

研究报告

中国虫草一新记录种

周叶鸣 邹晓* 瞿娇娇 梁宗琦

(贵州大学 生命科学学院 真菌资源研究所 贵州 贵阳 550025)

摘要:【目的】对一个寄生鳞翅目幼虫的虫草标本 Dxhir140901 进行分类鉴定。【方法】采用形态学比较和基于 ITS1-5.8S-ITS2rDNA 的系统发育与进化网络分析进行鉴定。【结果】形态学观察: 标本的分离菌株形态显示其为典型的被毛孢属真菌, 具有两型产孢结构: A 型产孢细胞柱状, $(1.8-6.3) \mu\text{m} \times 1.8 \mu\text{m}$; B 型产孢细胞锥形, 基部柱状, 向上逐渐变细无明显颈部, 基部宽 $3-3.8 \mu\text{m}$, 长 $21-63 \mu\text{m}$, 颈部宽 $1.8-2.0 \mu\text{m}$, 菌丝末端可直接形成产孢细胞; 孢子橘瓣形或卵形, $(8.1-10.8) \mu\text{m} \times (2.7-5.4) \mu\text{m}$, 具粘液, 黏液层厚 $1.8-2.7 \mu\text{m}$ 。系统发育分析结果显示该菌株与巨针线形虫草 *Ophiocordyceps macroacicularis* 聚为一支, 支持率为 98%, 进化网络分析也支持上述结果。【结论】通过与 *O. macroacicularis* 的形态比较和分子系统学分析结果, Dxhir140901 及其分离株 Gzuifr-hir140901 为巨针线形虫草 *Ophiocordyceps macroacicularis* S. Ban, T. Sakane & Nakagiri 的无性阶段, 该种为中国新记录种。

关键词: 线形虫草属, 无性阶段, 分类, 蝠蛾幼虫, 生物防治

A new record of the genus *Ophiocordyceps* from China

ZHOU Ye-Ming ZOU Xiao* QU Jiao-Jiao LIANG Zong-Qi

(Institute of Fungal Resource, College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

Abstract: [Objective] Identification specimen Dxhir140901 which parasitized on Lepidopterous larvae. [Methods] The comparison of morphological characteristics and the analysis of phylogenetic tree and the evolution network based on internal transcribed spacer (ITS1-5.8S-ITS2rDNA) sequence were used for identification of this specimen. [Results] Morphological observation: morphological characteristics of the strains Gzuifr-hir140901 was similar to *Hirsutella* Pat. It has two types of phialides, A-phialides, column, $(1.8-6.3) \mu\text{m} \times 1.8 \mu\text{m}$. B-phialides, columnar base, awl-shape and tapers, width of base $3-3.8 \mu\text{m}$, length $21-63 \mu\text{m}$, width of neck $1.8-2.0 \mu\text{m}$, Phialides formed directly from the end of mycelium. Conidia orange segments or oval, $(8.1-10.8) \mu\text{m} \times (2.7-5.4) \mu\text{m}$, mucus thick $1.8-2.7 \mu\text{m}$. From the results of the phylogenetic analysis we can find that the Gzuifr-hir140901 strains and *Ophiocordyceps macroacicularis* S. Ban, T. Sakane & Nakagiriin belong to the same clade with a 98% approval rating. Branching sequence analysis supports the same results. [Conclusion] The sample Dxhir140901 and strains Gzuifr-hir140901 was a anamorph of *O. macroacicularis* which is a

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31360031); 国家自然科学基金重大项目子项目(No. 31093440); 贵州省科技攻关项目(No. 黔科合 NY[2013]3034); 贵州大学研究生创新基金项目(No. 研农 2014019)

*通讯作者: ✉: ls.zoux@gzu.edu.cn

收稿日期: 2015-05-28; 接受日期: 2015-06-29; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-07-14

new record from China.

