

细脚虫草 *Cordyceps tenuipes* 线粒体基因组系统发育分析

李松宇^{1,2#}, 陆莹玲^{1,2#}, 尹瑜璠^{1,2}, 李丹丹¹, 虞泓^{1,2*}

1 云南大学生态与环境学院云百草实验室, 云南 昆明 650091

2 云南大学 中国和东南亚虫草生物资源可持续利用国际联合研究中心, 云南 昆明 650091

摘要: 细脚虫草 *Cordyceps tenuipes* 是具药用价值的虫生真菌之一。本研究通过对3个采集地的细脚虫草 YFCCYY01 (中国昆明)、YFCCTL09 (泰国清迈)、YFCCDT06 (越南林同)的线粒体进行测序、组装和注释, 发现3株细脚虫草线粒体基因组为闭合环状, 大小分别为 40 752、48 187、32 385 bp, 共编码42个基因, 包括15个蛋白质编码基因(PCGs)、2个核糖体(rRNA)基因和25个转运RNA (tRNA) 基因。13个PCGs的起始密码子和终止密码子均是AUG和UAA, *nad3*和*rps3*的起始密码子和终止密码子则均为AUG和UAG, 偏好密码子均为UUA。在14个PCGs中氨基酸使用频率差异较大, 其中亮氨酸使用频率最高。25个tRNA基因可转运全部20种氨基酸, 其中20个tRNA基因二级结构为三叶草结构。通过构建肉座菌目6科51个物种的系统发育树, 确定细脚虫草属于肉座菌目 Hypocreales、虫草科 Cordycipitaceae、虫草属 *Cordyceps*。对虫草科线粒体基因组进行共线性分析, 发现14个物种存在4个同源区, 同源区域A最长。与其他虫草科物种相比, 细脚虫草线粒体基因组偏大, 同源区域相对较长。通过研究细脚虫草线粒体基因组可以确定其系统发育位置, 鉴别其物种特异性。以3个地方的细脚虫草做研究, 分析线粒体基因组在不同地理位置上的差异, 为后续细脚虫草的开发利用提供依据。

关键词: 细脚虫草; 虫草科; 线粒体基因组; 系统发育分析

[引用本文]

李松宇, 陆莹玲, 尹瑜璠, 李丹丹, 虞泓, 2025. 细脚虫草 *Cordyceps tenuipes* 线粒体基因组系统发育分析. 菌物学报, 44(9): 250072

Li SY, Lu YL, Yin YF, Li DD, Yu H, 2025. Phylogenetic analysis of the mitochondrial genome of the *Cordyceps tenuipes* strains. Mycosystema, 44(9): 250072

资助项目: 国家自然科学基金(31870017); 云南大学研究生科研创新基金

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31870017) and the Yunnan University Postgraduate Research Innovation Fund.

*Corresponding author. E-mail: hongyu@ynu.edu.cn

#Co-first author

Received: 2025-03-19; Accepted: 2025-04-22

Phylogenetic analysis of the mitochondrial genome of the *Cordyceps tenuipes* strains

LI Songyu^{1,2#}, LU Yingling^{1,2#}, YIN Yufan^{1,2}, LI Dandan¹, YU Hong^{1,2*}

1 Yunnan Herbal Laboratory, School of Ecology and Environmental Sciences, Yunnan University, Kunming 650091, Yunnan, China

2 The International Joint Research Center for Sustainable Utilization of Cordyceps Bioresources in China and Southeast Asia, Yunnan University, Kunming 650091, Yunnan, China

Abstract: *Cordyceps tenuipes* is one of the entomogenous fungi with medicinal value. Sequencing, assembly, and annotation of the mitochondrial genomes of *Cordyceps tenuipes* strains YFCCYY01 (Kunming, China), YFCCTL09 (Chiang Mai, Thailand), and YFCCDT06 (Lintong, Vietnam), revealed that the mitochondrial genomes of these three strains were circular molecules, with sizes of 40 752 bp, 48 187 bp, and 32 385 bp, respectively. In total, 42 genes were encoded, including 15 PCGs, 2 rRNAs and 25 tRNAs. AUG was start codon and UAA was stop codon of 13 PCGs, and AUG was start codon and UAG was stop codon of *nad3* and *rps3*; the preferred codon was UUA. The use frequency of amino acid in PCGs varies greatly, and Leu was the highest. 25 tRNAs genes transport all 20 amino acids, and the secondary structure of 20 tRNA genes was cloverleaf structure. Constructing the phylogenetic tree for 51 species from six families within Cordycipitaceae, revealed that *Cordyceps tenuipes* belonged to the family Cordycipitaceae under the order Hypocreales. The collinearity analysis of the mitochondrial genome of Cordycipitaceae showed that there were 4 homologous regions in 14 species, and the length of the homologous region A was the longest. Compared with other Cordycipitaceae species, the mitochondrial genome of *Cordyceps tenuipes* is larger and the homologous region is relatively long. By investigating the mitochondrial genome of *Cordyceps tenuipes*, we can ascertain its phylogenetic position and characterize its species-specific features. Analysis of the differences of mitochondrial genome in different geographical locations could provide basis for the subsequent development and utilization of *Cordyceps tenuipes*.

Keywords: *Cordyceps tenuipes*; Cordycipitaceae; mitochondrial genome; phylogenetic analysis

细脚虫草 *Cordyceps tenuipes* (Peck) Kepler, B. Shrestha & Spatafora (Kepler *et al.* 2017) 隶属于虫草科 Cordycipitaceae, 寄生于蝙蝠蛾及其幼虫, 世界范围内广泛分布, 野外常见其无性阶段 (梁宗琦等 2012), 有性型曾命名为高雄山虫草 *Cordyceps takaomontana* Yakushiji et Kumazawa (Shimizu 1994; 文庭池等 2004), 后根据最新国际植物命名法规定, 统一将其有性型和无性型阶段命名为细脚虫草。在中国, 细脚虫草主要分布于云贵川地区。细脚虫草具有多种药用价值, 可以提高肝脏对有害物质的解毒功能,

在抗乙型肝炎病毒方面有很好的效果 (陈召南 1992)。细脚虫草多糖可抗乙型肝炎病毒, 防止肝细胞坏死, 其作用靶点可能在转录、翻译水平 (刘桂君和文华安 2006), 同时还具有改善睡眠和抗抑郁、抗炎抗菌及有效消除体内自由基的特性; 此外, 该菌还是具有抗肿瘤、提高免疫力、抗抑郁、抗衰老、降低血脂、降低血糖等功能的药用真菌 (Wu *et al.* 2019)。与著名药用真菌冬虫夏草 *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora 相比, 两者的甾醇类、糖醇类等活性生物成分

的层析色谱大致相同,微量元素含量接近,但多类氨基酸含量高于冬虫夏草。细脚虫草的天然维生素 E 含量较高。由于化学成分可用于鉴别替代品,因此这些研究可为寻找冬虫夏草的最佳替代品提供数据支持(陈祝安和陈召南 1990;陈召南 1992)。细脚虫草作为“新型冬虫夏草”,在日本已作为保健食品进行开发,常称其为 *Cordyceps japonica* Yasuda (Shin *et al.* 2003),《韩国食品公典》(2001)将细脚虫草 *C. tenuipes* 和蛹虫草 *Cordyceps militaris* (L. ex Fr.) Link (于 2000 年被列入)列为食品原料(刘文丽等 2015)。

