

DOI: 10.5846/stxb201710131833

徐梦, 徐明, 李仁强. 冬虫夏草生物学及生态学研究几个关键科学问题的研究进展与展望. 生态学报, 2019, 39(5): - .

Xu M, Xu M, Li R Q. Progress and prospects of several crucial aspects in the biological and ecological research on the Chinese caterpillar fungus, *Ophiocordyceps sinensis*. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(5): - .

冬虫夏草生物学及生态学研究几个关键科学问题的研究进展与展望

徐 梦¹, 徐 明^{1,2,*}, 李仁强¹

1 中国科学院地理科学与资源研究所生态系统网络观测与模拟重点实验室, 北京 100101

2 中国科学院大学资源与环境学院, 北京 100049

摘要:冬虫夏草是一种具有极高药用和食用价值的珍稀菌类,其生物学特性和可持续发展关键技术一直是冬虫夏草研究关注的重点。总结了冬虫夏草生物学及生态学中的几个重要科学问题,包括冬虫夏草菌感染蝙蝠蛾幼虫的途径及机制、冬虫夏草菌子实体形成及生长过程中的关键调控因子、冬虫夏草菌遗传多样性及基因组学研究、天然冬虫夏草及其微环境中的微生物群落组成、全球变暖背景下未来青藏高原地区的气候变化对冬虫夏草资源的影响等的研究进展,并分析了现有研究中尚未明确和不足之处。未来在冬虫夏草生物学及生态学的研究中,需要利用和研发更加先进的观测设备及试验方法,以实现天然冬虫夏草发生发育的原位观测和机理研究;充分利用冬虫夏草人工培植技术,结合分子生物学研究,从基因水平上揭示冬虫夏草菌生态适应性及感染蝙蝠蛾幼虫的机理;建立冬虫夏草科学研究基地,开展长期定位观测试验并结合生态学模型构建明确未来气候变化对冬虫夏草资源的影响,以期进一步深入冬虫夏草生物学和生态学研究、推进我国冬虫夏草资源的合理利用及可持续发展的政策制定。

关键词:冬虫夏草菌;发生发育;遗传多样性;基因组学;微生物群落;气候变化;可持续利用

Progress and prospects of several crucial aspects in the biological and ecological research on the Chinese caterpillar fungus, *Ophiocordyceps sinensis*

XU Meng¹, XU Ming^{1,2,*}, LI Rengqiang¹

1 Key Laboratory of Ecosystem Network Observation and Modeling, Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

2 College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: The Chinese caterpillar fungus, *Ophiocordyceps sinensis*, is well known for its great value in medical use and healthcare. As a consequence, research on the biological characteristics of *O. sinensis* and sustainable utilization of this valuable resource have received substantial efforts. There are several aspects in the biological and ecological research on *O. sinensis* that are particularly important, including the (1) pathways and mechanisms of how Hepialidae larvae are infected by *O. sinensis*; (2) predominant factors that regulate *O. sinensis* stroma formation and development; (3) *O. sinensis* genetic diversity and genomics; (4) microbial communities that inhabit the natural Chinese caterpillar fungus and their interaction with *O. sinensis*; and (5) impact of climate change on *O. sinensis* habitats in the Tibetan Plateau under global warming. The present review summarized the progress that has been achieved regarding these crucial aspects in the current research. Certain limitations in the current research that are not well understood or inadequately investigated were highlighted to

基金项目:青海省 2013 年科技促进新农村建设项目(2013-N-556), 中国博士后科学基金面上项目(2017M610975)

收稿日期:2017-10-13; 网络出版日期:2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: mingxu@ igsnr.ac.cn

motivate the biological and ecological research of *O. sinensis* in the future. Based on the thorough review, it was proposed that to maintain the sustainable utilization of natural Chinese cordyceps, the following aspects should be considered a priority in the future: (1) the development of advanced equipment and experimental techniques for *in situ* observation of colonization and sexual reproduction processes of *O. sinensis*; (2) determining the mechanisms underlying environmental fitness and pathogenicity of *O. sinensis* at the genomic level using molecular technology and artificial cultivation; and (3) predicting the impact of climate change on the distribution and yield of Chinese cordyceps by long-term field observation in combination with ecological models.

Key Words: *Ophiocordyceps sinensis*; occurrence and development; genetic diversity; genomics; microbial community; climate change; sustainable utilization

冬虫夏草是由线性虫草科 (*Ophiocordycipitaceae*) 的冬虫夏草菌 (*Ophiocordyceps sinensis*) 侵染蝙蝠蛾科 (*Hepialidae*) 昆虫的幼虫而形成的幼虫尸体 (菌核) 与真菌子座的复合体^[1-2]。冬虫夏草是我国二级保护物种, 主要分布在青海、西藏、四川、云南和甘肃五省 (自治区), 其中青海和西藏占全国冬虫夏草产量的 80% 以上。冬虫夏草含有多种生物活性物质, 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^[3], 是享誉中外的中、藏药和食用菌中的珍品, 与人参、鹿茸一起被尊为“中药三宝”。目前冬虫夏草已成为藏区重要支柱产业, 对藏区经济发展和民生稳定有重要意义。近年来随着市场对冬虫夏草的需求日益增加, 天然冬虫夏草资源的减少已成为不争的事实。一方面, 冬虫夏草的形成过程复杂且循环周期漫长^[4], 过度采挖极易造成资源枯竭; 另一方面, 人类活动及气候变化造成的生境变化会影响冬虫夏草的发生发育过程, 进而造成冬虫夏草资源分布及产量变化。因此, 如何维持天然冬虫夏草资源的可持续性发展, 已成为生态学及物种保护研究中的热点问题^[5]。