Keywords: *Ophiocordyceps*, Asexual stage, Taxonomy, Larva of a species of Hepialidae, Biocontrol

被毛孢属 *Hirsutella* Pat. 是以嗜虫被毛孢 *Hirsutella entomophila* Pat. 作为模式种而建立。该属主要特征为: 孢梗束一般柱状、丝状, 单生或分枝, 有或无; 菌丝通常无色、淡色或深褐色; 产孢细胞散生于菌丝体上或者侧生于孢梗束外围菌丝上, 表面光滑或粗糙, 颈部简单或再育成多个小颈, 颈部一般直, 部分种可呈螺旋状或波浪状; 分生孢子单细胞, 少数多细胞, 一般为柠檬形、椭圆形、梭形、橘瓣形等, 经常埋于无色或有色的黏液层中; 少数种还可形成二次分生孢子^[1]。迄今, Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>) 收录的被毛孢共有 109 个分类单元。被毛孢属有 4 个种与本文描述的新记录种接近, 并具有两型产孢细胞且锥形产孢细胞长度大于 40 μm , 分别是 *H. stilbelliformis* var. *stilbelliformis* H. C. Evans & Samson、*H. stilbelliformis* var. *dolichoderi* H. C. Evans & Samson^[2]、*H. sporodochialis* H. C. Evans & Samson^[3]、*H. Zhangjiajiensis* Z. Q. Liang^[4]。

被毛孢属的寄主范围很广, 包括蜘蛛、螨类、昆虫等节肢动物和线虫, 具有潜在的生物防治价值^[5-7]。20 世纪 80 年代早期发现 *H. rhossiliensis* Minter & B. L. Brady 对许多植物的寄生线虫如茎线虫、根结线虫等有较强的致死效果^[8-9]; *H. citrifomis* Speare 对果园中的柑橘木虱有很好的防治效果^[10]。被毛孢属的有性阶段为线形虫草属 *Ophiocordyceps* (Petch) Sung *et al.*^[11], 虫草是亚洲许多国家的传统药物, 因此被毛孢属真菌中的活性物质也受到医药开发研究者的关注。研究表明一些被毛孢能产生各种对人类有价值的活性化合物, 这些化合物具有抗肿瘤和抗疟疾的功效^[12-13]。

目前, 已报道的无性型是被毛孢的线形虫草, 共有 27 个种^[11]。巨针线形虫草 *Ophiocordyceps macroacicularis* S. Ban, T. Sakane & Nakagiri 是最近被报道的一个具有被毛孢无性型的线形虫草属新

种^[14]。其特征为: 子座丛生, 圆柱形, 无分枝 (97.2–166.1) $\text{mm} \times (1.3-2.4) \text{mm}$; 子囊壳垂直表生, 卵形, 淡褐色到棕色, (410–760) $\mu\text{m} \times (260-420) \mu\text{m}$; 子囊透明, 圆柱形, 长 235–310 μm , 子囊帽显著增厚, 直径 5.0–7.0 μm ; 子囊孢子针形的, 具隔, 透明, (200–300) $\mu\text{m} \times (2.3-3.0) \mu\text{m}$ 。同时, 文中明确指出巨针线形虫草的无性阶段是被毛孢并提供了图片, 但没有对无性阶段进行详细描述, 也没有与其它已发表被毛孢种类进行比较。本文从形态分类鉴定的角度对其无性阶段进行了鉴定和描述, 讨论了该种与被毛孢属中其它相关种的区别, 为该虫草的正确分类提供了无性阶段的鉴定证据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本: 标本采自贵州省贵阳市桐木岭 (26°23'00.3"N, 106°40'33.0"E), 寄主为蝠蛾科幼虫。标本编号: Dxhir140901; 采集人: 周叶鸣、瞿娇娇; 采集时间: 2014 年 9 月。菌株编号: Gzuifr-hir140901, 现保存于贵州大学真菌资源研究所菌种保藏中心 (GZAC)。

1.1.2 培养基与染色液: PDA 培养基: 马铃薯 200 g 切块, 用水煮沸 30 min, 过滤取汁, 加葡萄糖 20 g, 水补足 1 000 mL, pH 自然, 1×10^5 Pa 灭菌 30 min, 凝固前加入链霉素和青霉素, 倒平板备用。棉蓝染色液: 苯胺蓝 0.025 g, 乳酸 10 g, 石炭酸 10 g, 甘油 20 g, 蒸馏水 10 mL。配制后用双层擦镜纸过滤后备用。

1.1.3 分子系统学分析所用序列: 将菌株 Gzuifr-hir140901 测序得到的 ITS1-5.8S-ITS2 核酸序列经 NCBI 的 BLAST 程序进行比对, 下载相似度大于 93% 的核酸序列以及被毛孢属和线形虫草属的部分真菌序列。表 1 为本研究用于分子系统学分析的序列。