线粒体是真核生物细胞呼吸和生产能量的场所,遗传物质为环状 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA),因具有高拷贝数、低突变率和进化速度快等特点,可用于研究物种的起源、进化和分类(Alexeyev *et al.* 2013; Aguileta *et al.* 2014; Williams *et al.* 2014)。在研究分类时,线粒体结构特征、排列顺序等可作为重要依据(Gordon *et al.* 2009; Zhang *et al.* 2017)。不同物种间真菌线粒体基因组存在明显差异(Nie *et al.* 2019),研究表明,真菌线粒体基因组结构特征、基因序列和蛋白质编码基因的遗传信息可作为真菌分类的基础(Sun *et al.* 2022)。利用线粒体基因组进行遗传发育分析,可作为鉴别遗传较近真菌物种的辅助方法(孙涛等 2022; 常晓云等 2024; Ma *et al.* 2024)。GenBank 中已收录超过 680 种真菌物种线粒体基因组(Chen *et al.* 2021; Zhao *et al.* 2021),随着对真菌线粒体的研究,利用线粒体构建系统发育树作物种鉴定或成为主要方法之一。

本研究将对来自中国云南省昆明市野鸭湖(YFCCYY01)、泰国清迈植物园(YFCCTL09)和越南林同植物园(YFCCDT06)的细脚虫草菌株线粒体进行二代测序、组装和注释。通过分析其线粒体基因组的结构特征,包括蛋白质编码基因、密码子使用偏好及 tRNA 基因等,揭示其遗传特性。同时结合 GenBank 数据库肉座菌目 51 个物种线粒体基因组,将散囊菌目 Eurotiales 与粪壳菌目 Sordariales 作为外类群,

构建肉座菌目线粒体基因组系统发育框架,探讨细脚虫草系统发育位置。同时针对 3 个地方的细脚虫草进行研究,分析线粒体基因组在不同地理位置上的差异,为后续细脚虫草的开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 样品

本研究所用细脚虫草 *Cordyceps tenuipes* 菌株分别来自中国云南省昆明市野鸭湖(YFCCYY01)、泰国清迈植物园(YFCCTL09)和越南林同植物园(YFCCDT06),由云南云百草实验室有限公司提供。将菌株接种至 PDA 培养基(马铃薯 200 g/L,葡萄糖 20 g/L,琼脂 20 g/L),室温培养 7 d。

1.2 基因组 DNA 提取

取适量菌丝体,用 ZR Fungal DNA Kit (Catalogue number D6005)提取细脚虫草基因组 DNA。

1.3 全基因组测序

基因组 DNA 由武汉华大基因股份有限公司进行全基因组测序。利用 Illumina Truseq™ DNA Sample Preparation Kit (BGI)构建全基因组测序文库。于 Illumina HiSeq 4000 平台对文库进行全基因组测序,测序完成后去除低质量序列、接头序列等质量较差 Reads 获得 clean data,以 FASTQ 格式存储(Zhao *et al.* 2021)。

1.4 线粒体基因组组装和注释

使用软件 GetOrganelle v.1.6.2 (Jin *et al.* 2020)从 clean data 中获取线粒体基因组 Reads 并组装。通过 MFannot (<http://megasun.bch.umontreal.ca/cgi-bin/mfannot/mfannotInterface.pl/>)和 MITOS (<http://mitos.bioinf.uni-leipzig.de/index.py>)在线工具对线粒体基因组进行编码蛋白、tRNA 和 rRNA 基因预测后,结合从 NCBI 上已发表的细脚虫草线粒体基因组数据,使用软件 Geneious v.9.0.2 对线粒体基因组进行人工校正从而完成注释,并使用在线网站 Organellar Genome DRAW (OGDRAW) (MPI-MP CHLOROBX-OGDRAW) (<https://chlorobox.mpimp-golm.mpg.de/OGDraw.html>)工具绘制细脚虫草的线粒体基因组图(Lohse

et al. 2007; Bibi *et al.* 2023)。

1.5 线粒体基因组结构分析

用软件 Geneious v.9.0.2 统计线粒体基因组 GC 含量, 计算 15 个蛋白编码基因、2 个核糖体 RNA (rRNA) 及转运 RNA (tRNA) 基因的区间及大小, 并进行共线性分析。通过软件 phylosuite v.1.2.3 统计 PCGs 起始密码子和终止密码子。使用软件 tRNAscan-SE v.2.0.9 对 tRNA 基因进行分析, 用软件 VARNA v.3-93 绘制 tRNA 基因二级结构图。

1.6 系统发育分析

从 NCBI 上下载肉座菌目 51 个物种线粒体基因组序列, 结合本实验室 *Cordyceps tenuipes* 菌株 YFCCYY01、YFCCTL03、YFCCDT03, 以散囊菌目 Eurotiales 曲霉科 *Aspergillaceae* 物种 *Penicillium citrinum* 与粪壳菌目 Sordariales 粪壳菌科 *Sordariaceae* 物种 *Neurospora crassa* 为外类群, 将线粒体基因组 14 个蛋白编码基因(*nad6*、*nad2*、*nad3*、*atp9*、*cox2*、*nad4L*、*nad5*、*cob*、*cox1*、*nad1*、*nad4*、*atp8*、*atp6* 和 *cox3*), 使用软件 phylosuite v.1.2.3 构建 Bayesian inference (BI) 和 Maximum likelihood (ML) 系统发育树 (Zhang *et al.* 2020; Xiang *et al.* 2023), 使用 Figtree v.1.4.2 可视化系统发育树。

1.7 共线性分析

从 NCBI 上下载虫草科 14 个物种线粒体基因组注释数据, 使用软件 Mauve v.20150226 进行共线性分析。

2 结果与分析

2.1 线粒体基因组结构特征

细脚虫草菌株 YFCCYY01、YFCCTL09 和 YFCCDT06 的线粒体基因组呈闭合环状, 大小分别为 40 752、48 187、32 385 bp (图 1)。线粒体基因组 GC 含量差异小, 占比分别为 26.6%、26.1%、26.9%, 共编码 42 个基因(表 1–表 3), 包括 15 个蛋白质编码基因(*nad6*、*rps3*、*nad2*、*nad3*、*atp9*、*cox2*、*nad4L*、*nad5*、*cob*、*cox1*、*nad1*、*nad4*、*atp8*、*atp6* 和 *cox3*)、2 个核糖体 RNA (rRNA) 基因(*rnl* 和 *rns*) 和 25 个转运 RNA (tRNA)

基因。25 个 tRNA 基因长度范围为 71–85 bp, rRNA 基因中 *rnl* 长度分别为 6 201、6 217、6 182 bp, *rns* 长度均为 1 501 bp。42 个基因排列较为紧密, 但仍存在基因间区, 其中 YFCCTL09 相较于另外 2 个存在明显的基因间区, 在 *trnW*-UCA 和 *trnP*-UGG 间, 长度为 1 787 bp, 而 YFCCYY01 和 YFCCDT06 的最长基因间区在 *cox1* 与 *trnR*-UCU 间, 长度差异较小, 分别为 711 bp 和 709 bp; 基因间区占比差异较大, YFCCYY01 为 8.83%, YFCCTL09 为 25%, YFCCDT06 为 11.13%, 基因间区个数均为 39 个。在 3 个细脚虫草线粒体基因组中, *rps3* 都是嵌入至 *rnl* 基因区域中, *nad2* 与 *nad3* 重叠 1 bp, *nad4L* 与 *nad5* 重叠 1 bp。比较 3 株细脚虫草线粒体基因组各基因的长度(表 4), tRNA 基因中仅 *trnE*-UUC 有较小差别, 15 个蛋白质编码基因 (PCGs) 中 *atp9*、*cox3*、*nad1*、*cob*、*nad5*、*cox1*、*rnl* 的长度因含有的内含子数量和长度不同而有异, 除了 YFCCTL09 的 *cox3* 有密码子缺失, 其余的在除去内含子后其长度一样。通过比较 14 个 PCGs 的内含子含量(表 5)发现, 内含子数量及占比最多的是 YFCCTL09, 而 YFCCDT06 则最少。

