

研究报告

DOI:10.14188/j.ajsh.20250104001

湖北南河国家级自然保护区虫生真菌资源调查及 物种多样性研究

李志愿¹, 李武燕¹, 黄呈鑫², 牟 泉², 姚 芬¹, 赵珂欣¹, 邓正群³, 余知和^{1*}

- (1. 长江大学生命科学学院, 湖北 荆州 434025;
2. 长江大学农学院, 湖北 荆州 434025;
3. 湖北南河国家级自然保护区管理局, 湖北 谷城 441700)

摘要: 虫生真菌是生物物种多样性乃至生态系统的重要成员, 为了解湖北南河国家级自然保护区的虫生真菌物种多样性, 于2023—2024年在保护区开展8次野外调查, 通过对样品进行组织分离或平板涂布获得培养菌株并提取DNA, 形态学特征和基于内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)序列的分子系统学分析结果表明, 83份虫生真菌样品隶属3科6属14种, 即麦角菌科(Clavicipitaceae)的金龟子绿僵菌(*Metarhizium anisopliae*), 线虫草科(Ophiocordycipitaceae)的下垂线虫草(*Ophiocordyceps nutans*)、高水紫孢霉(*Purpureocillium takamizusanense*), 虫草科(Cordycipitaceae)的球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*)、拟球孢白僵菌(*B. pseudobassiana*)、环链虫草(*Cordyceps catenianulata*)、玫烟色虫草(*C. fumosorosea*)、爪哇虫草(*C. javanica*)、鳞翅虫草(*C. lepidopterorum*)、蛹虫草(*C. militaris*)、粉被虫草(*C. pruinosa*)、细脚虫草(*C. tenuipes*)、橙黄鳞翅虫草(*Samsoniella aurantia*)和鳞翅虫草属种类 *Samsoniella* spp.。其中, 优势分类单元为虫草科、虫草属的细脚虫草和鳞翅虫草, 高水紫孢霉和橙黄鳞翅虫草为湖北省新记录种。研究结果提升了对湖北南河国家级自然保护区虫生真菌多样性的认识, 丰富了中国虫生真菌的区系分布, 为该真菌类群的保护和利用提供了种质资源。

关键词: 虫生真菌; 白僵菌属; 虫草属; 绿僵菌属; 线虫草属; 紫孢霉属; 鳞翅虫草属

中图分类号: Q949.3

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2025)02-0118-11

Investigation and species diversity of entomogenous fungi in Nanhe National Nature Reserve, Hubei

Li Zhiyuan¹, Li Wuyan¹, Huang Chengxin², Mou Xiao², Yao Fen¹,
Zhao Kexin¹, Deng Zhengqun³, Yu Zhihe^{1*}

- (1. College of Life Sciences, Yangtze University, Jingzhou 434025, Hubei, China;
2. College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434025, Hubei, China;
3. Nanhe National Nature Reserve Management Bureau, Gucheng 441700, Hubei, China)

Abstract: Entomogenous fungi are important members of biological species diversity and ecosystem. In order to investigate the species diversity of entomogenous fungi in Nanhe National Nature Reserve, Hubei, 8 field surveys were carried out in this reserve from 2023 to 2024. The pure culture strains were obtained by tissue isolation method or spread

收稿日期: 2025-01-04 修回日期: 2025-03-17 接受日期: 2025-03-30

作者简介: 李志愿(1999-), 男, 硕士生, 研究方向为真菌区系与多样性, E-mail: bulianlizhiyuan@sina.com

* 通讯联系人: 余知和(1966-), 男, 教授, 研究方向为真菌生物学与植物病原真菌, E-mail: zhiheyu@hotmail.com

基金项目: 湖北南河国家级自然保护区2022年中央财政林业草原生态保护恢复资金项目(PAXG-DL-2023012)

引用格式: 李志愿, 李武燕, 黄呈鑫, 等. 湖北南河国家级自然保护区虫生真菌资源调查及物种多样性研究[J]. 生物资源, 2025, 47(2): 118-128.

Li Zhiyuan, Li Wuyan, Huang Chengxin, et al. Investigation and species diversity of entomogenous fungi in Nanhe National Nature Reserve, Hubei [J]. Biotic Resources, 2025, 47(2): 118-128.

plate method, and DNA was extracted. Morphological characteristics and internal transcribed spacer (ITS)-based molecular phylogenetic analysis showed that a total of 83 samples of entomogenous fungi were identified as 3 families, 6 genera and 14 species, including *Metarhizium anisopliae* in Clavicipitaceae, *Ophiocordyceps nutans* and *Purpureocillium takamizusanense* in Ophiocordycipitaceae, and *Beauveria bassiana*, *B. pseudobassiana*, *Cordyceps cateniannulata*, *C. fumosorosea*, *C. javanica*, *C. lepidopterorum*, *C. militaris*, *C. pruinosa*, *C. tenuipes*, *Samsoniella aurantia* and *Samsoniella* spp. in Cordycipitaceae. The dominant taxa were Cordycipitaceae, *Cordyceps*, *Cordyceps tenuipes* and *C. lepidopterorum*. *Purpureocillium takamizusanense* and *Samsoniella aurantia* were newly recorded species in Hubei. The findings increase our understanding of the diversity of entomogenous fungi in Nanhe National Nature Reserve, Hubei, enrich the flora distribution of entomogenous fungi in China, and provide germplasm resources for the conservation and utilization of this fungal group.