表 1 系统学分析所用 ITS1-5.8S-ITS2 序列及其 GenBank 登录号
Table 1 List of ITS1-5.8S-ITS2 sequences and GenBank numbers for phylogenetic analysis

种类 Species	GenBank 登录号 GenBank accession No.	种类 Species	GenBank 登录号 GenBank accession No.
<i>Metacordyceps liangshanensis</i>	KJ021169	<i>H. minnesotensis</i>	DQ078757
<i>M. liangshanensis</i>	KJ021172	<i>H. nodulosa</i>	EF194146
<i>Cordyceps emeiensis</i>	AJ309347	<i>H. proturicola</i>	AB378557
<i>C. sinensis</i>	AY608925	<i>H. rhossiliensis</i>	AY745253
<i>C. sinensis</i>	AY608925	<i>H. rostrata</i>	EF194150
<i>Ophiocordyceps robertsii</i>	KC167174	<i>H. satumaesis</i>	KJ913066
<i>O. macroacicularis</i>	AB968400	<i>H. sinensis</i>	AJ309355
<i>O. sinensis</i>	EU570957	<i>H. thompsonii</i>	EF194153
<i>O. sinensis</i>	JQ013106	<i>H. tunicata</i>	JN247824
<i>O. stylophora</i>	JN943352	<i>H. uncinata</i>	AY365468
<i>H. aphidis</i>	EF194156	<i>H. vermicola</i>	DQ345592
<i>H. citrifomis</i>	JF894156	<i>H. versicolor</i>	DQ345594
<i>H. guyana</i>	DQ345595	<i>Beauveria bassiana</i>	AF322932
<i>H. huangshanensis</i>	EF689043	<i>B. bassiana</i>	DQ364698
<i>H. liboensis</i>	FJ957892	Gzuifr-hir140901	KR005829

1.2 方法

1.2.1 菌株的分离、培养与形态鉴定: 标本先用自来水将虫体表面冲洗干净,再用无菌水冲洗标本,接着用 75%的乙醇表面消毒 3-5 s。掰断标本虫体部分,用接种针挑取虫体断面的血体腔部位的组织块,接种到加有抗生素的 PDA 平板上,16 °C 培养 30 d。培养好的菌落,用透明胶带黏取菌落边缘的菌丝及产孢结构,95%乙醇固定后,用棉兰染色 30 min 以上,显微镜下观察描述并进行形态鉴定。

1.2.2 nrDNA 的扩增和测序: 从 PDA 平板上挑取菌丝体,根据 Tigano-Milani 等的方法提取总 DNA^[15]。提取的 DNA 置于-20 °C 保存,选用通用引物 ITS5 (5'-GGTGAGAGATTTCTGTG-3')和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')扩增 ITS 区的

nrDNA。反应体系(25 μL): ddH₂O 8.5 μL,模板 (10-100 mg/L) 2 μL,引物 ITS4 和 ITS5 (0.4 μmol/L) 均为 1 μL, Master mix 为 12.5 μL。PCR 反应条件: 94 °C 5 min; 94 °C 40 s, 49 °C 40 s, 72 °C 60 s, 35 个循环;72 °C 10 min。PCR 产物送上海 Invitrogen 公司测序。

1.2.3 分子系统学与拆分网络分析: 用 MEGA 5.2 对序列进行对齐剪切后构建系统发育树,运行条件为邻接法(Neighbor-Joining),运算次数(Replications) 1 000 次^[16]。采用 Splits Tree 4 构建拆分网络图,所用序列保存为 Fasta 格式,运行条件为 P-distance, Unrooted Neighbor Net。用与被毛孢属亲缘关系最近的球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* (Bals. -Criv.) Vuill. 作为外群。

2 结果

2.1 形态鉴定与描述

巨针线形虫草的无性阶段

图 1

The anamorph of *Ophiocordyceps macroacicularis* Ban, T. Sakane & Nakagiri Figure 1

The fungus hardly grow above 30 °C while growing slowly under 16 °C on the PDA agar, and colonies diam up to 25–30 mm after 30 d. The colonies margin be white and the middle light-brown part with cashmere. Mycelium is hyaline, smooth, septate, wide 3.6–4.5 μm. Two bottles of terrier type were formed, A-phialides, column, (1.8–6.3) μm × 1.8 μm. B-phialides, columnar base, awl-shap and tapers, width of base 3–3.8 μm, length 21–63 μm, width of neck 1.8–2.0 μm; Phialides formed directly from the mycelium end, occasional polyphialidic. Conidia orange segments or oval, (8.1–10.8) μm × (2.7–5.4) μm, enveloped in a hyaline mucus, thickness 1.8–2.7 μm.