2.2 蛋白质编码基因及密码子使用情况

3 株细脚虫草线粒体基因组中的 15 个 PCGs 全长分别为 29 819、33 641、20 685 bp。在 15 个 PCG 中, YFCCYY01、YFCCTL09 和 YFCCDT06 最短的均是 *atp8*, 为 147 bp, YFCCYY01 和 YFCCTL09 最长的均是 *cox1*, 但基因长度由于内含子的大小而差异大, 分别为 5 364 bp、9 055 bp, YFCCDT06 最长的则是 *nad5*, 为 4 939 bp (表 1–表 3)。在这 3 个菌株中, 除了 *nad3* 和 *rps3* 的终止密码子为 UAG, 其余的均为 UAA, 起始密码子均为 AUG (表 1–表 3)。

在 3 株细脚虫草线粒体基因组的编码蛋白中其各氨基酸使用频率差距较大(图 2)。3 个菌株各氨基酸使用频率相似, 其中亮氨酸(Leu)使用频率最高, 其次为异亮氨酸(Ile)和丝氨酸(Ser)。而半胱氨酸(Cys)、天冬氨酸(Asp)、谷

氨酸(Glu)、组氨酸(His)、甲硫氨酸(Met)、脯氨酸(Pro)、谷氨酰胺(Gln)、精氨酸(Arg)、缬氨酸(Val)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)出现频率普遍低于 5%，其中 Cys 仅占 0.65%–0.77%。

细脚虫草线粒体基因组 PCGs 密码子使用情况见表 6–表 8，YFCCYY01、YFCCTL09 和

YFCCDT06 的 15 个 PCGs 共使用密码子分别计 9 223、11 973 和 8 277 次(不含终止密码子)。3 个菌株使用次数最多的密码子均为 UUA、AUA、AAU。根据相对同义密码子使用度(relative synonymous codon usage, RSCU)，偏好使用的密码子相同，依次是 UUA 和 AGA。

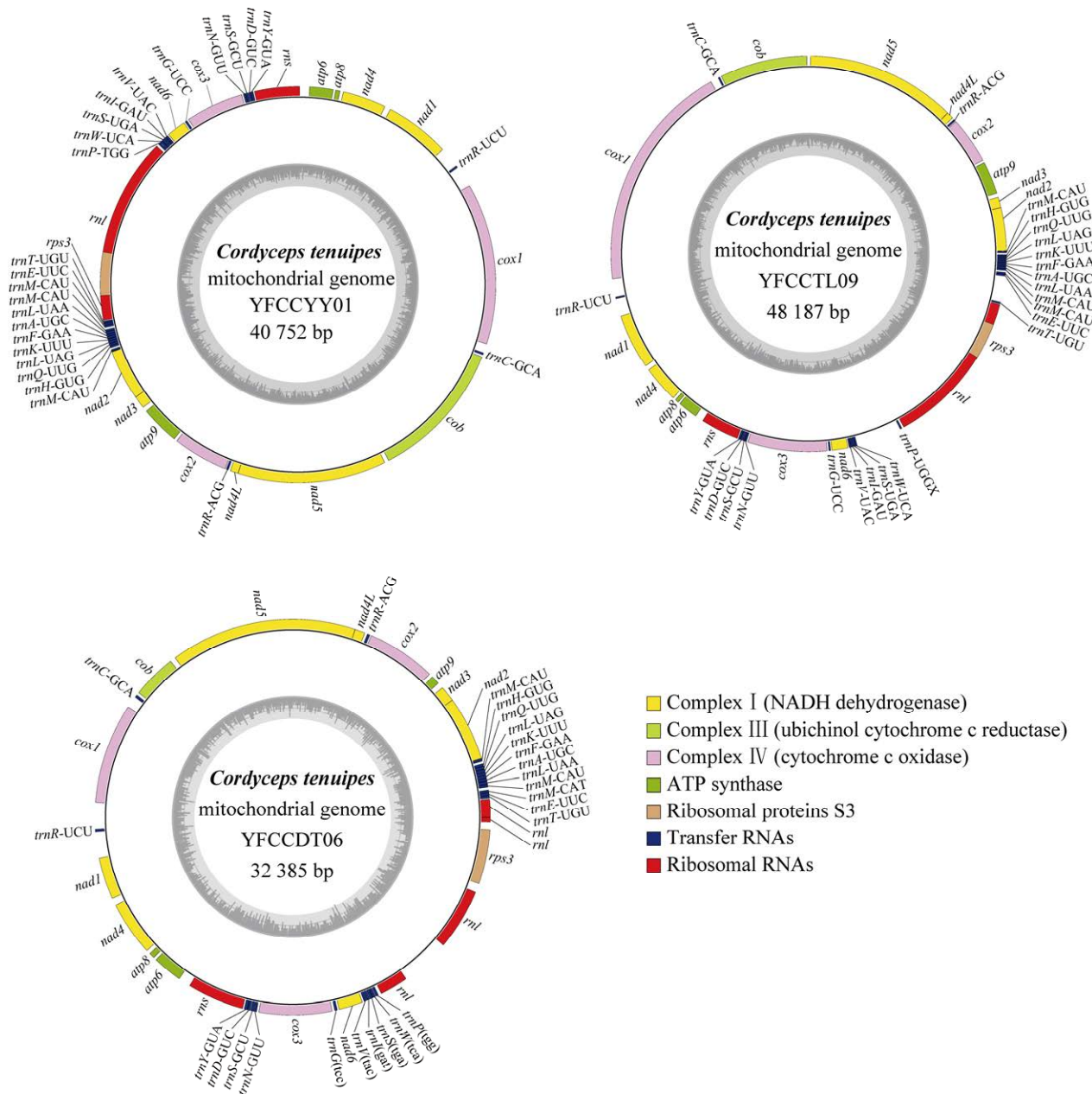


图1 细脚虫草 YFCCYY01、YFCCTL09、YFCCDT06 菌株线粒体基因组图谱 环图方向为逆时针方向，灰色圈层表示 GC 含量

Fig. 1 Mitochondrial genomes of *Cordyceps tenuipes* YFCCYY01, YFCCTL09 and YFCCDT06 strains. The direction of the ring diagram is counterclockwise. Gray circles indicate GC content.