Key words: entomogenous fungi; *Beauveria*; *Cordyceps*; *Metarhizium*; *Ophiocordyceps*; *Purpureocillium*; *Samsoniella*

0 引言

虫生真菌通常指寄生于昆虫、蜘蛛、螨、线虫、轮虫、蜈蚣等动物并导致寄主死亡的一类真菌^[1]。中国对虫生真菌的应用历史悠久,秦汉时期《神农本草经》中有关白僵蚕的描述是对虫生真菌的最早认知^[2]。清朝赵学敏著《本草纲目拾遗》中记载冬虫夏草“功与人参同”^[3]及意大利学者 Saccardo^[4]定名冬虫夏草(*Ophiocordyceps sinensis*)是对中国虫生真菌的最早研究。虫生真菌在维持森林生态系统平衡中发挥着重要作用,如球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*)、布氏白僵菌(*B. brongniartii*)、金龟子绿僵菌(*Metarhizium anisopliae*)和玫烟色虫草(*Cordyceps fumosorosea*)等已被用于玉米螟(*Pyrausta nubilalis*)、茶小绿叶蝉(*Empoasca flavescens*)和蛱蝶(*Holotrichia diomphalia*)等40多种农林主要害虫的防控^[5-6]。冬虫夏草^[7]、蛹虫草(*Cordyceps militaris*)^[8]、霍克斯虫草(*C. hawkesii*)^[9]、鳞翅虫草(*C. lepidopterorum*)^[10]和广东虫草(*Tolypocladium guangdongense*)^[11]等具有优良的药用价值和保健功能,已被应用于人们的日常生活饮食和疾病治疗。

虫生真菌的分类一直是国内外的研究热点之一。有学者依据形态特征将虫草属(*Cordyceps*)划分为线虫草亚属(Subg. *Ophiocordyceps*)、真虫草亚属(Subg. *Eucordyceps*)和新虫草亚属(Subg. *Neocordyceps*)^[12],被多数菌物学家采纳。随着多基因系统发育研究的深入,有学者根据多基因位点分析,将原麦角菌科(Clavicipitaceae)修订为麦角菌科(Clavicipitaceae)、线虫草科(Ophiocordycipitaceae)和虫草科(Cordycipitaceae),并将虫草属归入虫草科^[13]。有学者基于多基因系统发育分析对线虫草科进行重新组合,将线虫草科分成6个属^[14-15]。有学者

将虫草科分为11个属^[16],还有学者建立了鳞翅虫草属(*Samsoniella*)^[17]。目前,在菌物名录数据库(<https://www.re3data.org/>和<https://www.index-fungorum.org>)可检索到1300余种虫生真菌^[18],中国记录40多属400余种,捕食和寄生线虫的约140种,寄生昆虫的约300种^[19-20]。

中国对虫生真菌的资源调查主要围绕在西藏^[21]、安徽^[22]、贵州^[19]、山西^[23]、云南^[24]及台湾^[25]等地。湖北省有关虫生真菌的记载可追溯到曾宪顺等^[26]对神农架虫草的调查,文献[27-28]报道了神农架的蛹虫草、粉被虫草(*Cordyceps pruinosa*)、巴恩斯虫草(*Ophiocordyceps barnesii*)、珊瑚虫草(*Nigelia martialis*)、灯蛾噬虫霉(*Entomophaga aulicae*)、弗氏新接霉(*Neozygites fresenii*)、新蚜虫疔霉(*Pandora neoaphidis*)、壳状虫疫霉(*Furia gastropachae*)和蜡虫疫霉(*Erynia pentatomis*)等。有学者报道了兴山发现的布氏虫草(*Cordyceps brongniartii*)、古尼虫草(*C. gunnii*)、蝉花(*C. cicadae*)、蛾蛹虫草(*C. polyarthra*)、蛹虫草、蜂头线虫草(*Ophiocordyceps sphecocephala*)、下垂线虫草(*O. nutans*)、沫蝉线虫草(*O. tracentri*)、异足线虫草(*O. heteropoda*)和神农架被毛孢(*Hirsutella shennongjiaensis*)^[29],以及在五峰发现的蛾蛹虫草和下垂线虫草^[30]。

湖北南河国家级自然保护区位于湖北省谷城县西南部,地处大巴山东延的两条支脉武当山脉东南麓,荆山山脉北麓及两山脉之间,属森林生态系统类型自然保护区,拥有北亚热带森林生态系统及其水源涵养林、种类繁多的古老孑遗濒危野生植物和动物^[31]。本研究通过对湖北南河国家级自然保护区大型真菌资源的调查,试图探究保护区内虫生真菌的物种多样性,同时补充湖北乃至中国虫生真菌分布区系,为虫生真菌研究提供种质资源。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 野外调查与样品采集

2023—2024年,课题组赴湖北省襄阳市谷城县的湖北南河国家级自然保护区开展8次调查(2023-05-28—2023-06-01,2023-07-16—2023-07-21,2023-08-30—2023-09-04,2023-09-28—2023-10-01,2023-10-16—2023-10-21,2024-04-23—2024-04-26,2024-08-07—2024-08-13,2024-10-29—2024-11-06),采集到83份供试虫生真菌样品。针对青龙山村、韩家山村、鲁家油坊村、左庙村、渔坪村、万兴村、大谷峪村、东坪村、白水峪村、沈垭村等调查点采用踏查法和样线法,重点调查环境湿度大(附近常伴有溪流)、植被覆盖适中的土壤和腐殖质,适合昆虫生长繁衍和虫生真菌寄生。采集时确保样品的完整性,拍摄样品的生境和宏观特征,详细记录采集地的植被类型、经纬度、海拔及寄主种类和形态等,并进行编号。将样品自然晾干,置-80℃冷冻处理后放入标本盒保存。

1.1.2 供试培养基

马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar,PDA):马铃薯20 g,葡萄糖20 g,琼脂粉20 g,蒸馏水1 L,121℃灭菌20 min。

1.2 方法

1)菌株分离。采用组织分离法或平板涂布法将新鲜虫生真菌样品接种于PDA平板,28℃培养5~10 d,将纯化的培养物接种至PDA斜面,4℃冰箱保存。

2)形态学观察。记录新鲜样品子座、孢梗束、可孕部等宏观特征的形状、质地、颜色、长度、直径,以及寄主种类等;28℃培养10 d,记录菌落形态、颜色、直径、质地等;在显微镜下观察菌丝、分生孢子、产孢结构和分生孢子梗等^[32]。

3)生长速度测定。采用十字交叉法测定菌落每天的平均生长直径,计算公式如下:

$$V = S/D \quad (1)$$

式中, V 为菌落生长速度(单位:mm/d); S 为菌落直径(单位:mm); D 为生长天数(单位:d)。

4)DNA提取。切取虫生真菌组织块或挑取培养7~10 d的分离物菌丝于2 mL离心管中,研磨,采用改良的十六烷基三甲基溴化铵(hexadecyl trimethyl ammonium bromide, CTAB)法^[33]抽提基因组DNA,用1%琼脂糖凝胶检测DNA样品的质量和浓度。