我国在冬虫夏草生物学及生态学研究处于世界领先水平, 在冬虫夏草的检测和鉴定^[6-8]、遗传多样性^[9-11]、冬虫夏草的生活史、生境及资源分布^[4, 12-13]以及冬虫夏草基因组研究^[14-15]等方面取得了很多成果, 冬虫夏草菌无性型培养、菌丝体深层发酵和寄主昆虫幼虫的人工饲养等技术日益成熟^[16-17]。通过建立研发生产基地、室内模拟青藏高原气候环境, 李文佳等^[18]实现了冬虫夏草的人工培植及产业化; 广东省昆虫研究所、中国科学院西双版纳热带植物园、中国科学院动物研究所等机构的科研人员成功的在寄主幼虫上培育出冬虫夏草子实体^[17, 19]。这些重要科研突破, 为冬虫夏草人工培植及产业化发展提供了关键的理论和技术支撑。针对冬虫夏草及冬虫夏草菌在真菌分类学研究和中药使用中长期存在的名称混用, 即对真菌-寄主幼虫复合体和冬虫夏草菌并没有严格区分, 制定了冬虫夏草相关中英文科学术语的使用规范建议^[4], 例如“冬虫夏草 (Chinese cordyceps)”指菌-虫复合体 (中药材使用部分), “冬虫夏草菌 (Chinese caterpillar fungus 或 Chinese cordyceps fungus)”指形成冬虫夏草的真菌 (*O. sinensis*)。此外, 为系统总结冬虫夏草研究进展, 专著《冬虫夏草菌的生物学研究》^[20]以及专刊 (例如《菌物学报》2016 年冬虫夏草专刊) 也已面世。这些研究成果为冬虫夏草物种保护、生态抚育和可持续利用夯实了基础。不过, 目前在冬虫夏草生物学及生态学研究中还有一些关键科学问题尚未十分明确, 例如冬虫夏草菌侵染蝙蝠蛾幼虫的过程以及子实体发生发育的生物学机制、天然冬虫夏草与其微环境中微生物群落相互作用关系、全球变暖背景下未来青藏高原地区的气候变化对冬虫夏草资源的影响等。本文对这些科学问题的研究进展进行了总结和分析, 并指出现有研究存在的不足, 以期为进一步开展冬虫夏草生物学及生态学研究、实现冬虫夏草资源的可持续发展提供参考。

1 冬虫夏草菌侵染蝙蝠蛾幼虫的途径及机理

作为典型的虫生真菌, 冬虫夏草菌可以通过表皮侵染途径感染寄主蝙蝠蛾幼虫, 其大致过程是: 冬虫夏草菌 (或中国被毛孢 *Hirsutella sinensis*, 冬虫夏草菌的无性型) 的子囊孢子粘附在蝙蝠蛾幼虫的体壁节间皱折处后长出微小芽管并侵染进入寄主幼虫血体腔; 芽管断裂形成长梭形的菌体并以顶端出芽的方式增殖分化, 互

相质配;质配菌体生长出菌丝充满寄主幼虫血体腔,破坏血淋巴系统,致使幼虫的新陈代谢机能完全丧失而死^[21-22]。冬虫夏草菌的表皮侵染途径主要发生在4—5龄幼虫刚蜕皮的时期,此时新嫩表皮极容易在进食爬行过程中损伤,同时血淋巴蛋白量显著降低^[21],利于冬虫夏草菌寄生感染。并且,荧光定量PCR(qPCR)检测发现冬虫夏草菌侵染贡嘎蝠蛾幼虫后类枯草杆菌蛋白酶基因表达量上调了2—3倍,说明冬虫夏草菌能够通过增加降解昆虫体壁的胞外蛋白酶的分泌进行表皮侵染^[23]。除了表皮侵染途径,冬虫夏草还可能通过口腔摄入感染蝙蝠蛾幼虫^[24]。这是由于冬虫夏草菌能够粘附甚至定殖在蝙蝠蛾幼虫喜食的植物根系中^[8,25],因此可以通过口器取食,从口腔经消化道内壁进入昆虫体内血腔这一途径进行侵染。雷桅等^[26]采用qPCR测定了冬虫夏草菌在蝙蝠蛾幼虫表皮、脂肪体、血淋巴和肠壁的定殖量,构建了起始于表皮及肠道这两种侵染路径的Holt模型,并推论冬虫夏草菌随口腔摄食侵染寄主幼虫的方式具有一定合理性,不过其发生可能伴随更多干扰因素。李文佳等^[27]通过荧光染色显微镜检发现蝙蝠蛾幼虫的消化道及呕吐物中均存在与血淋巴中形态相同且状态良好的冬虫夏草菌菌体,表明蝙蝠蛾幼虫肠道的生理环境可以维系并支撑冬虫夏草菌菌体某种形态的存在与生长。目前学术界对表皮侵染和口腔摄入(肠道侵染)这两种途径究竟哪种才是冬虫夏草菌感染蝙蝠蛾幼虫的主导机制并未达成一致。天然冬虫夏草发生的土壤中定殖着大量的冬虫夏草菌^[28],因此通过表皮感染蝙蝠蛾幼虫的机率较大,但是幼虫表皮的防护结构和免疫攻击也会限制冬虫夏草菌的入侵;而口腔取食途径不仅受到植物根系带菌丰度的影响,并且冬虫夏草菌在肠道内的生存还受到肠道生理环境的影响。此外,采样或观测时期也会影响对冬虫夏草菌侵染蝙蝠蛾幼虫的主导途径的判断。例如,Lei等^[29]发现在冬季蝙蝠蛾幼虫休眠期,冬虫夏草菌主要存在于幼虫的表皮和脂肪体,在血淋巴和肠壁存在很少,说明表皮侵染可能是这个时期的主要途径。而在夏季蝙蝠蛾幼虫取食及生长活跃期,Guo等^[30]发现寄主蝙蝠蛾幼虫头部的稳定性碳同位素组成值明显高于子座以及虫体其他部位,其原因可能是该部位真菌呼吸代谢作用较强而导致¹³C富集,由此推测头部是真菌侵染的主要部位。由于迄今为止尚无法在自然状态下观测到冬虫夏草菌侵染蝙蝠蛾幼虫的过程,未来研究中急需开发相应的观测设备及试验技术,例如原位显微摄影、稳定性碳同位素核酸探针示踪技术等,以有助于深入研究冬虫夏草菌感染蝙蝠蛾幼虫的途径和机制。

2 冬虫夏草发生发育过程的调控因子

冬虫夏草的发生发育过程实质上就是冬虫夏草菌侵染到寄主蝙蝠蛾幼虫后通过无性生殖过渡到有性生殖,从而完成其生活史的过程(图1)。在夏季,冬虫夏草菌的菌丝或分生(或子囊)孢子通过表皮接触或口器取食等途径侵染适龄蝙蝠蛾幼虫后,以无性生殖方式在活虫体内繁衍增殖,分解虫体内部器官组织;随着冬虫夏草菌逐渐充满整个虫体体腔,虫体僵化程度越来越高,最终死亡;冬虫夏草菌在虫体形成菌核,而虫皮则形成一层坚实的菌膜,能够保护菌核克服漫长寒冷的冬季环境的影响,并使幼虫尸体(即“冬虫”)保持完好无损。在适宜的条件下,冬虫夏草菌的有性生殖方式启动,在当年土壤冻结前从虫体头部长出短小的子座芽(子座原基);春末夏初,随着环境温度逐渐升高,冬虫夏草菌的子座继续生长并伸出土壤表面,形如小草,故名“夏草”。子座发育初期内部充实,后变中空,并且子座头部(产生子囊壳部分)逐渐膨大。六月下旬至七月上旬,子囊孢子成熟并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^[4]。