表 1 细脚虫草菌株 YFCCYY01 线粒体基因组基因组成
Table 1 Composition of mitochondrial genome of *Cordyceps tenuipes* YFCCYY01

基因 Gene	区域 Region	总长 Length (bp)	基因间区 Intergenic length (bp)	起始密码子 Start codon	终止密码子 End codon	反密码子 Anticodon
<i>cox1</i>	38 778–40 752; 1–3 389	5 364	312	AUG	UAA	-
<i>trnR</i> -UCU	4 101–4 171	71	711	-	-	UCU
<i>nad1</i>	4 865–7 038	2 174	693	AUG	UAA	-
<i>nad4</i>	7 235–8 683	1 449	196	AUG	UAA	-
<i>atp8</i>	8 795–8 941	147	111	AUG	UAA	-
<i>atp6</i>	9 022–9 804	783	80	AUG	UAA	-
<i>rns</i>	10 131–11 631	1 501	326	-	-	-
<i>trnY</i> -GUA	11 672–11 756	85	40	-	-	GUA
<i>trnD</i> -GUC	11 760–11 832	73	3	-	-	GUC
<i>trnS</i> -GCU	11 847–11 927	81	14	-	-	GCU
<i>trnN</i> -GUU	11 936–12 006	71	8	-	-	GUU
<i>cox3</i>	12 064–13 989	1 926	57	AUG	UAA	-
<i>trnG</i> -UCC	14 057–14 127	71	67	-	-	UCC
<i>nad6</i>	14 176–14 811	636	48	AUG	UAA	-
<i>trnV</i> -UAC	14 856–14 927	72	44	-	-	UAC
<i>trnI</i> -GAU	14 937–15 008	72	9	-	-	GAU
<i>trnS</i> -UGA	15 020–15 103	84	11	-	-	UGA
<i>trnW</i> -UCA	15 105–15 176	72	1	-	-	UCA
<i>trnP</i> -UGG	15 191–15 262	72	14	-	-	UGG
<i>rnl</i>	15 348–21 548	6 201	85	-	-	-
<i>rps3</i>	19 297–20 739	1 443	-	AUG	UAG	-
<i>trnT</i> -UGU	21 575–21 645	71	26	-	-	UGU
<i>trnE</i> -UUC	21 651–21 722	72	5	-	-	UUC
<i>trnM</i> -CAU	21 724–21 794	71	1	-	-	CAU
<i>trnM</i> -CAU	21 867–21 939	73	72	-	-	CAU
<i>trnL</i> -UAA	21 943–22 024	82	3	-	-	UAA
<i>trnA</i> -UGC	22 028–22 099	72	3	-	-	UGC
<i>trnF</i> -GAA	22 101–22 173	73	1	-	-	GAA
<i>trnK</i> -UUU	22 180–22 252	73	6	-	-	UUU
<i>trnL</i> -UAG	22 254–22 337	84	1	-	-	UAG
<i>trnQ</i> -UG	22 341–22 413	73	3	-	-	UUG
<i>trnH</i> -GUG	22 415–22 488	74	1	-	-	GUG
<i>trnM</i> -CAU	22 549–22 620	72	60	-	-	CAU
<i>nad2</i>	22 628–24 319	1 692	7	AUG	UAA	-
<i>nad3</i>	24 319–24 738	420	–1	AUG	UAG	-
<i>atp9</i>	24 898–26 185	1 288	159	AUG	UAA	-
<i>cox2</i>	26 286–28 121	1 836	100	AUG	UAA	-
<i>trnR</i> -ACG	28 157–28 227	71	35	-	-	ACG
<i>nad4L</i>	28 299–28 568	270	71	AUG	UAA	-
<i>nad5</i>	28 568–33 509	4 942	–1	AUG	UAA	-
<i>cob</i>	33 652–38 317	4 666	142	AUG	UAA	-
<i>trnC</i> -GCA	38 394–38 465	72	76	-	-	GCA

表 2 细脚虫草菌株 YFCCTL09 线粒体基因组基因组成

Table 2 Composition of mitochondrial genome of *Cordyceps tenuipes* YFCCTL09

基因 Gene	区域 Region	总长 Length (bp)	基因间区 Intergenic length (bp)	起始密码子 Start codon	终止密码子 End codon	反密码子 Anticodon
<i>trnM</i> -CAU	42–113	72	61	-	-	CAU
<i>nad2</i>	121–1 812	1 692	7	AUG	UAA	-
<i>nad3</i>	1 812–2 231	420	-1	AUG	UAG	-
<i>atp9</i>	2 391–3 678	1 288	159	AUG	UAA	-
<i>cox2</i>	3 779–5 614	1 836	100	AUG	UAA	-
<i>trnR</i> -ACG	5 650–5 720	71	35	-	-	ACG
<i>nad4L</i>	5 800–6 069	270	79	AUG	UAA	-
<i>nad5</i>	6 069–11 973	5 905	-1	AUG	UAA	-
<i>cob</i>	12 116–15 554	3 439	142	AUG	UAA	-
<i>trnC</i> -GCA	15 624–15 695	72	69	-	-	GCA
<i>cox1</i>	16 008–25 062	9 055	312	AUG	UAA	-
<i>trnR</i> -UCU	25 774–25 844	71	711	-	-	UCU
<i>nad1</i>	26 543–28 716	2 174	698	AUG	UAA	-
<i>nad4</i>	28 912–30 360	1 449	195	AUG	UAA	-
<i>atp8</i>	30 472–30 618	147	111	AUG	UAA	-
<i>atp6</i>	30 699–31 481	783	80	AUG	UAA	-
<i>rrnS</i>	31 808–33 308	1 501	326	-	-	-
<i>trnY</i> -GUA	33 349–33 433	85	40	-	-	GUA
<i>trnD</i> -GUC	33 437–33 509	73	3	-	-	GUC
<i>trnS</i> -GCU	33 524–33 604	81	14	-	-	GCU
<i>trnN</i> -GUU	33 613–33 683	71	8	-	-	GUU
<i>cox3</i>	33 741–36 859	3 119	57	AUG	UAA	-
<i>trnG</i> -UCC	36 927–36 997	71	67	-	-	UCC
<i>nad6</i>	37 046–37 681	636	48	AUG	UAA	-
<i>trnV</i> -UAC	37 726–37 797	72	44	-	-	UAC
<i>trnI</i> -GAU	37 807–37 878	72	9	-	-	GAU
<i>trnS</i> -UGA	37 890–37 973	84	11	-	-	UGA
<i>trnW</i> -UCA	37 975–38 046	72	1	-	-	UCA
<i>trnP</i> -UGG	39 834–39 905	72	1 787	-	-	UGG
<i>rrnL</i>	39 991–46 207	6 217	85	-	-	-
<i>rps3</i>	43 956–45 398	1 443	-	AUG	UAG	-
<i>trnT</i> -UGU	46 234–46 304	71	835	-	-	UGU
<i>trnE</i> -UUC	47 329–47 401	73	1 024	-	-	UUC
<i>trnM</i> -CAU	47 403–47 473	71	1	-	-	CAU
<i>trnM</i> -CAU	47 546–47 618	73	72	-	-	CAU
<i>trnL</i> -UAA	47 622–47 703	82	3	-	-	UAA
<i>trnA</i> -UGC	47 707–47 778	72	3	-	-	UGC
<i>trnF</i> -GAA	47 780–47 852	73	1	-	-	GAA
<i>trnK</i> -UUU	47 859–47 931	73	6	-	-	UUU
<i>trnL</i> -UAG	47 933–48 016	84	1	-	-	UAG
<i>trnQ</i> -UUG	48 020–48 092	73	3	-	-	UUG
<i>trnH</i> -GUG	48 094–48 167	74	1	-	-	GUG

表 3 细脚虫草菌株 YFCCDT06 线粒体基因组基因组成
Table 3 Composition of mitochondrial genome of *Cordyceps tenuipes* YFCCDT06