Teleomorph: *Ophiocordyceps macroacicularis* Ban, T. Sakane & Nakagiri.

Host: Larva of a species of Hepialidae, Lepidoptera.

Specimen examined: Dxhir140901, 2014, Y. M. Zhou & J. J. Qu collected from the Tongmuling of Guiyang city, Guizhou province and Gzuifr-hir140901, strains were isolated by Y. M. Zhou conserved in the Insititute of fungal resource, Guizhou University.

菌落: 在 PDA 上, 30 °C 以上不生长, 16 °C 培养 30 d 菌落直径 25–30 mm。毡状, 边缘白色, 中间灰褐色有凸起, 凸起处有绒毛, 背面浅褐色; 菌丝: 透明、光滑、具隔, 宽 3.6–4.5 μm; 产孢细胞: 与菌丝无明显区分; 形成两种类型产孢细胞, A 型: 柱状, (1.8–6.3) μm × 1.8 μm。B 型: 锥形, 基部柱状宽 3–3.8 μm, 向上逐渐变细, 长 21–63 μm, 颈部宽 1.8–2.0 μm。菌丝末端可形成产孢细胞, 有再育现象; 分生孢子: 橘瓣状或卵型, (8.1–10.8) μm × (2.7–5.4) μm, 孢子外具粘液, 厚度为 1.8–2.7 μm。

有性阶段: *Ophiocordyceps macroacicularis* S. Ban, T. Sakane & Nakagiri。

寄主: 鳞翅目, 蝠蛾科幼虫。

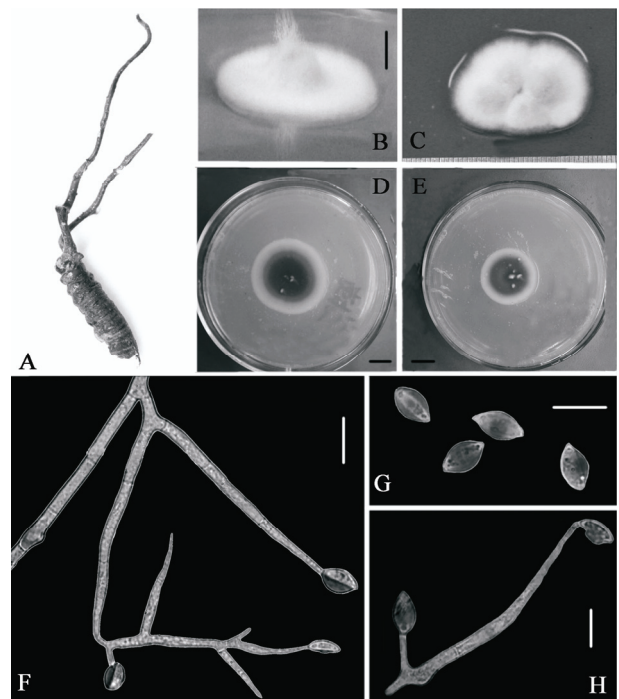


图 1 巨针线形虫草无性阶段产孢结构和菌落特征 (Gzuifr-hir140901)

Figure 1 Conidiogenous structures and colonies of the anamorph of *Ophiocordyceps macroacicularis* (Gzuifr-hir140901)

注: A: 标本(Dxhir140901); B–E: 在 PDA 上培养 30 d 后形成的菌落; F, H: 产孢结构; G: 分生孢子。标尺: B–E: 10 mm; F–H: 10 μm。

Note: A: The specimen (Dxhir140901); B–E: Clonies on PDA media for 30 days; F, H: The phialides structure on hyphae; G: Conidia. B–E: Bar=10 mm; F–H: Bar=10 μm.

