝉花种类分布情况

从四川采集的蝉花样本中共分离获得蝉花分离株 20 株,经过分子鉴定这 20 株蝉花菌分属于 2 种蝉花:大 蝉 草 (*Cordyceps cicadae*) 和 小 虫 草 (*Ophiocordyceps sobolifera*)。采集地、分离株编号等具体信息详见表 3。

3 结 论

本研究确定了四川省具有 5 处产地,包括绵阳

市安州区、北川羌族自治区、乐山市犍为县、南充市蓬安县、南充市金城山。

四川省蝉花多生于竹林及针阔混交林带,在林分组成为毛竹:棕榈:茶树:杂灌=7:2:3:1 的林地中,具有较高的生长密度。

表 3 不同产地林分组成

产地	林分组成
绵阳市安州区铜钱村	毛竹:柳杉:杂灌=5:3:1
北川羌族自治县通泉镇战斗村	毛竹:棕榈:茶树:杂灌=7:2:3:1
乐山市犍为县双溪镇半边山	毛竹:柳杉:杂灌=18:1:1
南充市蓬安县长乐镇混沅寺村	马尾松:木姜子、漆树、木姜子:杂灌=4:3:1
南充市蓬安县金城山森林公园	马尾松:漆树、油桐=6:4

一共获得蝉花分离株 20 株,经过同源序列对比,其中绵阳市安州区、北川羌族自治区、乐山市犍为县的蝉花同属于麦角菌科虫草属真菌大蝉草 (*Cordyceps cicadae*),而南充市蓬安县、南充市金城山的蝉花属于线虫草科真菌小蝉草 (*Ophiocordyceps sobolifera*)。

四川省蝉花生长密度与光照、温度、坡度,以及相对湿度具有显著相关性。其中四川蝉花生长密度与光照呈线性递增关系;四川省蝉花生长密度与温度呈“驼峰形”,即四川省蝉花密度在 27~28℃存在 1 个峰值,峰值之前蝉花生长密度呈现上升趋势,之后则呈现下降趋势;四川省蝉花生长密度与坡度的关系同样呈“驼峰形”,其峰值位于 20°,生长密度达峰值之前蝉花生长密度呈现上升趋势,生长密度超过峰值之后蝉花生长密度则会呈现下降趋势;四川省蝉花生长密度与相对湿度的关系同为“驼峰形”,相对湿度在 80%~82%会使蝉花生长密度达到一个峰值,峰值之前呈上升趋势,超过峰值则会呈下降趋势。

4 讨 论

蝉花在我国多分布于长江以南的亚热带地区,且多位于低洼地带,主产于西南、东南沿海等地,例如安徽、浙江、云南、广东、陕西、江西、四川等省。四川省中有文献记载野生蝉花资源的地点包括宜宾市、北川羌族自治县、绵阳市,本研究在四川调查后发现,并没有在宜宾市发现野生蝉花资源,但在没有文献记载的南充市和乐山市均有发现。

据文献记载蝉花生境一般为竹林或针阔混交林,坡度为 30°~40°的向阳坡上,且具有明显的垂直分布状态,而四川省蝉花仅在阔叶林及针阔混交林中有发现^[12-13]。本研究在四川省内调查发现该省蝉花在竹林中也有出现,且四川省蝉花生境中的林分

表 4 四川省蝉花分离株信息
Table 4 Isolates of *C. cicadae* from Sichuan Province

产地	菌株号	物种	ITS 序列 GenBank 登录号
绵阳市安州区铜钱村	AZQ-TQC-1	<i>Cordyceps cicadae</i>	OM768261
	AZQ-TQC-2	<i>Cordyceps cicadae</i>	OM760679
	AZQ-TQC-3	<i>Cordyceps cicadae</i>	OM760731
	AZQ-TQC-4	<i>Cordyceps cicadae</i>	OM768260
北川羌族自治县通泉镇战斗村	TQZ-ZDC-1	<i>Cordyceps cicadae</i>	OM760572
	TQZ-ZDC-2	<i>Cordyceps cicadae</i>	OM760644
	TQZ-ZDC-3	<i>Cordyceps cicadae</i>	OM760647
	TQZ-ZDC-7	<i>Cordyceps cicadae</i>	OM760650
	TQZ-ZDC-10	<i>Cordyceps cicadae</i>	OM760658
	TQZ-ZDC-11	<i>Cordyceps cicadae</i>	OM760672
乐山市犍为县双溪镇半边山	SXZ-BBS-1	<i>Cordyceps cicadae</i>	OM760762
	SXZ-BBS-2	<i>Cordyceps cicadae</i>	OM768256
	SXZ-BBS-4	<i>Cordyceps cicadae</i>	OM760788
	SXZ-BBS-5	<i>Cordyceps cicadae</i>	OM760790
	SXZ-BBS-6	<i>Cordyceps cicadae</i>	OM768254
南充市蓬安县长乐镇混沅寺村	CLZ-HYS-1	<i>Ophiocordyceps sobolifera</i>	OM768257
	CLZ-HYS-2	<i>Ophiocordyceps sobolifera</i>	OM768262
南充市蓬安县金城山森林公园	JCS-1	<i>Ophiocordyceps sobolifera</i>	OM768255
	JCS-2	<i>Ophiocordyceps sobolifera</i>	OM768259
	JCS-3	<i>Ophiocordyceps sobolifera</i>	OM768258