基因 Gene	区域 Region	总长 Length (bp)	基因间区 Intergenic length (bp)	起始密码子 Start codon	终止密码子 End codon	反密码子 Anticodon
<i>rrnL</i>	26 685–32 385; 1–481	6 182	85	-	-	-
<i>trnT</i> -UGU	508–578	71	26	-	-	UGU
<i>trnE</i> -UUC	584–655	72	5	-	-	UUC
<i>trnM</i> -CAU	657–727	71	1	-	-	CAU
<i>trnM</i> -CAU	800–872	73	72	-	-	CAU
<i>trnL</i> -UAA	876–957	82	3	-	-	UAA
<i>trnA</i> -UGC	961–1 032	72	3	-	-	UGC
<i>trnF</i> -GAA	1 034–1 106	73	1	-	-	GAA
<i>trnK</i> -UUU	1 113–1 185	73	6	-	-	UUU
<i>trnL</i> -UAG	1 187–1 270	84	1	-	-	UAG
<i>trnQ</i> -UUG	1 274–1 346	73	3	-	-	UUG
<i>trnH</i> -GUG	1 348–1 421	74	1	-	-	GUG
<i>trnM</i> -CAU	1 483–1 554	72	61	-	-	CAU
<i>nad2</i>	1 562–3 253	1 692	7	AUG	UAA	-
<i>nad3</i>	3 253–3 672	420	–1	AUG	UAG	-
<i>atp9</i>	3 832–4 056	225	159	AUG	UAA	-
<i>cox2</i>	4 157–5 992	1 836	100	AUG	UAA	-
<i>trnR</i> -ACG	6 028–6 098	71	35	-	-	ACG
<i>nad4L</i>	6 170–6 439	270	71	AUG	UAA	-
<i>nad5</i>	6 439–11 377	4 939	–1	AUG	UAA	-
<i>cob</i>	11 520–12 695	1 176	142	AUG	UAA	-
<i>trnC</i> -GCA	12 772–12 843	72	76	-	-	GCA
<i>cox1</i>	13 156–15 794	2 639	312	AUG	UAA	-
<i>trnR</i> -UCU	16 504–16 574	71	709	-	-	UCU
<i>nad1</i>	17 272–18 375	1 104	697	AUG	UAA	-
<i>nad4</i>	18 572–20 020	1 449	196	AUG	UAA	-
<i>atp8</i>	20 132–20 278	147	111	AUG	UAA	-
<i>atp6</i>	20 359–21 141	783	80	AUG	UAA	-
<i>rrnS</i>	21 468–22 968	1 501	326	-	-	-
<i>trnY</i> -GUA	23 009–23 093	85	40	-	-	GUA
<i>trnD</i> -GUC	23 097–23 169	73	3	-	-	GUC
<i>trnS</i> -GCU	23 184–23 264	81	14	-	-	GCU
<i>trnN</i> -GUU	23 273–23 343	71	8	-	-	GUU
<i>cox3</i>	23 401–25 326	1 926	57	AUG	UAA	-
<i>trnG</i> -UCC	25 394–25 464	71	67	-	-	UCC
<i>nad6</i>	25 513–26 148	636	48	AUG	UAA	-
<i>trnV</i> -UAC	26 193–26 264	72	44	-	-	UAC
<i>trnI</i> -GAU	26 274–26 345	72	9	-	-	GAU
<i>trnS</i> -UGA	26 357–26 440	84	11	-	-	UGA
<i>trnW</i> -UCA	26 442–26 513	72	1	-	-	UCA
<i>trnP</i> -UGG	26 528–26 599	72	14	-	-	UGG
<i>rps3</i>	30 615–32 057	1 443	-	AUG	UAG	-

表 4 细脚虫草线粒体基因组各基因总长比较
Table 4 Comparison of the total length of each gene in mitochondrial genome of *Cordyceps tenuipes*

基因 Gene	总长 Length (bp)			基因 Gene	总长 Length (bp)		
	YFCCYY01	YFCCTL09	YFCCDT06		YFCCYY01	YFCCTL09	YFCCDT06
<i>trnR</i> -UCU	71	71	71	<i>trnL</i> -UAA	82	82	82
<i>trnN</i> -GUU	71	71	71	<i>trnS</i> -UGA	84	84	84
<i>trnG</i> -UCC	71	71	71	<i>trnL</i> -UAG	84	84	84
<i>trnT</i> -UGU	71	71	71	<i>trnY</i> -GUA	85	85	85
<i>trnM</i> -CAU	71	71	71	<i>atp8</i>	147	147	147
<i>trnR</i> -ACG	71	71	71	<i>nad4L</i>	270	270	270
<i>trnV</i> -UAC	72	72	72	<i>nad3</i>	420	420	420
<i>trnI</i> -GAU	72	72	72	<i>nad6</i>	636	636	636
<i>trnW</i> -UCA	72	72	72	<i>atp6</i>	783	783	783
<i>trnP</i> -UGG	72	72	72	<i>atp9</i>	1 288	1 288	225
<i>trnC</i> -GCA	72	72	72	<i>rps3</i>	1 443	1 443	1 443
<i>trnA</i> -UGC	72	72	72	<i>nad4</i>	1 449	1 449	1 449
<i>trnM</i> -CAU	72	72	72	<i>rns</i>	1 501	1 501	1 501
<i>trnE</i> -UUC	72	73	72	<i>nad2</i>	1 692	1 692	1 692
<i>trnD</i> -GUC	73	73	73	<i>cox2</i>	1 836	1 836	1 836
<i>trnM</i> -CAU	73	73	73	<i>cox3</i>	1 926	3 119	1 926
<i>trnF</i> -GAA	73	73	73	<i>nad1</i>	2 174	2 174	1 104
<i>trnK</i> -UUU	73	73	73	<i>cob</i>	4 666	3 439	1 176
<i>trnQ</i> -UUG	73	73	73	<i>nad5</i>	4 942	5 905	4 939
<i>trnH</i> -GUG	74	74	74	<i>cox1</i>	5 365	9 055	2 639
<i>trnS</i> -GCU	81	81	81	<i>rnl</i>	6 201	6 217	6 182

注：红框内表示 3 株细脚虫草线粒体中基因长度存在差异的部分
Note: The red box shows the difference of gene length in mitochondria of three strains of *Cordyceps tenuipes*.

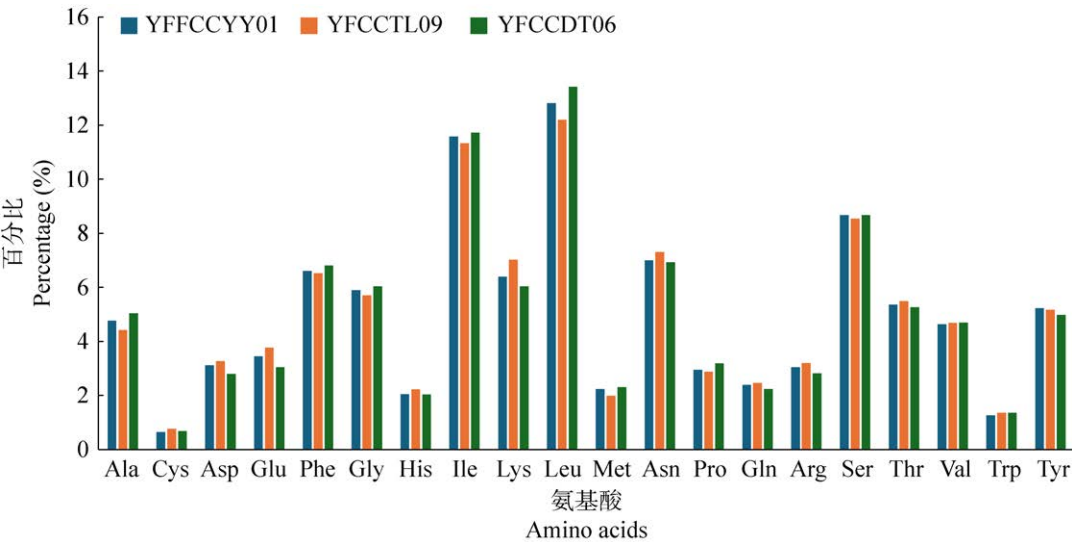


图 2 氨基酸在细脚虫草线粒体基因组编码蛋白中的使用频率
Fig. 2 Frequency of amino acids used in mitochondrial genome coding protein of *Cordyceps tenuipes*.