标本: 标本 Dxhir140901 及其分离株 Gzuifr-hir140901 均保存于贵州大学真菌资源研究所菌种保藏中心(GZAC)。

2.2 分子系统学与拆分网络分析结果

系统发育分析(图 2)发现, 菌株 Gzuifr-hir140901 与 *Ophiocordyceps macroacicularis* 聚在同一分支, 支持率为 98%, 且与其他的被毛孢相比又独立分支。用 Splits Tree 4 构建的拆分网络图(图 3)展示了与系统发育树相似的结果。在网络中连接 Gzuifr-hir140901 的拆分图像, 表明了它与 *Ophiocordyceps macroacicularis* 基本相同且与相关

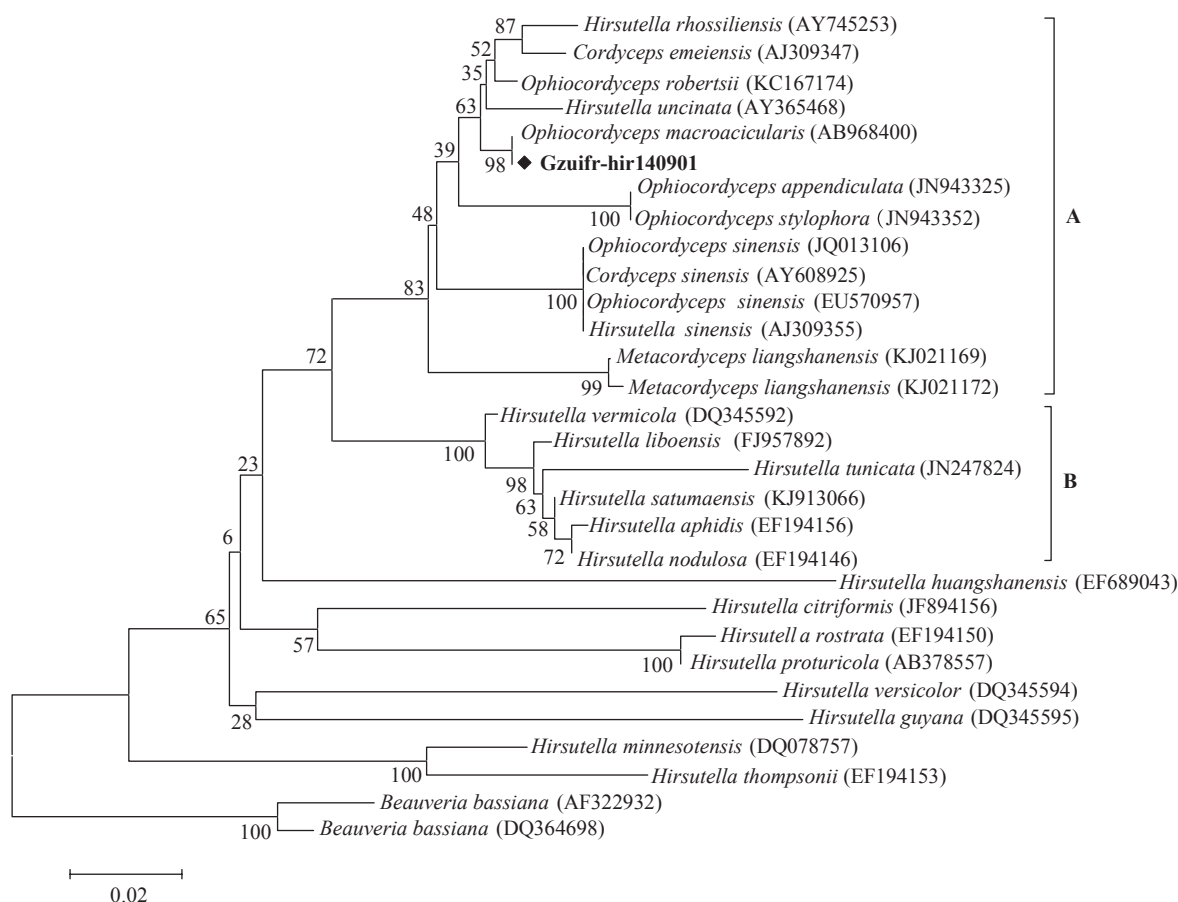


图2 菌株 Gzuifr-hir140901 及其相关种类基于 ITS1-5.8S-ITS2 的系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree based on rDNA ITS1-5.8S-ITS2 sequences of Gzuifr-hir140901 related species