5)聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,

PCR)扩增及序列测定。采用引物对ITS1/ITS4扩增样品的内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)序列。引物ITS1和ITS4^[34]由上海生工生物工程有限公司合成。PCR反应体系25 μ L,含2 $\times$ Taq PCR StarMix(北京康润诚业生物科技有限公司)12.5 μ L,ITS1和ITS4(10 μ M)各0.5 μ L,ddH₂O 9 μ L,DNA模板2.5 μ L。PCR反应条件为94℃预变性10 min;94℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸1 min,循环30次;72℃延伸5 min。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测后,送上海生工生物工程有限公司双向测序。

6)序列数据处理及系统发育树构建。测序数据经DNAMAN 7(<https://www.lynnon.com/dnaman.html>)拼接,人工剪切并校对后提交数据库。选取NCBI(National Center for Biotechnology Information)(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)GenBank数据库中的有关模式菌株或代表菌株ITS序列,基于MEGA12.0.9^[35],用其与本研究获得的序列构建最大似然(maximum likelihood,ML)系统发育树,运行1 000次Bootstrap验证。同时利用MrModeltest 2.3^[36]确定模型,运用MrBayes 3.2.5^[37]通过Markov Chain Monte Carlo(MCMC)检索运算500万代,忽略前25%棵树,从剩余的树中计算贝叶斯支持率(Bayesian inference posterior probability, BIPP),生成的系统发育树使用FigTree 1.4.4查看。

7)物种多样性分析。基于 α 多样性分析保护区内虫生真菌的数量特征、物种丰富度指数和生态优势度指数,用Excel 2019软件进行统计分析^[38]。生态优势度计算公式如下:

$$C = \frac{N_i(N_i - 1)}{N(N - 1)} \quad (2)$$

式中, N_i 为某物种个体数; N 为所有物种个体数量。

2 结果与分析

2.1 湖北南河国家级自然保护区虫生真菌分布

本研究在湖北南河国家级自然保护区采集到83份虫生真菌样品,分布区域涵盖青龙山村、鲁家油坊村、左庙村、渔坪村、东坪村、白水峪村、沈垭村,而韩家山村、万兴村、大谷峪村暂未发现虫生真菌,其中优势分布区域(≥ 15 份)为左庙村、渔坪村及鲁家油坊村,在这3个村分别采集到27份、21份和18份样品,分别占虫生真菌样品的32.53%、25.30%和21.69%;样品分布海拔高度为200~1 100 m,其中在400~1 000 m海拔区域采集到69份样品(占比83.13%),主要分布在左庙村、渔坪村、鲁家油坊村,

13 份分布在海拔 400 m 以下区域,1 份分布在海拔 1 000 m 以上区域。所采集样品的鉴定结果见表 1。

2.2 湖北南河国家级自然保护区虫生真菌物种多样性

经形态学观察和分子系统学分析,83 份虫生真菌样品被鉴定为 3 科 6 属 14 种,详见表 2。查阅已发表的有关文献资料,高水紫孢霉(*Purpureocillium takamizusanense*)和橙黄鳞翅虫草(*Samsoniella aurantia*)为湖北省首次发现。

基于物种丰富度及生态优势度分析,湖北南河国家级自然保护区虫生真菌物种多样性丰富,优势

科为虫草科(≥ 10 种),占 78.57%,优势属(≥ 5 种)为虫草属,占 50%,优势种为细脚虫草和鳞翅虫草(各 14 株),占 16.87%,生态优势度为 0.027 41。

83 份虫生真菌样品的寄主范围广泛,有螳螂目、蜘蛛目、膜翅目蜜蜂总科、半翅目蝽科、半翅目蝉科、鳞翅目天蛾科、直翅目蟋蟀科、直翅目蝗科、同翅目蜡蝉科等多种分类地位,涉及蛹、幼虫和成虫 3 个生长阶段,其中绿僵菌属(*Metarhizium*)、紫孢霉属(*Purpureocillium*)和白僵菌属(*Beauveria*)具有寄主广谱性,线虫草属(*Ophiocordyceps*)、虫草属(*Cordyceps*)和鳞翅虫草属(*Samsoniella*)相对具有寄主专一性。