表 5 14 个 PCGs 内含子差异比较
Table 5 Comparison of 14 PCGs introns

基因 Gene	YFCCYY01			YFCCTL09			YFCCDT06		
	总长 Length (bp)	内含子占比 Intron proportion (%)	内含子个数 Intron amount	总长 Length (bp)	内含子占比 Intron proportion (%)	内含子个数 Intron amount	总长 Length (bp)	内含子占比 Intron proportion (%)	内含子个数 Intron amount
<i>atp9</i>	1 288	82.53	1	1 288	82.53	1	225	0	0
<i>cox3</i>	1 926	53.37	1	3 119	65.60	2	1 926	53.27	1
<i>nad1</i>	2 174	49.22	1	2 174	49.22	1	1 101	0	0
<i>cob</i>	4 666	74.80	3	3 439	65.80	2	1 176	0	0
<i>nad5</i>	4 942	58.96	2	5 905	65.66	3	4 939	58.94	2
<i>cox1</i>	5 365	70.12	3	9 055	82.31	6	2 639	39.30	1
<i>nad4L</i>	270	0	0	270	0	0	270	0	0
<i>cox2</i>	1 836	59.15	1	1 836	59.15	1	1 836	59.15	1
<i>nad3</i>	420	0	0	420	0	0	420	0	0
<i>nad6</i>	636	0	0	636	0	0	636	0	0
<i>atp6</i>	783	0	0	783	0	0	783	0	0
<i>atp8</i>	147	0	0	147	0	0	147	0	0
<i>nad4</i>	1 449	0	0	1 449	0	0	1 449	0	0
<i>nad2</i>	1 692	0	0	1 692	0	0	1 692	0	0
总占比 Total proportion	27 593	52.23	12	32 213	58.54	16	19 239	31.50	5

2.3 tRNA 基因及二级结构

在 3 株细脚虫草线粒体基因组中有 25 个 tRNA 基因，分布集中且固定。*cox2* 和 *nad4L*、*cob* 和 *cox1*、*cox1* 和 *nad1*、*cox3* 和 *nad6* 之间各分布 1 个 tRNA 基因，*rns* 和 *cox3* 之间分布 4 个 tRNA 基因，*nad6* 和 *rnl* 之间分布 5 个 tRNA 基因，*rnl* 和 *nad2* 之间分布 12 个 tRNA 基因(图 1，表 1–表 3)。

这 25 个 tRNA 基因可以转运全部 20 种氨基酸。其中，*trnY*-GUA、*trnS*-GCU、*trnL*-UAA、*trnS*-UGA 和 *trnL*-UAG 的二级结构有 1 个额外环，其余均为三叶草结构(图 3)。来自 3 个不同地区细脚虫草的线粒体基因组 tRNA 基因除了 *trnP*-UGG 和 *trnE*-UUC 外均相同，碱基错配的位置、类型及数量也一样。YFCCYY01 和 YFCCDT06 共有 51 处碱基错配，U-G 错配最多，存在 42 处，其余还有 U-U 错配 7 处、A-G 错配 1 处、A-C 错配 1 处。YFCCTL09 的 *trnE*-UUC 在 D 环上与其他两株相比，多了一个碱基 U 和

C，少了一个碱基 A，*trnP*-UGG 除反密码环的氨基酸序列一样外，其余部分的氨基酸序列与其他两株完全不一样(图 4)，相较于其他两株，YFCCTL09 共有 53 处碱基错配，U-G 错配 44 处。

2.4 肉座菌目线粒体基因组系统发育分析

利用肉座菌目下 6 个科(生赤壳科 Bionectriaceae、肉座菌科 Hypocreaceae、线虫草科 Ophiocordycipitaceae、麦角菌科 Clavicipitaceae、虫草科 Cordycipitaceae，以及丛赤壳科 Nectriaceae) 51 个物种的 14 个 PCGs 重建线粒体系统发育框架(图 5)。细脚虫草的系统发育位于肉座菌目虫草科，与细脚虫草(MK234910)聚为一支，与蝉花虫草 *Cordyceps cicadae* 为姐妹种，支持率较高，拓扑结构稳定，推测 YFCCYY01 (PV367932)、YFCCTL09 (PV367933)和 YFCCDT06 (PV367934) 所在分支为虫草属。从系统发育树中可以看出，PV367932 和 PV367933 支持率较低，推测二者之间的分化程度不高。

表 6 细脚虫草菌株 YFCCYY01 线粒体基因组 PCGs 密码子使用情况
Table 6 Usage of PCGs codon in mitochondrial genome of *Cordyceps tenuipes* YFCCYY01

氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	使用次数 Usage frequency	相对同义密码子使用 Relative synonymous codon usage	氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	使用次数 Usage frequency	相对同义密码子使用 Relative synonymous codon usage
Stop codon	UAA	26	1.79	Asn	AAU	570	1.76
	UAG	3	0.21		AAC	76	0.24
Ala	GCU	250	2.28	Pro	CCU	183	2.70
	GCC	28	0.26		CCC	6	0.09
	GCA	146	1.33		CCA	73	1.08
	GCG	15	0.14		CCG	9	0.13
Cys	UGU	51	1.70	Gln	CAA	209	1.90
	UGC	9	0.30		CAG	11	0.10
Asp	GAU	263	1.83	Arg	CGU	46	0.99
	GAC	24	0.17		CGC	9	0.19
Glu	GAA	277	1.75		CGA	6	0.13
	GAG	40	0.25		CGG	2	0.04
Phe	UUU	476	1.56	Ser	AGA	206	4.41
	UUC	133	0.44		AGG	11	0.24
Gly	GGU	290	2.14		UCU	234	1.75
	GGC	15	0.11		UCC	14	0.10
	GGA	202	1.49		UCA	206	1.54
	GGG	36	0.27		UCG	9	0.07
His	CAU	160	1.69	Thr	AGU	290	2.17
	CAC	29	0.31		AGC	47	0.35
Ile	AUU	355	1.00		ACU	223	1.81
	AUC	60	0.17		ACC	18	0.15
	AUA	653	1.83	Val	ACA	241	1.96
Lys	AAA	528	1.79		ACG	11	0.09
	AAG	61	0.21		GUU	131	1.23
Leu	UUA	971	4.93		GUC	8	0.07
	UUG	70	0.36		GUA	264	2.47
	CUU	68	0.35		GUG	24	0.22
	CUC	8	0.04	Trp	UGA	109	1.88
	CUA	62	0.31		UGG	7	0.12
Met	CUG	2	0.01	Tyr	UAU	424	1.76
	AUG	206	1.00		UAC	58	0.24