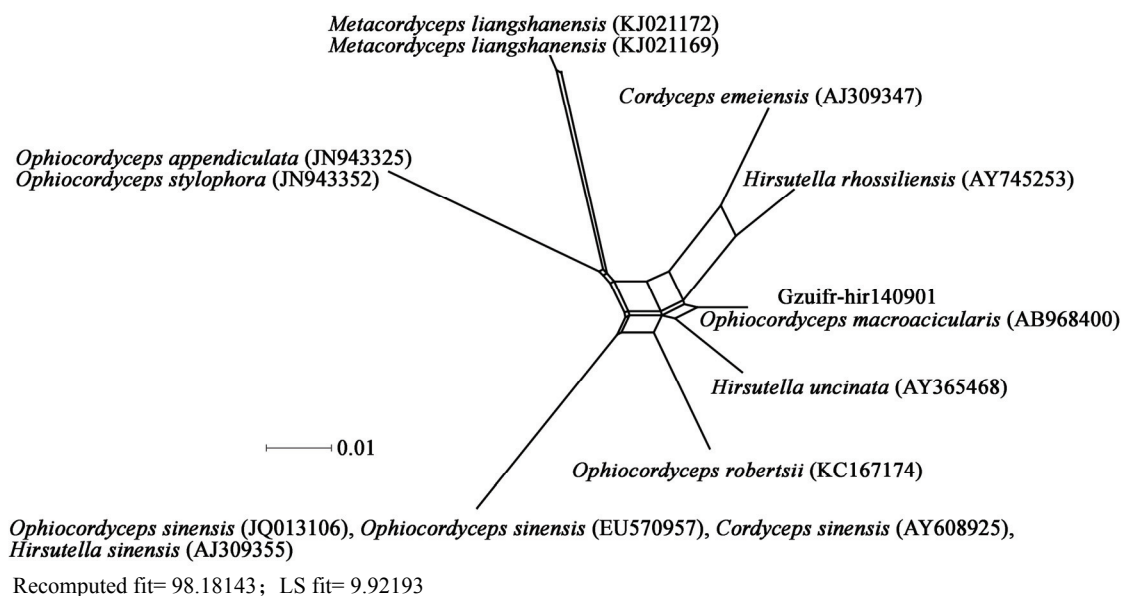


图3 基于图2中A分支序列构建的无根 Nieghor-Net 网络图

Figure 3 Reconstructure of the Nieghor-Net network from taxa of A in Figure 2

群存在明显差别。折分网络分析支持了系统发育树(图 2)展示的结果。系统发育树(图 2) A 分支中的线形虫草的无性型皆为被毛孢, 且基本都寄生于鳞翅目幼虫, 寄生线虫的 *H. minnesotensis* Minter & B. L. Brady 和分离自植物的 *H. uncinata* Seifert & H. Boulay 未见有关它们有性阶段的报道; B 分支的被毛孢属种类具有一个共同的形态学特征, 它们的产孢细胞颈部具有螺旋。

3 结论与讨论

Evans & Samson (1982, 1984)报道了一些具有

两型产孢细胞的种, A 型在菌丝的侧面生长, 菌丝与产孢细胞之间有一个压实的层; B 型(锥形)多长在菌丝的末端^[2-3]。拥有锥形产孢细胞且长度最大的、大于 40 μm 的被毛孢(表 2)有 *Hirsutella aphidis* petch^[13], *H. besseyi* E. E. Fisher^[17], *H. darwinii* Evans & Samson^[2], *H. guignardii* (Maheu) Samson et al^[3], *H. sinensis* Liu et al^[18], *H. stilbelliformis* var. *dolichoderi* H. C. Evans & Samson, *H. stilbelliformis* var. *stilbelliformis* H. C. Evans & Samson^[2], *H. sporodochialis* H. C. Evans & Samson^[3], *H. zhangjiajiensis* Z. Q. Liang^[4], *H. danubiensis* Balazy

表 2 Gzuifr-hir140901 与近似种的形态特征比较
Table 2 A morphological comparison of Gzuifr-hir140901 with related species