冬虫夏草菌主要分布在青藏高原3000—5000 m的高寒地带,对复杂多变的高寒生态系统的长期适应导致冬虫夏草菌的生长发育对温度十分敏感。研究表明,冬虫夏草菌在室内培养的最宜温度为15—18℃,而在野外冬虫夏草菌生长发育的适宜温度为7—12℃^[31-32]。研究发现,变温条件对冬虫夏草菌有性生殖阶段的发生起到至关重要的作用:冬虫夏草菌的子座只有在经过一段时间的低温(0—4℃)诱导后才能分化和形成^[33-34],这与植物的春化作用(vernalization)十分相似,然而调控这一过程的分子或者生化机制目前并不明确。另外,在低温条件下,冬虫夏草菌能够产生更多的无性分生孢子,这与分生孢子的抗逆性高于菌丝有关^[35]。这些经过低温刺激而产生的大量分生孢子能够为将来温度适宜时萌发增殖提供一个良好的生物量基础。

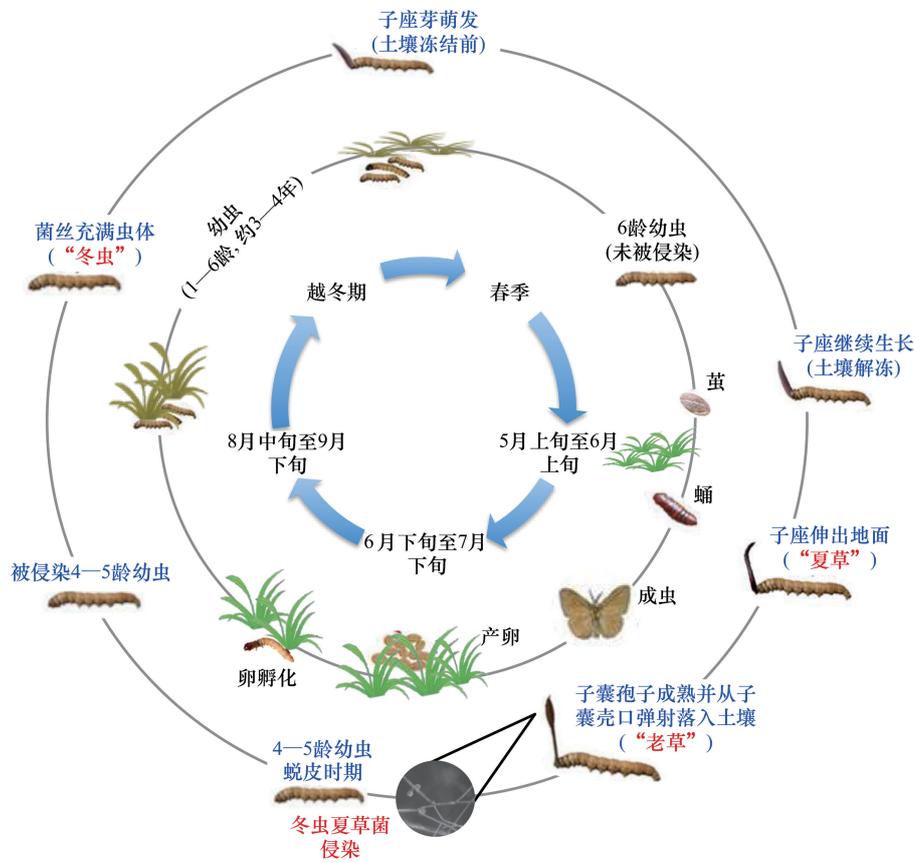


图1 冬虫夏草菌及蝙蝠蛾生活史

Fig.1 Life cycles of *Ophiocordyceps sinensis* and *Hepialidae* moth

环境水分对冬虫夏草发生发育过程的影响主要发生在冬虫夏草菌感染蝙蝠蛾幼虫及冬虫夏草菌子座(子实体)发育这两个阶段。适宜的土壤湿度有利于冬虫夏草菌子囊孢子及分生孢子萌发并感染寄主蝙蝠蛾幼虫。尤其是在每年蝙蝠蛾幼虫的第二次蜕皮高峰期(7月中下旬到8月上中旬),此时冬虫夏草菌的子囊孢子也从成熟的子实体上弹射出,适宜的土壤的含水量(40%以上)有利于子囊孢子渗入土壤并萌发,增加感染蝙蝠蛾幼虫的几率^[36]。冬虫夏草子座的生长发育需要较高的环境水分,最适的大气相对湿度为80%—95%,此时子座生长快速而肥大;当大气相对湿度低于70%时,子座的生长极慢甚至变干枯,从而无法完成正常的有性阶段^[31,37]。室内培养试验也表明,冬虫夏草菌子实体正常生长发育的最适大气相对湿度为95%—100%,基质含水量为60%—80%^[33]。

光照对冬虫夏草菌子座的分化形成几乎没有影响,但是显著影响子座的露土^[33]。光照的时间和强度能够影响冬虫夏草菌子座的生长速度、外部形态以及子囊的发育:光照强,时间长,子座生长缓慢但形体粗壮;光照弱或者照射时间不足导致子座徒长而细长,甚至停止生长;紫外线照射能够抑制子座徒长,并提高子囊孢子的萌发率^[38]。Yang等^[39]发现,可见光中的蓝光波段(455—492 nm)能够诱导冬虫夏草菌中WC-1蓝光受体蛋白含量显著上升,而WC-1受体蛋白可能在调控冬虫夏草菌有性发育及代谢过程中发挥了关键的作用^[40]。在自然环境出土的冬虫夏草,往往呈现出幼虫尸体头部接近土壤表层,虫体几乎垂直于(或稍倾斜)土壤面向下的状态,但是目前并不清楚天然冬虫夏草形成这种状态的原因。涂勇勤等^[33]认为子座具有向光性生长的特性,因此僵化前的幼虫会借助土壤中微弱的光线爬行到近土表1—3 cm处,将头向上然后僵化,以有利于子座出土。这个理论虽然能从一定程度上解释冬虫夏草呈现这种状态的原因,但是仍然需要进一步研究验证。首先,自然条件下冬虫夏草菌无性型向有性型的转化以及子座的分化形成的时间是在寄主幼虫僵化之前还是之后,目前并没有明确。其次,被感染的蝙蝠蛾幼虫向地表爬行是一种自主行为还是受到冬虫夏草菌的