表 1 所采集样品的鉴定结果
Table 1 Identification of the collected samples

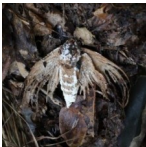
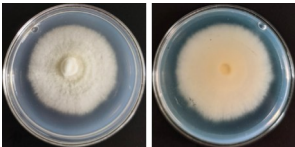
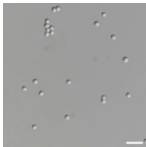
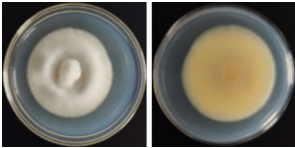
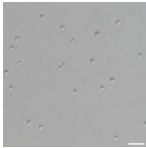
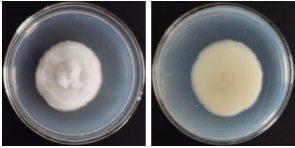
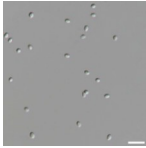
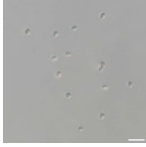
种	编号	采集地点	寄主	海拔/m	GenBank 登录号
球孢白僵菌(<i>Beauveria bassiana</i>)	YU0442, YU0572, YU0630, YU0861, YU0865, YU0968, YU0978, YU1088, YU1094, YU1136	鲁家油坊村,白水峪村,左庙村,渔坪村,东坪村	蜘蛛成虫,天蛾科成虫,蟋蟀科成虫,蝗科成虫,蝽科成虫,斑衣蜡蝉成虫	208.6~841.1	PP859057, PQ722144, PQ722153
拟球孢白僵菌(<i>B. pseudobassiana</i>)	YU0466, YU1126	鲁家油坊村,白水峪村	螳螂目成虫,蜜蜂成虫	261.5~728.8	PP859058, PQ722152
环链虫草(<i>Cordyceps cateniammulata</i>)	YU0519, YU0714, YU1063	鲁家油坊村,青龙山村,渔坪村	未知种类成虫	548.4~1 018.6	PP859059, PQ722146
玫烟色虫草(<i>C. fumosorosea</i>)	YU0649, YU0926, YU0949, YU1053	鲁家油坊村,左庙村,渔坪村	未知种类幼虫、蛹	414.1~840.2	PP859070, PQ722145
爪哇虫草(<i>C. javanica</i>)	YU1065, YU1067, YU1069, YU1070, YU1072, YU1092, YU1097, YU1105, YU1141	白水峪村,渔坪村,东坪村	鳞翅目幼虫,蜜蜂成虫	261.7~578.8	PQ722147, PQ722148, PQ722154
蛹虫草(<i>C. militaris</i>)	YU0709, YU0827, YU0857	鲁家油坊村,左庙村	未知种类蛹	636.5~889.8	PQ722137, PQ722142
粉被虫草(<i>C. pruinosa</i>)	YU0437	鲁家油坊村	未知种类蛹	624	PP859056
细脚虫草(<i>C. tenuipes</i>)	YU0582, YU0619, YU0627, YU0647, YU0746, YU0757, YU0855, YU0858, YU0881, YU0929, YU1034, YU1051, YU1054, YU1123	鲁家油坊村,青龙山村,白水峪村,左庙村,渔坪村	未知种类蛹	280.5~943.6	PP859063, PQ722141, PQ722151
鳞翅虫草(<i>C. lepidopterorum</i>)	YU0794, YU0795, YU0796, YU0797, YU0798, YU0799, YU0832, YU0847, YU0848, YU0849, YU0850, YU1066, YU1068, YU1076	鲁家油坊村,左庙村,渔坪村	蝉科幼虫	370.3~918.7	PQ722139, PQ722140, PQ722150
金龟子绿僵菌(<i>Metarhizium anisopliae</i>)	YU0748	青龙山村	蜜蜂成虫	934.1	PQ722138
下垂线虫草(<i>Ophiocordyceps nutans</i>)	YU412, YU0561, YU0705, YU0805, YU0834, YU0886	鲁家油坊村,左庙村,渔坪村	蝽科成虫	510.9~913.7	PP859048
高水紫孢霉(<i>Purpureocillium takamizusanense</i>)	YU0656, YU0852, YU1132, YU1140	鲁家油坊村,白水峪村,沈垭村	蝽科成虫	288.1~734.1	PP859071
橙黄鳞翅虫草(<i>Samsoniella aurantia</i>)	YU0578, YU0584, YU0586, YU0819, YU0820, YU0822, YU0824, YU0964, YU0973, YU0976	左庙村	鳞翅目幼虫	776.1~841.1	PP859062, PQ722143
鳞翅虫草属某种(<i>Samsoniella</i> spp.)	YU0577, YU1073	左庙村,渔坪村	未知种类蛹	462.8~841.1	PP859061, PQ722149

表 2 虫生真菌分类地位及样品数量
Table 2 Classification status and sample number of entomogenous fungi

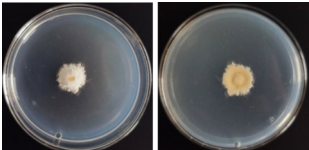
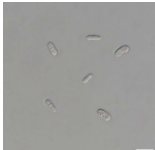
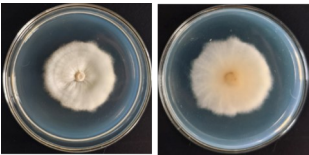
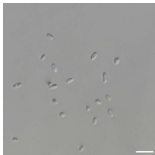
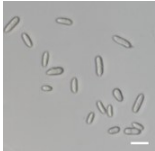
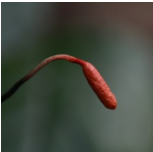
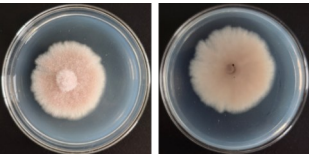
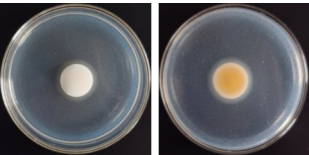
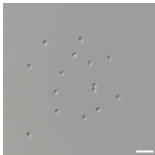
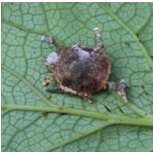
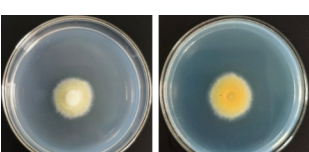
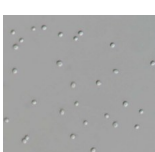
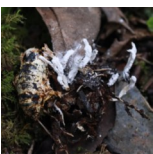
科	属	种	数量
麦角菌科(Clavicipitaceae)	绿僵菌属(<i>Metarhizium</i>)	金龟子绿僵菌(<i>Metarhizium anisopliae</i>)	1
线虫草科 (Ophiocordycipitaceae)	线虫草属(<i>Ophiocordyceps</i>)	下垂线虫草(<i>Ophiocordyceps nutans</i>)	6
	紫孢霉属(<i>Purpureocillium</i>)	高水紫孢霉(<i>Purpureocillium takamizusanense</i>)	4
虫草科 (Cordycipitaceae)	虫草属 (<i>Cordyceps</i>)	球孢白僵菌(<i>Beauveria bassiana</i>)	10
		拟球孢白僵菌(<i>B. pseudobassiana</i>)	2
		环链虫草(<i>Cordyceps cateniannulata</i>)	3
		玫烟色虫草(<i>C. fumosorosea</i>)	4
		爪哇虫草(<i>C. javanica</i>)	9
		鳞翅虫草(<i>C. lepidopterorum</i>)	14
		蛹虫草(<i>C. militaris</i>)	3
		粉被虫草(<i>C. pruinosa</i>)	1
		细脚虫草(<i>C. tenuipes</i>)	14
		橙黄鳞翅虫草(<i>Samsoniella aurantia</i>)	10
		鳞翅虫草属某种(<i>Samsoniella</i> spp.)	2