种类 Species	产孢细胞 Conidiogenous cell			孢子 Conidia (μm)	参考文献 References
	形状 Shape	最大长度 Maxlength (μm)	类型 Type		
<i>Hirsutella aphidis</i> petch	锥形	>40	B	船形 9×(1.5–2.5)	[13]
<i>H. besseyi</i> Fisher	锥形或圆柱形	>40	B	椭圆形或柠檬形 (4.1–8.3)×(2.5–5.8)	[17]
<i>H. danubiensis</i> Balazy et al	锥形	>60	B	橘瓣状(4.5–6.6)×(1.9–2.7)	[19]
<i>H. darwinii</i> H. C. Evans & Samson	锥形	>40	B	梭形(4.5–11.5)×(1.5–2)	[3]
<i>H. guignardii</i> (Maheu) Samson et al	锥形	>40	B	椭圆形或梭形 (7–13)×(4–6)	[2]
<i>H. sinensis</i> Liu et al	锥形	>40	B	肾脏形或椭圆形 (5.4–1.4)×(3.2–5.4)	[18]
<i>H. sporodochialis</i> H. C. Evans & Samson	基部膨大; 瓶形或 锥形	>80	A&B	梭形(10–27)×(3.5–4)	[2]
<i>H. stilbelliformis</i> var. <i>stilbelliformis</i> H. C. Evans & Samson	基部膨大; 椭圆形 有刺或锥形	>10 >100	A&B	棍棒状(7–9)×(1.5–2.5) 卵形的(8–12)×(4–5)	[3]
<i>H. stilbelliformis</i> var. <i>dolichoderi</i> H. C. Evans & Samson	基部膨大; 椭圆形 有刺或锥形	>40 >100	A&B	圆柱形到卵形 (6.5–9.5)×(3.5–4.5)	[3]
<i>H. vandergeestii</i> Balazy et al	近似锥形, 底部较厚	>40	B	橘瓣状(4–) (4.2–5.5)×(2.1–2.5)(–3.0)	[19]
<i>H. zhangjiajiensis</i> Z. Q. Liang	锥形或基部膨大; 椭圆形	>40	A&B	梭形或橘瓣状 (4.5–10)×(1.5–2.5)	[4]
<i>Ophiocordyceps macroacicularis</i> S. Ban, T. Sakane & Nakagiri	近似锥形或 基部膨大	>40	–	卵形到柠檬形 平均(8.1×4.9) (通过图片比例尺测量)	[14]
Gzuifr-hir140901	锥形; 柱状	>40	A&B	橘瓣状或卵形 (8.1–10.8)×(2.7–5.4)	本文

et al., *H. vandergeestii* Balazy *et al.*^[19]。同时具有两型瓶梗的种为 *H. stilbelliformis* var. *stilbelliformis* H. C. Evans & Samson, *H. stilbelliformis* var. *dolichoderi* H. C. Evans & Samson, *H. sporodochialis* H. C. Evans & Samson, *H. zhangjiajiensis* Z. Q. Liang。 *H. stilbelliformis* var. *stilbelliformis* 和 *H. stilbelliformis* var. *dolichoderi* 寄生膜翅目, *H. zhangjiajiensis* 寄生蛹。目前都没有关于短小柱状瓶梗的报道。

系统发育树被广泛应用在分析、解释各级分类阶元的系统学关系,但其不能展示物种在进化过程中,杂交重组、基因水平转移和基因重复缺失等进化事件。进化网络分析可以较好地解决这个问题^[20],它能提供一个传统进化树不能展示的、被平行事件掩盖的系统发育关系图像^[21-23]。根据分子系统学(图 2)和系统进化(图 3)分析结果,菌株 Gzuifr-hir14090 可能为巨针线形虫草 *O. macroacicularis* 的无性阶段得到了很好的支持。经过与巨针线形虫草文献[14]中的无性阶段形态比较(表 2),二者基本相同。

综上所述,标本 Dxhir140901 及其分离菌株 Gzuifr-hir140901 确定为巨针线形虫草 *O. macroacicularis* S. Ban, T. Sakane & Nakagiri 的无性阶段,为中国的新记录种。