调控?如果是受到冬虫夏草菌的调控,那么是通过何种信号物质(例如某种光受体蛋白)来达成的?这种信号物质又是如何调控被感染幼虫的肌肉活动?这些问题在未来对冬虫夏草发生发育过程的研究中需要更多的关注。

在自然环境中,土壤是冬虫夏草发生发育的主要场所。土壤环境对冬虫夏草发生发育的影响主要表现在:(1)直接或通过植物(即蝙蝠蛾幼虫的食物资源)间接影响寄主幼虫的活动、生长发育及种群数量;(2)通过影响被感染幼虫的环境条件而直接影响冬虫夏草菌增殖、子座的分化与生长、子囊壳的形成与成熟、子囊孢子的弹射等^[31]。土壤是由固、液、气三态物质组成的复杂生态环境,除了温度、湿度条件,其他土壤因素也可能对冬虫夏草的发生发育过程有重要影响。例如,在自然环境下冬虫夏草多发生在高原草甸黑褐壤土中,其土壤微团聚体间的联结比较疏松,有空隙性,透水好,有机质含量高,土壤 pH 为 5.0—6.5,呈微酸性^[12];土壤速效氮以及钾、磷等元素的含量能够影响冬虫夏草种群数量,但其影响程度随土壤深度而变化^[41-42];冬虫夏草发生环境中的微生物群落^[43-44]及植物激素等生物因素^[45]也可能对冬虫夏草的发生发育过程产生一定影响。上述这些环境因子在冬虫夏草的发生发育的哪个过程或阶段中发挥何种影响作用,还需要进一步研究以明确调控发生发育各阶段的主导因子。并且,在土壤这样一个复杂的生态环境中,各个因子几乎不可能单独影响冬虫夏草的发生发育过程,因此必需考虑土壤因子对冬虫夏草菌感染蝙蝠蛾幼虫及冬虫夏草菌有性生活史的综合影响,这也正是冬虫夏草生态学未来需要重点研究的问题。

3 冬虫夏草菌的遗传多样性和基因组学研究

冬虫夏草分布地区地形和气候的差异性导致冬虫夏草菌的遗传和分化表现出明显的地理分布差异。对冬虫夏草菌遗传多样性已经开展了多年的研究工作,早期使用随机扩增多态性 DNA (RAPD)^[46]以及简单序列重复间区扩增多态性 (ISSR)^[47-48]分析揭示了不同冬虫夏草地理群体间存在遗传分化,并推测冬虫夏草群体的遗传分化主要发生于南北方向,表现在不同纬度间。近年来,使用一些 DNA 片段例如核糖体 DNA 内转录间隔区 (rDNA-ITS)、交配型基因 (MAT1-2-1) 等作为分子标识物,除了揭示冬虫夏草的遗传多样性,还为冬虫夏草菌的起源和扩散^[9]、与寄主昆虫协同进化关系^[10-11,49]等问题提供了科学依据。研究表明,冬虫夏草菌的遗传分化程度随纬度梯度增加而增大,并且西藏南部(尤其是林芝地区)种群的遗传多样性最高,很可能是冬虫夏草菌的起源中心^[9];基于分子钟和生物地理演化分析的结果推测,冬虫夏草菌可能在约 2.26 千万年前起源于西藏南部地区,之后不断向青藏高原其他地区扩散并伴随着多种进化事件的发生^[49]。不过,Quan 等^[10]发现冬虫夏草菌在香格里拉地区(隶属于横断山脉地区)的遗传分化程度高于林芝地区,可能是冬虫夏草遗传多样性的起源中心。袁峰^[50]报道了冬虫夏草种群 ITS 单倍型首次分化发生在横断山区,并随着青藏高原不同部位的隆升顺序进行迁移:一部分种群从横断山区向青藏高原东部扩散到达现在的青海、甘肃一带,而另一部分种群则向青藏高原内部(主要是西藏地区)迁移。尽管目前对冬虫夏草菌的起源地没有达成统一认识,但不可否认的是青藏高原地质活动是造成和加剧冬虫夏草菌遗传分化的主要因素,尤其是西藏南部以及横断山区的地形地貌导致了严重的地理隔离,使得冬虫夏草种群的遗传分化在这一地区的遗传分化尤为剧烈。

最近,冬虫夏草的基因组学研究有了重大的突破,为从基因水平上解析冬虫夏草菌群体遗传分化、生态适应性等研究夯实了基础。Xia 等^[14]采用全基因组鸟枪法测序,获得了相对完整且高质量的冬虫夏草菌参考基因组图谱,并注释得到了 7939 个蛋白编码基因。该研究发现,在约 3.8 千万年前随着青藏高原的抬升,冬虫夏草菌 LTR 反转录转座子发生急速扩增,导致冬虫夏草菌基因组相比于其他低海拔近缘物种(如蛹虫草等)扩张了 3.4 倍;冬虫夏草基因组中与运输过程和能量代谢相关的蛋白编码基因大量丢失,而与抗低温密切相关的功能基因则大量扩增,这些特性都可能是冬虫夏草菌对高海拔寒冷和极端复杂的环境变化的重要响应。Kang 等^[51]采用单分子实时测序 (SMRT sequencing) 分析了冬虫夏草菌线粒体基因组的表观修饰模式,发现冬虫夏草菌线粒体 DNA 甲基化修饰在蛋白编码基因 (PCG) 的编码区和非编码区均有发生,从而影响氧化磷酸

化过程相关酶活性导致线粒体呼吸速率降低,或者影响线粒体的生物合成过程,这些特性很可能有助于冬虫夏草菌适应高海拔寒冷以及低氧分压环境。除了生态适应性,基因组学的研究还能对真菌致病性提供科学依据。研究发现,冬虫夏草菌中表皮降解蛋白酶(类枯草杆菌蛋白酶、胰蛋白酶等)的编码基因虽然显著少于其他昆虫病原菌^[52],但其所分泌的蛋白酶对特定寄主表皮的降解却更加高效^[14],并且表皮降解蛋白酶编码基因的减少也可能是冬虫夏草菌为了躲避寄主昆虫免疫系统的检测从而进化出的防御机制^[53]。此外,冬虫夏草菌中与真菌致病性相关的基因或基因家族(例如,过氧化物酶活性基因、丝氨酸水解酶编码基因、重金属蛋白酶基因、细胞色素 P450 基因和葡萄糖-甲醇-胆碱氧化还原酶等)发生了特异性的显著扩增^[14]。Zhong 等^[54]对冬虫夏草菌 RNA 测序发现,侵染蝙蝠蛾幼虫后冬虫夏草菌中与真菌毒素(mycotoxin)相关的基因(例如 Asp-haemolysin)表达显著上调,可能是导致寄主昆虫缓慢死亡的原因^[55];侵染蝙蝠蛾幼虫后 S-抗原蛋白和过敏源 Asp 相关基因表达显著下调,由于这些蛋白能够引起机体免疫反应并产生抗体,因此冬虫夏草很可能通过下调相关基因编码以避免诱发寄主昆虫的免疫攻击。目前对冬虫夏草菌的组学研究(基因组、转录组、蛋白组)极大的扩充了科研人员对冬虫夏草生物学和生态学的认知,尤其是人工培植技术的实现,为通过组学研究冬虫夏草菌特异性侵染机制、子实体发育等关键过程提供了有力的条件。未来研究除了提高测序深度和精度,还可以结合基因工程技术,进一步验证相关基因对冬虫夏草菌致病性以及生态适应性中发挥的作用。