下垂线虫草(6份)、金龟子绿僵菌(1份)、蛹虫草(3份)未获得培养物。在其余分离物中,在28℃条件下菌落生长速度较快的有鳞翅虫草(3.38~4.64 mm/d)、球孢白僵菌(2.93~4.35 mm/d)、拟球孢白僵菌(3.78 mm/d)、细脚虫草(2.41~3.77 mm/d)和高水紫孢霉(3.18~3.68 mm/d),橙黄鳞翅虫草(1.20 mm/d)和粉被虫草(1.43 mm/d)菌落生长速度较慢(见表3)。

表 3 虫生真菌样品代表及其分离物的菌落形态、生长速度以及分生孢子形态
Table 3 Colony morphology, growth rate, and spore morphology of representative entomogenous fungal samples and their isolates

种	野外宏观形态	PDA 培养基上的菌落形态	菌落生长速度 /(mm•d ⁻¹)	分生孢子 (标尺=10 μm)
球孢白僵菌 (<i>Beauveria bassiana</i>)			2.93~4.35	
拟球孢白僵菌 (<i>B. pseudobassiana</i>)			3.78	
环链虫草 (<i>Cordyceps cateniannulata</i>)			2.61~3.05	
玫烟色虫草(<i>C. fumosorosea</i>)			2.68~3.11	
爪哇虫草 (<i>C. javanica</i>)			2.37~3.01	

续表

种	野外宏观形态	PDA 培养基上的菌落形态	菌落生长速度 /(mm•d ⁻¹)	分生孢子 (标尺=10 μm)
蛹虫草 (<i>C. militaris</i>)				
粉被虫草 (<i>C. pruinosa</i>)			1.43	
细脚虫草(<i>C. tenuipes</i>)			2.41~3.77	
鳞翅虫草(<i>C. lepidopterorum</i>)			3.38~4.64	
金龟子绿僵菌 (<i>Metarhizium anisopliae</i>)				
下垂线虫草 (<i>Ophiocordyceps nutans</i>)				
高水紫孢霉 (<i>Purpureocillium takamizusense</i>)			3.18~3.68	
橙黄鳞翅虫草 (<i>Samsoniella aurantia</i>)			1.20	
鳞翅虫草属 (<i>Samsoniella</i> spp.)	 YU0577		1.89	
	 YU1073			

2.3 系统发育树构建

以绿僵菌属、线虫草属、紫孢霉属、白僵菌属、虫草属和鳞翅虫草属 15 个种的模式菌株或代表菌株以及本研究获得的 28 个菌株为内群,普通虫囊菌 *Laboulbenia vulgaris* 和 *Laboulbenia collae* 为外群,构建图 1 所示的基于 ITS 序列的系统发育树,进一步验证供试虫生真菌的物种鉴定及分类地位。

3 讨论

湖北南河国家级自然保护区植被茂盛,雨量充沛,温度适宜,为虫生真菌提供了良好的生存环境,但该地区尚未有虫生真菌的记载。本研究于 2023—2024 年期间在湖北南河国家级自然保护区采集到 83 份虫生真菌样品,经形态学和分子序列数据分析,这些样品被鉴定为麦角菌科的绿僵菌属、线虫草

科的线虫草属和紫孢霉属以及虫草科的白僵菌属、虫草属和鳞翅虫草属,表明该保护区含有丰富的虫生真菌资源,物种多样性丰富。

虫生真菌在自然界广泛分布,在控制昆虫种群丰度方面起到重要作用。虫生真菌的分布受地质特征、气候类型、植被类型等条件的共同影响,在生态环境良好、温湿度适宜的森林地区,其丰度明显偏高。本研究采集的样品分布区域涵盖青龙山村、鲁家油坊村、左庙村、渔坪村、东坪村、白水峪村、沈垭村,海拔 200~1 000 m,基本覆盖湖北南河国家级自然保护区全境,反映该保护区生态环境受人为影响较小、受威胁程度较低。然而,在保护区内的韩家山村、万兴村、大谷峪村暂未发现虫生真菌,这可能与虫生真菌的生长及昆虫的成功感染与真菌所在的微环境密不可分有关,有待进一步加强野外调研。