参 考 文 献

- [1] Liang ZQ. Studies on classification of the genus *Hirsutella* Pat. I. Advances and the characteristics of taxonomy[J]. Journal of Guizhou Agriculture College, 1990, 9(1): 58-68 (in Chinese)
梁宗琦. 被毛孢属(*Hirsutella* Pet.)的分类研究 I. 进展及分类特征[J]. 贵州农学院学报, 1990, 9(1): 58-68
- [2] Evans HC, Samson RA. *Cordyceps* species and their anamorphs pathogenic on ants (Formicidae) in tropical forest ecosystems II. The *Camponotus* (Formicinae) complex[J]. Transactions of the British Mycological Society, 1984, 82(1): 127-150
- [3] Evans HC, Samson RA. *Cordyceps* species and their anamorphs pathogenic on ants (Formicidae) in tropical forest ecosystems I. The *Cephalotes* (Myrmicinae) complex[J]. Transactions of the British Mycological Society, 1982, 79(3): 431-453
- [4] Liang ZQ, Han YF, Liu AY, et al. Some entomogenous fungi from Wuyishan and Zhangjiajie Nature Reserves Three new species of the genus *Hirsutella*[J]. Mycotaxon, 2005, 94(5): 349-355
- [5] Zou X, Liu AY, Liang ZQ, et al. *Hirsutella liboensis*, a new entomopathogenic species affecting Cossidae (Lepidoptera) in China[J]. Mycotaxon, 2010, 111(1): 39-44
- [6] Kurihara Y, Shirouzu T, Tokumasu S, et al. *Hirsutella proturicola* sp. nov. isolated from a proturan, *Baculentulus densus* (Protura, Hexapoda)[J]. Mycoscience, 2009, 50(1): 56-62
- [7] Fang HM, Tan SM. A new species of *Hirsutella leizhouensis* Fang & Tan[J]. Mycosystema, 1992, 11(1): 28-31 (in Chinese)
方焕谋, 谭树明. 多毛孢属一个新种—雷州多毛孢[J]. 真菌学报, 1992, 11(1): 28-31
- [8] Jaffee BA, Zehr EI. Parasitism of the nematode *Criconebella xenoplax* by the fungus *Hirsutella rhossiliensis*[J]. Phytopathology, 1982, 72(10): 1378-1381
- [9] Cayrol JC, Frankowski JP. Influence of the number of parasitizing conidia of *Hirsutella rhossiliensis* on the mortality of *Diitylenchus dipsaci*[J]. Revue de Nématologie, 1986, 9(4): 411-412
- [10] Hall DG, Hentz MG, Meyer JM, et al. Observations on the entomopathogenic fungus *Hirsutella citriformis* attacking adult *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in a managed citrus grove[J]. BioControl, 2012, 57(5): 663-675
- [11] 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
- [12] Isaka M, Hywel-Jones NL, Somrithipol S, et al. Antituberculosis compounds, *Hirsutellones* A, B, and C: U. S. Patent 7, 414, 069[P]. 2008-8-19
- [13] Thongtan J, Saenboonrueng J, Rachatawee P, et al. An antimalarial tetrapeptide from the entomopathogenic fungus *Hirsutella* sp. BCC1528[J]. Journal of Natural Products, 2006, 69(4): 713-714
- [14] Ban S, Sakane T, Nakagiri A. Three new species of *Ophiocordyceps* and overview of anamorph types in the genus and the family Ophiocordycepsaceae[J]. Mycological Progress, 2015, 14(1): 1-12
- [15] Tigano-Milani MS, Samson RA, Martins I, et al. DNA markers for differentiating isolates of *Paecilomyces lilacinus*[J]. Microbiology, 1995, 141(1): 239-245
- [16] Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment[J]. Briefings in Bioinformatics, 2004, 5(2): 150-163
- [17] Minter DW, Brady BL, Hall RA. Five hyphomycetes isolated from *Eriophyid mites*[J]. Transactions of the British Mycological Society, 1983, 81(3): 455-471
- [18] Liu XJ, Guo YL, Yu YX, et al. Isolation and identification of the anamorphic state of *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc[J]. Mycosystema, 1989, 8(1): 35-40 (in Chinese)
刘锡琰, 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(1): 35-40
- [19] Balazy S, Miętkiewski R, Tkaczuk C, et al. Diversity of acaropathogenic fungi in Poland and other European countries[J]. Experimental and Applied Acarology, 2008, 46(1/4): 53-70
- [20] Morrison DA. Phylogenetic networks: a review of methods to display evolutionary history[J]. Annual Research & Review in Biology, 2014, 4(10): 1518-1543
- [21] Bandelt HJ, Dress AWM. Split decomposition: a new and useful approach to phylogenetic analysis of distance data[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 1992, 1(3): 242-252
- [22] Morrison DA. Networks in phylogenetic analysis: new tools for population biology[J]. International Journal for Parasitology, 2005, 35(5): 567-582
- [23] Huson DH, Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies[J]. Molecular Biology and Evolution, 2006, 23(2): 254-267