4 天然冬虫夏草及其微环境中的微生物群落

在自然环境下,冬虫夏草的发生发育过程由冬虫夏草菌主导,同时也会伴随着多种微生物的生长。因此,梁宗琦等^[56]提出,应当把野生冬虫夏草作为“一个统一的微生物生态系统”来进行研究。许多研究结果都表明,天然冬虫夏草及其生长的微环境内具有较高的微生物多样性^[43-44,57-58]。张永杰等^[57]使用常规分离培养方法,从天然冬虫夏草的子座、菌核和菌膜 3 个部位共分离到 572 个真菌菌株。这些菌株根据形态鉴定属于 37 个不同的属,根据 nrDNA-ITS 序列的相似性分为 92 个 OTU;分离自子座的优势真菌是产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*),而分离自菌核和菌膜的优势真菌均为玫红假裸囊菌(*Pseudogymnoascus roseus*)。Xia 等^[58]使用高通量测序分析了天然冬虫夏草子实体、菌膜及其虫体周围土壤的真菌多样性,发现线性虫草属(*Ophiocordyceps*)是天然冬虫夏草子座及菌膜中的优势属,并且子座及菌膜中的微生物群落结构与虫体周围的土壤微生物群落有显著差别。冬虫夏草菌与其他寄生在蝙蝠蛾幼虫体内的微生物的相互作用关系不仅可能影响到寄主幼虫的生长及生理活性,也可能是冬虫夏草发生的关键机制之一。朱佳石等^[59]发现蝙蝠蛾拟青霉(*Paecilomyces hepiali*)和冬虫夏草菌共同存在于天然冬虫夏草中,并伴随其成熟过程发生动态变化。并且,利用 *P. hepiali* 两个分离菌株与 *H. sinensis* 分生孢子联合侵染蝙蝠蛾幼虫可大幅提高其感染效能,说明多菌协同侵染作用可能是冬虫夏草发生的重要环节^[60]。然而,从天然冬虫夏草中分离得到的 *P. hepiali* 菌株却在平板对峙试验中对冬虫夏草菌产生了明显较强的抑制作用,说明其在寄主蝙蝠蛾幼虫体内可能与冬虫夏草菌存在营养竞争的关系^[61]。由此可见,冬虫夏草菌与寄生在蝙蝠蛾幼虫体内的其他微生物群落的相互作用关系十分复杂,急需深入展开相关研究。由于共同寄生在同一微环境中的微生物群落往往能形成趋同的代谢成分和药理作用,从天然冬虫夏草中分离出的其他真菌资源是开发创新药物非常重要的生物来源^[4],因此值得深入探索和研究。此外,定殖在天然冬虫夏草内的细菌群落多样性也十分丰富^[43-44],但是这些细菌群落与冬虫夏草菌的相互作用关系、对冬虫夏草的子实体形成发育以及药理作用的影响仍然需要进一步研究。

5 未来气候变化对冬虫夏草资源分布及产量的影响

青藏高原作为“世界屋脊”,是全球气候变化最为敏感的区域之一。根据气象学家的观测结果,青藏高原的气候变化相对全球来看具有 5 年以上的超前变化趋势^[62],主要表现在气温升高速率显著高于中国和世界其他地区,以及降水总量在时间及空间上的不均匀分布。由于冬虫夏草菌和蝙蝠蛾都是长期适应高寒生态系

统的物种,气候变化必将对冬虫夏草的分布格局及资源量产生一定影响。据采集冬虫夏草的牧民反映,近年来冬虫夏草的分布区域有随海拔升高的趋势,并且逐渐由草甸向灌丛移动,而在低海拔地区的低洼处则出现了多个冬虫夏草聚集在一起产生的“虫草窝”。杨大荣^[63]考察发现,目前冬虫夏草主要产区的核心分布带位于海拔 4400—4700 m,较 30 年前上升 200—500 m,并且明显变狭窄。通过对青藏高原二十多座雪山连续多年观测的结果表明,冬虫夏草表现出明显的两极分布格局:个体大的冬虫夏草(干草>0.4 g/条)的分布上移到海拔 4600 m 以上,而个体小的冬虫夏草(干草<0.25 g/条)则下移到海拔 3900 m 以下的高山栎林及冷杉林中^[12]。造成这种两极分布格局的原因目前尚未明确,可能是由于:(1)蝙蝠蛾种群的生物地理分布具有垂直地带性^[36],而不同蝙蝠蛾物种的幼虫个体大小可能存在差异;(2)蝙蝠蛾幼虫自身个体大小可能受到海拔变化(主要是温度变化)的影响,高海拔低温环境导致蝙蝠蛾幼虫发育速率降低、生长周期变长^[31],因此体内可能积累更多的脂肪、糖类等抗寒及营养物质而导致体型较大;不过,以上的推测还需要进一步通过试验手段来验证。目前对气候变化如何影响冬虫夏草发生发育相关过程的研究还相当薄弱,十分必要开展野外原位控制试验结合室内模拟培养,以揭示气候变化对冬虫夏草资源分布的影响及其机制。