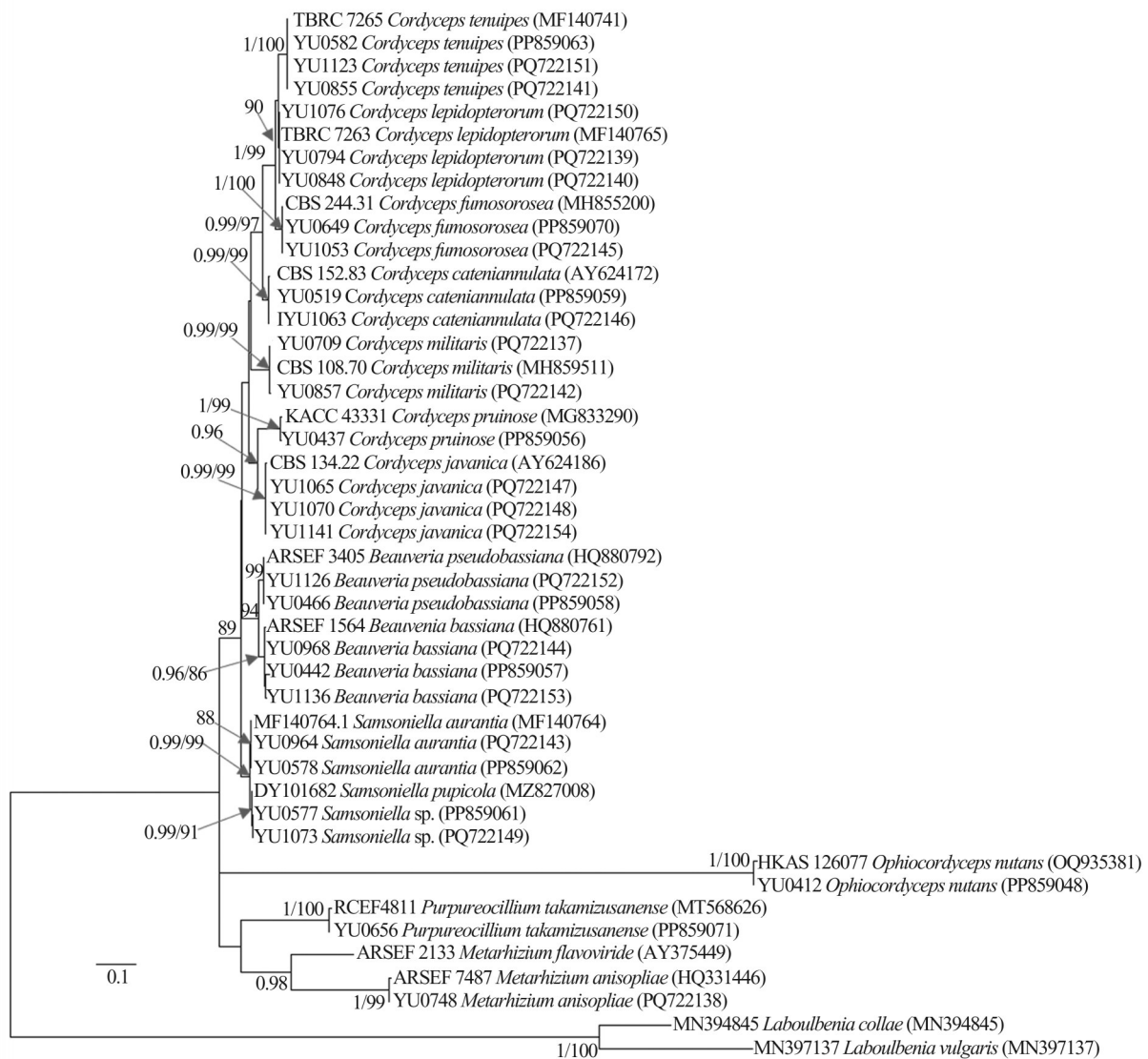


图 1 基于 ITS 序列构建的系统发育树

Figure 1 Phylogenetic tree constructed by ITS sequences

虫生真菌在自然界扮演着多种生态角色,从寄生者到腐生者,再到与植物共生,它们在生物间的相互作用中扮演着不可或缺的角色。作为寄生真菌,以昆虫为寄主,吸收寄主营养,完成本身在自然界中的繁殖扩散,影响昆虫种群动态,从而在生态平衡中起到调节作用,在农林害虫的防治中发挥重要作用。本研究中的绿僵菌属、紫孢霉属和白僵菌属是已广泛应用的生物防治资源;线虫草属、虫草属和鳞翅虫草属部分虫草富含虫草素、虫草酸、虫草多糖、麦角甾醇、多肽等,具有抗肿瘤、抗凋亡、抗高血压、抗氧化,调节人体免疫功能及肾脏肝脏保护等多种生理、药理活性^[39],是良好的食药两用真菌。

紫孢霉属是以淡紫紫孢霉(*Purpureocillium lilacinum*)为模式种建立的属^[40],目前该属仅描述7种(<https://www.indexfungorum.org>)。本研究发现的湖北新记录种高水紫孢霉在中国仅安徽、福建、湖南和江西采集过^[41-43],具有良好的生物防治潜力^[44],值得进一步探索。

鳞翅虫草属是以茵他依鳞翅虫草(*Samsoniella inthanonensis*)为模式种建立的属^[17],隶属于虫草科,其主要特征在于产生亮橙色圆柱状至棒状的子座,分生孢子卵圆形至梭形,常聚集成链状。目前该属有36个种,本研究发现的橙黄鳞翅虫草为湖北省首次发现的属和种,在中国仅云南和贵州采集过^[45]。形态学及系统发育分析显示,YU0577和YU1073样本属于鳞翅虫草属,但两者的子座宏观形态及培养特征差异明显,ITS序列相差2个碱基,两者与*Samsoniella pupicola*(MZ827008)分别相差5个和3个碱基,未聚于同一分支,有待后续利用其他分子数据来确定。

自然界中虫生真菌种类丰富,不同物种的形态特征具有相似性,寄主、环境以及不同生长阶段的差异等会导致虫生真菌鉴定困难。ITS序列是目前真菌分子鉴定的通用序列,但由于进化、变异,甚至分析方法等,有的真菌类群在间隔区上差异性较小,不适合属内种及种群的标记,需要协同LSU、TEF、RPB1、RPB2等多位点基因序列联合分析。蝉花是中国重要的药用真菌,其有性型曾被认为是*Cordyceps cicadae*或*Cordyceps sobolifera*等。有学者对其有性型和无性型进行形态和多基因系统发育研究,将其鉴定为*Cordyceps chanhua*^[46],也有人认为*Cordyceps chanhua*与鳞翅虫草(*Cordyceps lepidopterorum*)的亲缘关系相近,除寄主不同外,其形态特征无显著差异,建议鳞翅虫草(*Cordyceps lepidopterorum*)为该物种的正式名称^[24]。依据ITS系

统发育分析,本研究的样品与*Cordyceps lepidopterorum*的支持率为90%。

不同生境区域的虫生真菌资源差异显著,研究其在自然生态系统中的物种多样性和分布规律对挖掘其食用、药用价值及生物防治的开发和利用具有重要意义。本研究结果显示,湖北南河国家级自然保护区虫生真菌资源丰富,物种多样性较高,不仅补充了该保护区、湖北省乃至中国的虫生真菌物种组成和区域分布,还保存着优质食药两用和生物防治菌种资源,为该地区虫生真菌资源的保护和合理开发利用奠定基础。