组成情况以毛竹林为主,在针阔混交林带中生长地较少。在海拔上四川省蝉花生长情况并没有出现垂直分布状态,且四川省蝉花的生长密度与海拔并没有显著相关性;但其与光照强度、温度、湿度、坡度存在显著相关性。由此可见在不同地区,蝉花的生长条件存在一定的差异。地理位置的差异导致菌株生长条件的不同,同样出现在牯牛降自然保护区的大型真菌资源调查中,该研究显示真菌种群密度与温度、光照、湿度及植物种类组成有着密切的关系^[14]。四川省蝉花生长密度与海拔没有显著相关性,可能是人为因素造成的,在西双版纳保护区的蚁生线虫草有着相同的情况^[15],人为活动干扰大,从而引起蝉花寄主蝉的分布,从而影响到蝉花的分布,具体何种原因值得进一步探讨。

参考文献:

[1] ZENG W, YU H, GE F, *et al.* Distribution of nucleosides in populations of *Cordyceps cicadae*[J]. *Molecules*, 2014, 19(5): 6123-6141.

[2] 李建平, 张铁, 曾文波, 等. 蝉花虫草分类地位及其遗传多样性研究进展[J]. *中国食用菌*, 2019, 38(11): 1-5, 16.

[3] 韩清洁. 基于液质联用技术的蝉花和冬虫夏草中主要核苷类成分的比较及蝉花质量标准研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2017.

[4] 王琪, 刘作易. 药用真菌蝉花的研究进展[J]. *中草药*, 2004(4): 113-115.

[5] CHEN Y, YANG S, Hueng D, Syu J, *et al.* Cordycepin induces apoptosis of C6 glioma cells through the adenosine 2A receptor-p53-caspase-7-PARP pathway [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2014, 216: 17-25.

[6] JEONG J, JIN C, KIM G, *et al.* Anti-inflammatory effects of cordycepin via suppression of inflammatory mediators in BV2 microglial cells[J]. *International Immunopharmacology*, 2010, 10(12): 1580-1586.

[7] 张素兰, 张碧, 刘翔, 等. 四川省生态环境保护与绿色发展研究[J]. *环境生态学*, 2021, 3(11): 43-48.

[8] 孙鹏, 刘屈原, 李艳, 等. 四川竹林转型升级基础与潜力[J]. *四川林业科技*, 2017, 38(5): 13-17.

SUN P, LIU Q Y, LI Y, *et al.* Foundation and potentials of transformation and upgrading of bamboo industry in Sichuan [J]. *Journal of Sichuan Forestry Science and Technology*, 2018, 20(2): 145-151. (in Chinese)

[9] 史晓飒, 张洪梅, 刘自尧, 等. 不同产地蝉花药材 HPLC 指纹图谱研究[J]. *药物生物技术*, 2017, 24(6): 489-492.

[10] 刘腾飞, 史晓飒, 张洪梅, 等. PCR-DGGE 法分析不同产地蝉花真菌多样性[J]. *中药材*, 2017, 40(5): 1056-1060.

[11] MASOUDI A, KOPROWSKI J, BHATTARAI U, *et al.* Elevational distribution and morphological attributes of the entomopathogenic fungi from forests of the Qinling Mountains in China[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(3): 1483-1499.

[12] 王春雷, 芦柏震, 侯桂兰. 中国蝉花的研究进展[J]. *中国药学杂志*, 2006(4): 244-247.

[13] 曾文波, 王元兵, 虞泓, 等. 蝉棒束孢居群分布及生境调查[J]. *中国食用菌*, 2015, 34(4): 50-56.

[14] 柴新义, 盛硕, 于士军, 等. 牯牛降自然保护区大型真菌资源组成及分布[J]. *西北林学院学报*, 2018, 33(1): 193-201.

CHAI X Y, SHENG S, YU S J, *et al.* Composition and ecological distribution of wild macrofungus resources in Guniu-jiang Natural Reserve[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2018, 33(1): 193-201. (in Chinese)

[15] 郑亚强, 徐天梅, 王文倩, 等. 西双版纳自然保护区蚁生线虫草时空分布及寄主多样性[J]. *菌物学报*, 2021, 40(11): 2915-2925.