2.5 虫草科线粒体基因组共线性分析

通过对细脚虫草以及虫草科其他 13 个物种线粒体基因组进行共线性分析，发现 17 个线粒体基因组存在 A、B、C、D 这 4 个同源区(图 6)。这 4 个同源区的大小不一致，在所有物种中 A

区域占比最大，其中 C 区域较为保守，A、B 和 D 3 个区域长度存在一定变异，且每个同源区长度均存在一定差异。*C. militaris* (NC022834)、*C. tenuipes* (YFCCYY01)、*C. chanhua* (MH734937) 和 *C. tenuipes* (YFCCTL09)的 B 和 C 区域位置与

其他虫草科物种相反。与其他虫草科物种相比，细脚虫草的线粒体基因组较大，同源区域相对较长。比较的4株细脚虫草，*C. tenuipes* MK234910和*C. tenuipes* YFCCDT06与*C. tenuipes* YFCCYY01和*C. tenuipes* YFCCTL09有明显差异，线粒体基因组较大的YFCCYY01和YFCCTL09的B、C同源区排序与线粒体基因组较小的MK234910和YFCCDT06不同。从整体上看，14个虫草科物种随着线粒体基因组变大，重排现象越多，同源区也越长，推测虫草科物种间变异与线粒体基因组大小有关，且同源区长度不同是造成物种线粒体基因组大小差异的主要因素。

表 7 细脚虫草菌株 YFCCTL09 线粒体基因组 PCGs 密码子使用情况
Table 7 Usage of PCGs codon in mitochondrial genome of *Cordyceps tenuipes* YFCCTL09

氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	使用次数 Usage frequency	相对同义密码子使用 Relative synonymous codon usage	氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	使用次数 Usage frequency	相对同义密码子使用 Relative synonymous codon usage
Stop codon	UAA	31	1.77	Asn	AAU	752	1.72
	UAG	4	0.23		AAC	122	0.28
Ala	GCU	317	2.40	Pro	CCU	242	2.81
	GCC	32	0.24		CCC	10	0.12
	GCA	163	1.23		CCA	81	0.94
Cys	GCG	17	0.13	Gln	CCG	11	0.13
	UGU	76	1.65		CAA	282	1.91
	UGC	16	0.35		CAG	13	0.09
Asp	GAU	355	1.81	Arg	CGU	57	0.90
	GAC	37	0.19		CGC	12	0.19
Glu	GAA	397	1.76		CGA	6	0.09
	GAG	54	0.24	Ser	CGG	2	0.03
Phe	UUU	615	1.57		AGA	288	4.52
	UUC	166	0.43		AGG	17	0.27
Gly	GGU	361	2.11	Thr	UCU	288	1.74
	GGC	14	0.08		UCC	22	0.13
	GGA	264	1.55		UCA	251	1.52
His	GGG	44	0.26		UCG	14	0.08
	CAU	220	1.65	Val	AGU	364	2.20
	CAC	46	0.35		AGC	52	0.31
Ile	AUU	472	1.04		ACU	309	1.88
	AUC	72	0.16	Trp	ACC	20	0.12
	AUA	812	1.80		ACA	309	1.88
Lys	AAA	757	1.80		ACG	19	0.12
	AAG	84	0.20	Tyr	GUU	175	1.25
Leu	UUA	1 205	4.95		GUC	13	0.09
	UUG	80	0.33		GUA	339	2.42
	CUU	85	0.35	Met	GUG	33	0.24
	CUC	10	0.04		UGA	146	1.80
	CUA	72	0.30		UGG	16	0.20
	CUG	9	0.04		UAU	555	1.79
	AUG	237	1.00		UAC	64	0.21

表 8 细脚虫草菌株 YFCCDT06 线粒体基因组 PCGs 密码子使用情况

Table 8 Usage of PCGs codon in mitochondrial genome of *Cordyceps tenuipes* YFCCDT06

氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	使用次数 Usage frequency	相对同义密码子使用 Relative synonymous codon usage	氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	使用次数 Usage frequency	相对同义密码子使用 Relative synonymous codon usage
Stop codon	UAA	19	1.65	Asn	AAU	509	1.77
	UAG	4	0.35		AAC	65	0.23
Ala	GCU	246	2.37	Pro	CCU	168	2.56
	GCC	21	0.20		CCC	6	0.09
	GCA	135	1.30		CCA	82	1.25
	GCG	14	0.13		CCG	7	0.11
Cys	UGU	50	1.79	Gln	CAA	178	1.92
	UGC	6	0.21		CAG	7	0.08
Asp	GAU	217	1.88	Arg	CGU	32	0.82
	GAC	14	0.12		CGC	9	0.23
Glu	GAA	216	1.71		CGA	2	0.05
	GAG	36	0.29		CGG	1	0.03
Phe	UUU	430	1.53		AGA	176	4.53
	UUC	133	0.47		AGG	13	0.33
Gly	GGU	267	2.14	Ser	UCU	203	1.70
	GGC	11	0.09		UCC	14	0.12
	GGA	186	1.49		UCA	184	1.54
	GGG	35	0.28		UCG	9	0.08
His	CAU	142	1.68		AGU	261	2.18
	CAC	27	0.32		AGC	47	0.39
Ile	AUU	295	0.91	Thr	ACU	202	1.86
	AUC	58	0.18		ACC	14	0.13
	AUA	617	1.91		ACA	211	1.94
Lys	AAA	441	1.77		ACG	8	0.07
	AAG	58	0.23	Val	GUU	117	1.20
Leu	UUA	922	4.98		GUC	7	0.07
	UUG	65	0.35		GUA	241	2.48
	CUU	64	0.35		GUG	24	0.25
	CUC	7	0.04	Trp	UGA	104	1.86
	CUA	53	0.29		UGG	8	0.14
	CUG	0	0.00	Tyr	UAU	367	1.78
Met	AUG	190	1.00		UAC	45	0.22

3 讨论

本研究基于肉座菌目 6 科 51 个种的线粒体基因组 14 个 PCGs 基因重构系统发育树, 各科与各属物种聚为一支, 分支明显, 其拓扑结构与 Li *et al.* (2019) 构建线粒体系统发育树相似, 与 Wang *et al.* (2020) 和孙涛等(2022) 构建的 5 基因系统发育树相似, 进一步表明虫草科在线

粒体基因组结构上较为保守。分析线粒体基因组是除了形态观察和 5 基因构建系统发育树等方法外进行物种系统发育分析的又一有效方法(Nie *et al.* 2019; 孟国良等 2020)。目前对真菌线粒体基因组的研究很少(Chen *et al.* 2021; Zhao *et al.* 2021), 通过研究真菌线粒体基因组可以明确其系统发育和进化关系, 是研究真菌的极佳材料。