参考文献

- [1] 梁宗琦. 虫生真菌的多样性[J]. 生物多样性, 1996, 4(4): 235-241.
Liang Z Q. Biodiversity of entomogenous fungi[J]. Biodiversity Science, 1996, 4(4): 235-241.
- [2] 董彩虹, 李文佳, 李增智, 等. 我国虫草产业发展现状、问题及展望: 虫草产业发展金湖宣言[J]. 菌物学报, 2016, 35(1): 1-15.
Dong C H, Li W J, Li Z Z, et al. *Cordyceps* industry in China: current status, challenges and perspectives: Jinhu declaration for *Cordyceps* industry development[J]. Mycosystema, 2016, 35(1): 1-15.
- [3] 郭文场, 刘颖. 冬虫夏草的研究[J]. 福建中医药, 1958, 3(2): 31-32.
Guo W C, Liu Y. Study on *Ophiocordyceps sinensis* [J]. Fujian Journal of Traditional Chinese Medicine, 1958, 3(2): 31-32.
- [4] Saccardo P A. Enumeratio pyrenomycetum hypocreaceorum hucusque cognitorum systemate carpologico dispositum[J]. Michelia, 1878, 1(3): 277-325.
- [5] 王露露, 王辉, 熊焰, 等. 虫生真菌防治农作物害虫的研究进展[J]. 热带生物学报, 2022, 13(3): 309-314.
Wang L L, Wang H, Xiong Y, et al. Advances in the control of crop pests by using entomopathogenic fungi[J]. Journal of Tropical Biology, 2022, 13(3): 309-314.
- [6] Rattanakul C. Dynamical modeling of the control of brown planthoppers by *Beauveria bassiana* and *Cyrtorhinus lividipennis*[J]. Advances in Difference Equations, 2019, 2019(1): 232.
- [7] Bhardwaj N, Rajaura S, Chauhan P, et al. Metabolomics and therapeutic potential of *Ophiocordyceps sinensis* [M]//Swamy K M, Kumar A. Phytochemical Genomics. Singapore: Springer Nature Singapore, 2022: 319-342.

- [8] 左锦辉, 贡晓燕, 董银卯, 等. 蛹虫草的活性成分和药理作用及其应用研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(21): 330-339.
- Zuo J H, Gong X Y, Dong Y M, et al. Research achievements in bioactive components, pharmacological effects and applications of *Cordyceps militaris*[J]. Food Science, 2018, 39(21): 330-339.
- [9] Beattie K D, Ulrich R, Grice I D, et al. Ethanolic and aqueous extracts derived from Australian fungi inhibit cancer cell growth *in vitro*[J]. Mycologia, 2011, 103(3): 458-465.
- [10] Kuo Y C, Weng S C, Chou C J, et al. Activation and proliferation signals in primary human T lymphocytes inhibited by ergosterol peroxide isolated from *Cordyceps cicadae* [J]. British Journal of Pharmacology, 2003, 140(5): 895-906.
- [11] Wang G Z, Li M, Zhang C H, et al. Transcriptome and proteome analyses reveal the regulatory networks and metabolite biosynthesis pathways during the development of *Tolypocladium guangdongense* [J]. Computational and Structural Biotechnology Journal, 2020, 18: 2081-2094.
- [12] Kobayasi Y. Keys to the taxa of the genera *Cordyceps* and *Torrubiella* [J]. Transactions of the Mycological Society of Japan, 1982, 23(3): 329-364.
- [13] Sung G H, Hywel-Jones N L, Sung J M, et al. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi [J]. Studies in Mycology, 2007, 57: 5-59.
- [14] Quandt C A, Kepler R M, Gams W, et al. Phylogenetic-based nomenclatural proposals for Ophiocordycipitaceae (Hypocreales) with new combinations in *Tolypocladium* [J]. IMA Fungus, 2014, 5: 121-134.
- [15] Spatafora J W, Quandt C A, Kepler R M, et al. New 1F1N species combinations in Ophiocordycipitaceae (Hypocreales) [J]. IMA Fungus, 2015, 6(2): 357-362.
- [16] Kepler R M, Luangsa-ard J J, Hywel-Jones N L, et al. A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales) [J]. IMA Fungus, 2017, 8(2): 335.
- [17] Mongkolsamrit S, Noisripoom W, Thanakitpipattana D, et al. Disentangling cryptic species with isaria-like morphs in Cordycipitaceae [J]. Mycologia, 2018, 110(1): 230-257.
- [18] 赵志远, 王志勤, 范琪, 等. 云南大理太极山自然保护区广义虫草物种多样性[J]. 生态科学, 2021, 40(3): 128-135.
- Zhao Z Y, Wang Z Q, Fan Q, et al. Species diversity of *Cordyceps sensulato* in the Taiji Mountains Nature Reserve of Dali, Yunnan[J]. Ecological Science, 2021, 40(3): 128-135.
- [19] 周家喜, 邹晓, 周叶鸣. 尧人山国家森林公园虫生真菌资源初步调查[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(18): 244-248.
- Zhou J X, Zou X, Zhou Y M. Preliminary investigation on entomogenous fungi resources in Yaorenshan National Forest Park [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(18): 244-248.
- [20] 赵永鑫, 陈圻喆, 杜广祖, 等. 云南澜沧县思茅松林虫生真菌多样性研究[J]. 南方农业学报, 2022, 53(8): 2161-2174.
- Zhao Y X, Chen Q Z, Du G Z, et al. Study on diversity of entomogenous fungi in *Pinus kesiya* var. *langbianensis* forest in Lancang County, Yunnan Province [J]. Journal of Southern Agriculture, 2022, 53(8): 2161-2174.
- [21] 钱礼尧. 西藏虫生真菌多样性研究及其生物防治潜力挖掘[D]. 拉萨: 西藏大学, 2024.
- Qian L Y. Biodiversity investigation and biocontrol potential of entomopathogenic fungus in Tibet [D]. Lhasa: Xizang University, 2024.
- [22] 王四宝, 刘竞男, 黄勃, 等. 大别山地区虫生真菌群落结构与生态分布[J]. 菌物学报, 2004, 23(2): 195-203.
- Wang S B, Liu J N, Huang B, et al. The community structure and ecological distribution of entomogenous fungi in Dabie mountains [J]. Mycosystema, 2004, 23(2): 195-203.
- [23] 李文英, 贺运春, 王建明, 等. 山西省虫生真菌生态多样性研究[J]. 生物多样性, 2003, 11(1): 53-58.
- Li W Y, He Y C, Wang J M, et al. Ecological diversity of entomogenous fungi of three nature reserves in Shanxi Province [J]. Chinese Biodiversity, 2003, 11(1): 53-58.
- [24] Dong Q Y, Wang Y, Wang Z Q, et al. Morphology and phylogeny reveal five novel species in the genus *Cordyceps* (Cordycipitaceae, Hypocreales) from Yunnan, China [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 846909.
- [25] Chuang W Y, Lin Y C, Shrestha B, et al. Phylogenetic diversity and morphological characterization of cordycipitaceous species in Taiwan [J]. Studies in Mycology, 2024, 109: 1-56.
- [26] 曾宪顺, 刘治根, 刘启武. 神农架林区有虫草[J]. 华中农学院学报, 1983(4): 21.
- Zeng X S, Liu Z G, Liu Q W. There are *Cordyceps* in Shennongjia Forest Region [J]. Journal of Huazhong Agricultural College, 1983, 1983(4): 21.