由于冬虫夏草多生长在海拔较高、地形复杂、人迹罕至的恶劣环境中,仅通过野外采样和入户调查得到的结果很难全面、准确的反映出冬虫夏草资源分布及气候变化对其的影响。利用地理信息系统(GIS)的空间分析功能以及物种分布的栖息地模型(例如最大熵模型 MaxEnt)则能够克服采样调查的限制性,并且能够从一定程度上预测气候变化对冬虫夏草资源分布及产量的影响^[64-67]。基于遥感和 GIS 分析,朱寿东等^[66]利用雪线高程、采收期(4—5 月)的平均气温、降水量和日照时长等环境因子和冬虫夏草产量之间的关系,建立加权几何平均模型,可以在每年的 6 月上旬预测当年的冬虫夏草产量,其预测精度可达 82% 以上。Yan 等^[67]运用最大熵(MaxEnt)、广义可加模型(GAM)等 6 种方法构建了不同气候变化情景模式下冬虫夏草菌分布区域的预测模型。结果表明,在 RCP 2.6 和 RCP 8.5 这两种气候变化情景模式下,至 2050 年冬虫夏草菌分布范围的净变化为减少 17.7%—18.5%,其中海拔 4000—4500 m 内冬虫夏草菌分布区域减少最为显著,而分布增加的海拔范围主要在 4500—5000 m 之间。这一结果与野外调查的结论基本相吻合,说明利用模型研究气候变化对冬虫夏草资源分布的影响可信度较高。相比于基于生态因子对冬虫夏草菌或蝙蝠蛾的影响进行预测,基于冬虫夏草发生发育过程构建的机理模型可能更加准确反映出冬虫夏草资源数量的变化。Woodall 等^[68]构建了一个广义寄主-病原菌机理模型并预测了不同收获方式对虫生真菌(例如虫草)产量的影响,发现定期收获部分成熟虫草有利于维持总产量的稳定性。未来研究可以考虑在这个机理模型的基础上加入环境因子成分以预测气候变化对冬虫夏草产量的影响。此外,在自然生境下冬虫夏草菌-蝙蝠蛾幼虫-植物三者之间构成了一个相对稳定且平衡的小型生态系统^[4],因此还应重点关注气候变化对这三者之间相互作用关系的影响,并在此基础上构建机理模型,才能更加准确的预测青藏高原气候变化对冬虫夏草的资源分布与产量的影响。

6 结论与展望

冬虫夏草作为一种具有极高药用和食用价值的珍稀菌类,其生物学特性和可持续发展关键技术一直是研究热点。我国对冬虫夏草的研究由于天时和地利,一直处于世界领先水平,但是仍然有一些关键的科学问题尚未十分明确,从而严重制约了冬虫夏草资源的合理利用及保护政策制定。本文系统总结了冬虫夏草生物学和生态学研究几个关键科学问题的研究进展,包括冬虫夏草发生发育过程及其调控因子、冬虫夏草菌遗传多样性及组学研究、天然冬虫夏草及其微环境中的微生物群落、气候变化对冬虫夏草资源的影响等,并分析指出了现有研究中的不足。鉴于冬虫夏草生物学和生态学研究面临的机遇和挑战,建议应尽快围绕以下几个方面开展研究工作。(1)利用先进的或研发观测仪器及相关技术,以实现冬虫夏草菌侵染蝙蝠蛾幼虫途径、冬虫夏草菌子实体发生发育过程的原位观测研究。(2)利用分子生物学、稳定性同位素、组学研究等最新技术及方法,明确冬虫夏草菌对寄主蝙蝠蛾幼虫特异性侵染的生物学机制,探索天然冬虫夏草及其微环境中与冬虫夏草菌共存的其他土壤真菌和细菌群落,并分析它们的相互作用关系及对冬虫夏草发生发育的影响。(3)

利用人工培植技术,通过室内模拟明确各生态因子在冬虫夏草发生发育各个阶段的调控作用,确定冬虫夏草发生发育关键阶段的主要调控因子,为冬虫夏草半人工培植提供科学依据。(4)在冬虫夏草产区建立虫草保护区及科学研究基地,通过长期原位观测及模拟试验,明确气候变化和人类活动对冬虫夏草菌、蝙蝠蛾及其采食植物,以及它们之间的相互关系的影响,并在此基础上构建机理模型,以准确预测全球变暖背景下未来青藏高原环境变化对冬虫夏草的资源分布与产量的影响。

参考文献 (References):

- [1] Sung G H, Hywel-Jones N L, Sung J M, Luangsa-Ard J J, Shrestha B, Spatafora J W. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceae fungi. *Studies in Mycology*, 2007, 57: 5-59.
- [2] 张妹, 张永杰, Shrestha B, 徐建平, 王成树, 刘杏忠. 冬虫夏草菌和蛹虫草菌的研究现状、问题及展望. *菌物学报*, 2013, 32(4): 577-597.
- [3] 涂永勤, 马开森, 罗庆明. 冬虫夏草药理作用研究新进展. *重庆中草药研究*, 2002, (2): 50-53.
- [4] Zhang Y J, Li E W, Wang C S, Li Y L, Liu X Z. *Ophiocordyceps sinensis*, the flagship fungus of China: terminology, life strategy and ecology. *Mycology*, 2012, 3(1): 2-10.
- [5] Wang W J, Wang K, Wang X L, Yang R H, Li Y, Yao Y J. Investigation on natural resources and species conservation of *Ophiocordyceps sinensis*, the famous medicinal fungus endemic to the Tibetan Plateau. *Protein & Cell*, 2017: 1-3.
- [6] Dong C H, Yao Y J. On the reliability of fungal materials used in studies on *Ophiocordyceps sinensis*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2011, 38(8): 1027-1035.
- [7] Zhang Y J, Bai F R, Zhang S, Liu X Z. Determining novel molecular markers in the Chinese caterpillar fungus *Ophiocordyceps sinensis* by screening a shotgun genomic library. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 95(5): 1243-1251.
- [8] Zhong X, Peng Q Y, Li S S, Chen H, Sun H X, Zhang G R, Liu X. Detection of *Ophiocordyceps sinensis* in the roots of plants in alpine meadows by nested-touchdown polymerase chain reaction. *Fungal Biology*, 2014, 118(4): 359-363.
- [9] Zhang Y J, Xu L L, Zhang S, Liu X Z, An Z Q, Wang M, Guo Y L. Genetic diversity of *Ophiocordyceps sinensis*, a medicinal fungus endemic to the Tibetan Plateau: implications for its evolution and conservation. *BMC Evolutionary Biology*, 2009, 9: 290.
- [10] Quan Q M, Wang Q X, Zhou X L, Li S, Yang X L, Zhu Y G, Cheng Z. Comparative phylogenetic relationships and genetic structure of the caterpillar fungus *Ophiocordyceps sinensis* and its host insects inferred from multiple gene sequences. *Journal of Microbiology*, 2014, 52(2): 99-105.
- [11] Zhang Y J, Zhang S, Li Y L, Ma S L, Wang C S, Xiang M C, Liu X, An Z Q, Xu J P, Liu X Z. Phylogeography and evolution of a fungal-insect association on the Tibetan Plateau. *Molecular Ecology*, 2014, 23(21): 5337-5355.
- [12] 杨大荣, 彭艳琼, 陈吉岳, 曹永强, 杨培. 中国冬虫夏草分布格局与环境变化对其分布的影响. *中国草地学报*, 2010, 32(S1): 22-27.
- [13] Li Y, Wang X L, Jiao L, Jiang Y, Li H, Jiang S P, Lhosumtseiring N, Fu S Z, Dong C H, Zhan Y, Yao Y J. A survey of the geographic distribution of *Ophiocordyceps sinensis*. *The Journal of Microbiology*, 2011, 49(6): 913-919.
- [14] Xia E H, Yang D R, Jiang J J, Zhang Q J, Liu Y, Liu Y L, Zhang Y, Zhang H B, Shi C, Tong Y, Kim C, Chen H, Peng Y Q, Yu Y, Zhang W, Eichler E E, Gao L Z. The caterpillar fungus, *Ophiocordyceps sinensis*, genome provides insights into highland adaptation of fungal pathogenicity. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 1806.
- [15] Xia Y, Luo F, Shang Y, Chen P, Lu Y, Wang C. Fungal cordycepin biosynthesis is coupled with the production of the safeguard molecule pentostatin. *Cell Chemical Biology*, 2017, 24(12): 1479-1489.
- [16] Zhou X W, Li L J, Tian E W. Advances in research of the artificial cultivation of *Ophiocordyceps sinensis* in China. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2014, 34(3): 233-243.
- [17] 丘雪红, 曹莉, 韩日畴. 冬虫夏草的研究进展、现存问题与研究展望. *环境昆虫学报*, 2016, 38(1): 1-23.
- [18] 李文佳, 董彩虹, 刘杏忠, 李全平, 夏金明, 梁蕾. 冬虫夏草培植技术研究进展. *菌物学报*, 2016, 35(4): 375-387.
- [19] Qin Q L, Zhou G L, Zhang H, Meng Q, Zhang J H, Wang H T, Miao L, Li X. Obstacles and approaches in artificial cultivation of Chinese cordyceps. *Mycology*, 2018, 9(1): 7-9.
- [20] 张永杰. 冬虫夏草菌的生物学研究. 北京: 科学出版社, 2012.
- [21] 杨大荣, 杨跃雄, 沈发荣, 董大志, 喻润清, 鲁自, 春生, 斯那都吉. 冬虫夏草真菌感染蝠蛾幼虫的研究. *中国虫生真菌研究与应用*, 1986, (1): 230-234.
- [22] 曾伟, 尹定华, 李泉森, 李黎. 冬虫夏草菌侵染及寄生阶段的生长发育研究. *菌物学报*, 2006, 25(4): 646-650.