- [27] 陈启武, 刘治根, 曾宪顺. 神农架虫草属真菌调查初报[J]. 华中农学院学报, 1984, 3(3): 17-19.
Chen Q W, Liu Z G, Zeng X S. A preliminary report on the investigation of *Cordyceps* fungi in Shennongjia [J]. Journal of Huazhong Agricultural College, 1984, 3(3): 17-19.
- [28] 李增智, 陈祝安, 吕昌仁, 等. 神农架的几种虫霉[M]//陈建斌, 孔祥荃. 神农架真菌与地衣. 北京: 世界图书出版社, 1989, 79-83.
Li Z Z, Chen Z A, Lü C R, et al. Some entomophthoraleid species in Shennongjia[M]// Chen J B, Kong X Q. Fungi and Lichens of Shennongjia. Beijing: World Publishing Corporation, 1989, 79-83.
- [29] 王睿. 湖北兴山大型子囊菌物种多样性和分子系统学研究[D]. 南京: 南京师范大学, 2019.
Wang R. An investigation on species diversity of macroascomycetes and research of molecular systematics in Xingshan County, Hubei Province[D]. Nanjing, Nanjing Normal University, 2019.
- [30] 陶欣. 后河国家级自然保护区大型真菌多样性[D]. 南京: 南京师范大学, 2022.
Tao X. Diversity of macrofungi in Houhe National Nature Reserve [D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2022.
- [31] 李飏, 蒲云海, 陈芬, 等. 湖北南河省级自然保护区种子植物区系研究[J]. 湖北林业科技, 2012, 41(2): 4-8, 19.
Li B, Pu Y H, Chen F, et al. Study on spermatophyte flora of Nanhe Provincial Nature Reserve [J]. Hubei Forestry Science and Technology, 2012, 41(2): 4-8, 19.
- [32] 段东娥. 越南虫草科分类及系统发育研究[D]. 昆明: 云南大学, 2020.
Duan D E. Taxonomy and phylogeny of Cordycipitaceae from Vietnam [D]. Kunming: Yunnan University, 2020.
- [33] Ceniz J L. Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification[J]. Nucleic Acids Research, 1992, 20(9): 2380.
- [34] White T J, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[M]//Innis M A, Gelfand D H, Sninsky J J, et al. PCR protocols: a guide to methods and applications. Amsterdam: Elsevier, 1990: 315-322.
- [35] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [36] Nylander J A A. MrModeltest v2[EB/OL]. (2018-09-11) [2023-12-30]. <https://github.com/nylander/MrModeltest2>.
- [37] Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, et al. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space[J]. Systematic Biology, 2012, 61: 539-542.
- [38] 许小蓉, 黄之镨, 许玉潇, 等. 昆明西山森林公园天然虫生真菌及其内生真菌的分离鉴定及多样性分析[J]. 微生物学通报, 2023, 50(1): 64-77.
Xu X R, Huang Z P, Xu Y X, et al. Isolation, identification, and diversity analysis of natural entomogenous fungi and endophytic fungi in Xishan Forest Park of Kunming [J]. Microbiology China, 2023, 50(1): 64-77.
- [39] Yue K, Ye M, Zhou Z J, et al. The genus *Cordyceps*: a chemical and pharmacological review [J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2013, 65(4): 474-493.
- [40] Luangsa-ard J, Houbraken J, van Doorn T, et al. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus* [J]. FEMS Microbiology Letters, 2011, 321(2): 141-149.
- [41] 林俨, 汪婷, 张胜利, 等. 蝉科昆虫病原真菌物种多样性[J]. 菌物学报, 2023, 42(3): 663-676.
Lin Y, Wang T, Zhang S L, et al. Species diversity of the entomopathogenic fungi that parasitize the Cicadidae insects[J]. Mycosystema, 2023, 42(3): 663-676.
- [42] 聂澄丰. 武夷山国家公园福建片区大型真菌物种多样性研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2024.
Nie C F. Studies on macrofungal species diversity in Fujian section of Wuyishan National Park[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2024.
- [43] 杨越婷. 江西官山国家级自然保护区大型真菌物种多样性研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2024.
Yang Y T. Study on macrofungal species diversity in Guanshan National Nature Reserve, Jiangxi Province [D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2024.
- [44] Nguyen N H, Tamura T, Shimizu K. Draft genome sequence of *Purpureocillium takamizusanense*, a potential bioinsecticide [J]. Microbiology Resource Announcements, 2022, 11(7): e0026822.
- [45] Wang Y, Wang Z Q, Thanarut C, et al. Phylogeny and species delimitations in the economically, medically, and ecologically important genus *Samsoniella* (Cordycipitaceae, Hypocreales) [J]. MycoKeys, 2023, 99: 227-250.
- [46] 李增智, 栾丰刚, Hywel-Jones Nigel L, 等. 与蝉花有关的虫草菌生物多样性的研究 II: 重要药用真菌蝉花有性型的发现及命名[J]. 菌物学报, 2021, 40(1):

95-107.

Li Z Z, Luan F G, Hywel-Jones Nigel L, et al. Biodiversity of cordycipitoid fungi associated with *Isaria cica-*

dae Miquel II : Teleomorph discovery and nomenclature of chanhua, an important medicinal fungus in China [J]. Mycosystema, 2021, 40(1): 95-107.