- [23] 鲁增辉, 石萍, 陈仕江. 侵染昆虫前后冬虫夏草菌类枯草杆菌蛋白酶基因表达研究. 药学报, 2013, 48(7): 1164-1168.
- [24] 涂永勤, 张德利, 曾纬, 陈仕江, 尹定华. 蝠蛾属幼虫感染冬虫夏草菌的实验研究. 食用菌, 2010, 32(3): 16-17.
- [25] Lei W, Zhang G R, Peng Q Y, Liu X. Development of *Ophiocordyceps sinensis* through plant-mediated interkingdom host colonization. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(8): 17482-17493.
- [26] 雷桅, 彭青云, 张古忍, 刘昕. 冬虫夏草菌在寄主钩蝠蛾幼虫中的潜伏侵染过程研究. 环境昆虫学报, 2015, 37(2): 378-392.
- [27] 李文佳, 韦瑞升, 夏金明, 吕延华. 蝙蝠蛾幼虫肠道中的冬虫夏草菌体研究. 菌物学报, 2016, 35(4): 450-455.
- [28] Peng Q Y, Zhong X, Lei W, Zhang G R, Liu X. Detection of *Ophiocordyceps sinensis* in soil by quantitative real-time PCR. Canadian Journal of Microbiology, 2013, 59(3): 204-209.
- [29] Lei W, Li S S, Peng Q Y, Zhang G R, Liu X. A real-time qPCR assay to quantify *Ophiocordyceps sinensis* biomass in *Thitarodes* larvae. Journal of Microbiology, 2013, 51(2): 229-233.
- [30] Guo L X, Hong Y H, Zhou Q Z, Zhu Q, Xu X M, Wang J H. Fungus-larva relation in the formation of *Cordyceps sinensis* as revealed by stable carbon isotope analysis. Scientific Reports, 2017, 7(1): 7789.
- [31] 张古忍, 余俊锋, 吴光国, 刘昕. 冬虫夏草发生的影响因子. 生态学报, 2011, 31(14): 4117-4129.
- [32] 雷桅, 税晓容. 冬虫夏草发生发育的生态响应. 湖北农业科学, 2015, 54(1): 100-104.
- [33] 涂永勤, 张德利, 曾纬, 陈仕江, 尹定华. 环境因子对冬虫夏草子实体生长发育的影响. 中国食用菌, 2010, 29(2): 24-25.
- [34] Guo L X, Xu X M, Liang F R, Yuan J P, Peng J, Wu C F, Wang J H. Morphological observations and fatty acid composition of indoor-cultivated *Cordyceps sinensis* at a high-altitude laboratory on Sejila Mountain, Tibet. PLoS One, 2015, 10(5): e0126095.
- [35] 张宗耀, 梁关海, 梁蕾, 吕延华, 李文佳, 谢俊杰. 培养基及培养条件对冬虫夏草菌固体发酵产分生孢子的影响. 菌物学报, 2016, 35(4): 440-449.
- [36] 杨大荣, 彭艳琼, 陈吉岳, 曹永强, 杨培. 中国冬虫夏草寄主——蝠蛾属昆虫研究进展//云南省昆虫学会 2009 年年会论文集. 昆明: 云南省昆虫学会, 2009: 285-295.
- [37] 张德利, 贺宗毅, 鲁增辉, 刘飞, 涂永勤, 陈仕江. 土壤含水量对蝠蛾幼虫僵化及子座萌发生长的影响. 西南农业学报, 2013, 26(4): 1553-1556.
- [38] 李黎, 尹定华, 汤国华, 付善全. 冬虫夏草子座生长发育与光照的关系. 中国中药杂志, 1993, 18(2): 80-82.
- [39] Yang T, Xiong W P, Dong C H. Cloning and analysis of the *Oswc-1* gene encoding a putative blue light photoreceptor from *Ophiocordyceps sinensis*. Mycoscience, 2014, 55(4): 241-245.
- [40] 郭明敏, 杨涛, 卜宁, 董彩虹. 大型真菌光受体及其功能研究进展. 菌物学报, 2015, 34(5): 880-889.
- [41] 常毓巍, 何淑玲, 马令法, 杨敬军, 傅育红. 甘肃省夏河地区影响冬虫夏草种群分布的土壤理化因子调查. 水土保持通报, 2015, 35(6): 21-25.
- [42] Sigdel S R, Rokaya M B, Münzbergová Z, Liang E Y. Habitat Ecology of *Ophiocordyceps sinensis* in Western Nepal. Mountain Research and Development, 2017, 37(2): 216-223.
- [43] Yang R H, Wang X L, Su J H, Li Y, Jiang S P, Gu F, Yao Y J. Bacterial diversity in native habitats of the medicinal fungus *Ophiocordyceps sinensis* on Tibetan Plateau as determined using Illumina sequencing data. FEMS Microbiology Letters, 2015, 362(5): fnu044.
- [44] Xia F, Liu Y, Guo M Y, Shen G R, Lin J, Zhou X W. Pyrosequencing analysis revealed complex endogenous microorganism community from natural DongChong XiaCao and its microhabitat. BMC Microbiology, 2016, 16: 196.
- [45] 卞文印, 王忠. 关于冬虫夏草有性发育过程中若干问题的讨论. 中药材, 2016, 39(12): 2909-2916.
- [46] Chen Y J, Zhang Y P, Yang Y X, Yang D R. Genetic diversity and taxonomic implication of *Cordyceps sinensis* as revealed by RAPD markers. Biochemical Genetics, 1999, 37(5/6): 201-213.
- [47] Liang H H, Cheng Z, Yang X L, Li S, Ding Z Q, Zhou T S, Zhang W J, Chen J K. Genetic diversity and structure of *Cordyceps sinensis* populations from extensive geographical regions in China as revealed by inter-simple sequence repeat markers. The Journal of Microbiology, 2008, 46(5): 549-556.
- [48] 朱子雄, 谢放, 张楠. 甘肃省冬虫夏草遗传多样性的 ISSR 分析. 菌物学报, 2011, 30(3): 501-507.
- [49] 张姝. 冬虫夏草菌群体遗传学及其与寄主昆虫之间的进化关系研究[D]. 太原: 山西大学, 2013.
- [50] 袁峰. 冬虫夏草居群谱系地理与适生区分布研究[D]. 昆明: 云南大学, 2015.
- [51] Kang X C, Hu L Q, Shen P Y, Li R, Liu D B. SMRT sequencing revealed mitogenome characteristics and mitogenome-wide DNA modification pattern in *Ophiocordyceps sinensis*. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1422.
- [52] Hu X, Zhang Y J, Xiao G H, Zheng P, Xia Y L, Zhang X Y, St Leger R J, Liu X Z, Wang C S. Genome survey uncovers the secrets of sex and lifestyle in caterpillar fungus. Chinese Science Bulletin, 2013, 58(23): 2846-2854.
- [53] Rappleye C A, Goldman W E. Fungal stealth technology. Trends in Immunology, 2008, 29(1): 18-24.

- [54] Zhong X, Gu L, Li S S, Kan S T, Zhang G R, Liu X. Transcriptome analysis of *Ophiocordyceps sinensis* before and after infection of Thitarodes larvae. *Fungal Biology*, 2016, 120(6/7): 819-826.
- [55] Berne S, Lah L, Sepčić K. Aegerolysins: structure, function, and putative biological role. *Protein Science*, 2009, 18(4): 694-706.
- [56] 梁宗琦, 韩燕峰, 梁建东, 董旋, 杜文. 冬虫夏草 *Ophiocordyceps sinensis* 研究中几个值得关注的问题. *微生物学通报*, 2010, 37(11): 1692-1697.
- [57] 张永杰, 孙炳达, 张姝, 旺姆, 刘杏忠, 巩文峰. 分离自冬虫夏草可培养真菌的多样性研究. *菌物学报*, 2010, 29(4): 518-527.
- [58] Xia F, Chen X, Guo M Y, Bai X H, Liu Y, Shen G R, Li Y L, Lin J, Zhou X W. High-throughput sequencing-based analysis of endogenous fungal communities inhabiting the Chinese Cordyceps reveals unexpectedly high fungal diversity. *Scientific Reports*, 2016, 6: 33437.
- [59] 朱佳石, 郭英兰, 姚艺桑, 周妍娇, 陆继红, 齐莹, 湛巍, 刘星阶, 吴子, 张丽, 殷蔚萸, 郑陶冶, 张丽娟. 冬虫夏草成熟过程中中国被毛孢和蝙蝠蛾拟青霉 DNA 共存及竞争增殖力、化学成分变化. *菌物研究*, 2007, 5(4): 214-224.
- [60] 李玉玲, 姚艺桑, 张宗豪, 刘欣, 徐海峰, 马少丽, 吴子嫩, 朱佳石. 蝙蝠蛾幼虫肠道真菌复合体中的多菌种与中国被毛孢分生孢子联合侵染蝙蝠蛾幼虫提高侵染效能. *菌物研究*, 2016, 14(2): 96-112.
- [61] 朱玉兰. 冬虫夏草相关菌株生物学特性及其与冬虫夏草菌相互关系的研究[D]. 兰州: 兰州交通大学, 2015.
- [62] 吴绍洪, 尹云鹤, 郑度, 杨勤业. 青藏高原近 30 年气候变化趋势. *地理学报*, 2005, 60(1): 3-11.
- [63] 杨大荣. 青藏高原冬虫夏草考察纪行. *大自然*, 2008, (1): 36-39.
- [64] 金云翔, 徐斌, 杨秀春, 覃志豪, 高懋芳, 吕海燕, 朱立博. 青藏高原那曲地区冬虫夏草资源分布空间分析方法. *生态学报*, 2010, 30(6): 1532-1538.
- [65] 李芬, 吴志丰, 徐翠, 徐延达, 张林波. 三江源区冬虫夏草资源适宜性空间分布. *生态学报*, 2014, 34(5): 1318-1325.
- [66] 朱寿东, 黄璐琦, 郭兰萍, 马兴田, 郝庆秀, 乐智勇, 张小波, 杨光, 张燕, 陈美兰. 气候环境变化对冬虫夏草产量的影响与虫草产量预测模型研究. *中国中药杂志*, 2017, 42(7): 1281-1286.
- [67] Yan Y J, Li Y, Wang W J, He J S, Yang R H, Wu H J, Wang X L, Jiao L, Tang Z Y, Yao Y J. Range shifts in response to climate change of *Ophiocordyceps sinensis*, a fungus endemic to the Tibetan Plateau. *Biological Conservation*, 2017, 206: 143-150.
- [68] Woodall H, Bullock J M, White S M. Modelling the harvest of an insect pathogen. *Ecological Modelling*, 2014, 287: 16-26.