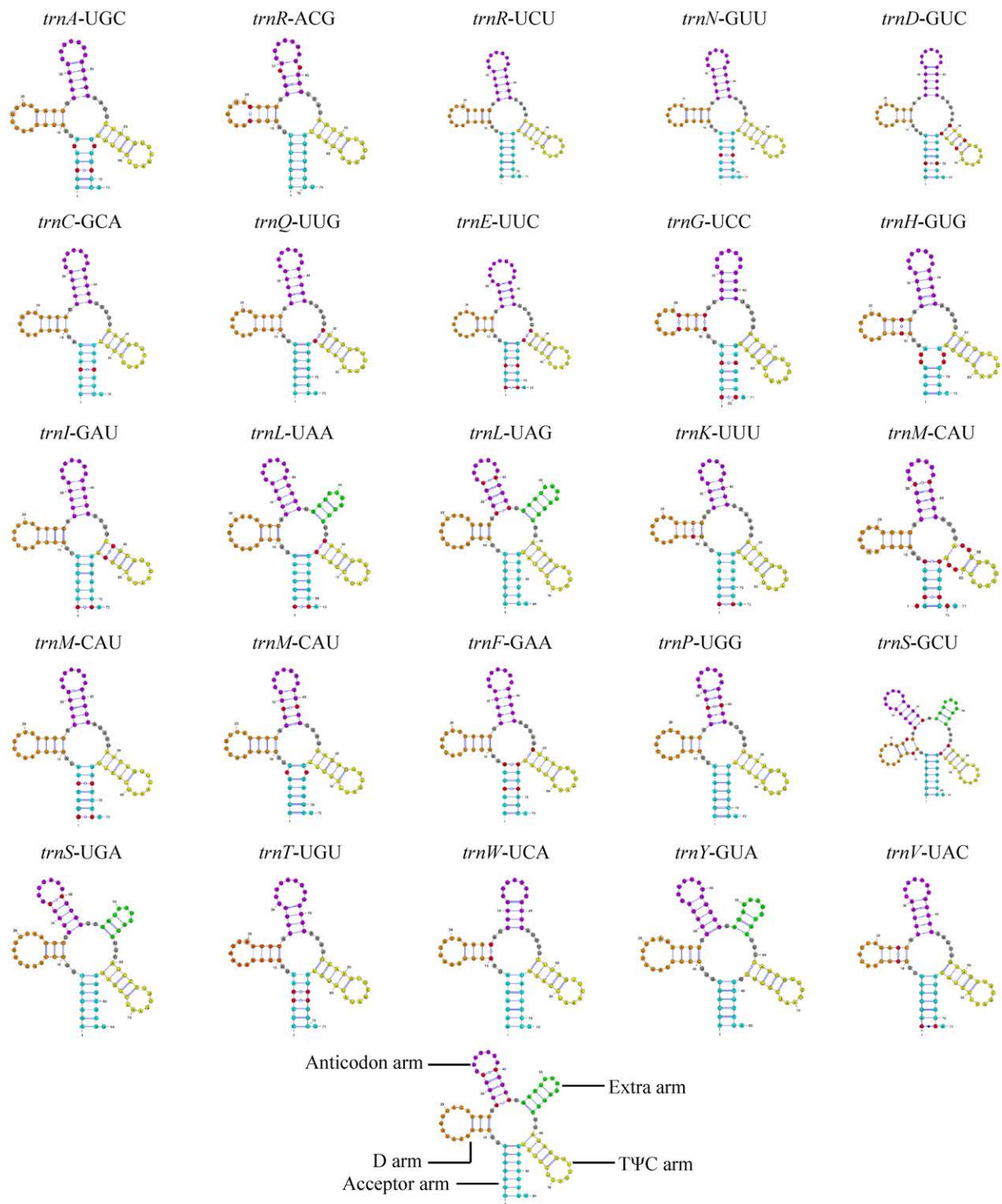


图3 细脚虫草线粒体基因组 tRNA 结构预测 蓝色部分表示氨基酸接受臂，橙色部分表示 D 环，紫色部分表示反密码环，绿色部分表示额外环，黄色部分表示 TΨC 环，红色部分表示错配碱基，数字表示碱基顺序

Fig. 3 Structure prediction of mitochondrial genome tRNA of *Cordyceps tenuipes*. The blue part represents the acceptor arm, the orange part represents the D arm, the purple part represents the anticodon arm, the green part represents the extra arm, the yellow part represents the TΨC arm, and the red part represents the mismatch base. Numbers represent the base sequence.

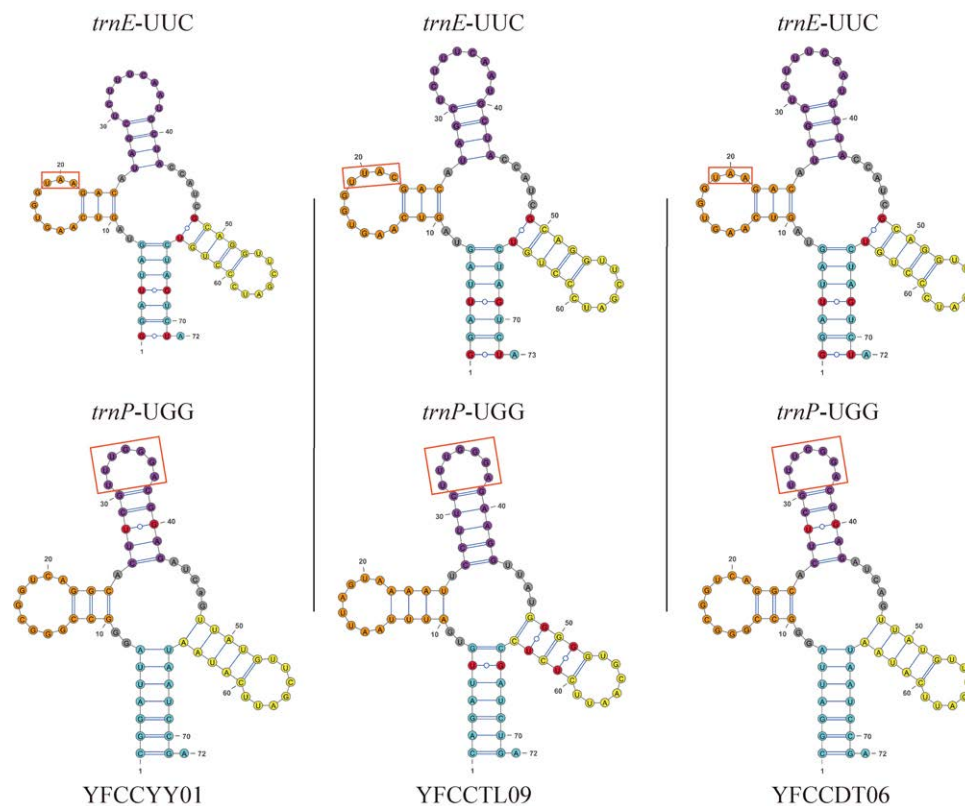


图 4 细脚虫草线粒体基因组 *trnE*-UUC、*trnP*-UGG 结构对比

Fig. 4 Comparison of *trnE*-UUC and *trnP*-UGG structures in mitochondrial genome of *Cordyceps tenuipes*.

本研究通过对来自 3 个不同地方的细脚虫草进行二代测序, 组装注释线粒体基因组, 发现细脚虫草线粒体基因组为闭合环状, 其大小分别为 32 385、48 187、40 752 bp, 共编码 42 个基因, 包括 15 个 PCGs、2 个 rRNA 基因和 25 个 tRNA 基因, 基因排列顺序均为 *nad2-nad3-atp9-cox2-nad4l-nad5-cob-cox1-nad1-nad4-atp8-atp6-rns-cox3-nad6-rnl*, 在 14 个 PCGs 中, *nad3* 的终止密码子为 UAG, 这些结构特征与李丹丹 (2019) 发表的细脚虫草线粒体基因组相同。与近源物种蝉花虫草 *C. chanhua* (MH7344973)、蝉花虫草 *C. cicadae* (NC041489)、蛹虫草 *C. militaris* (NC022834) 和虫草科的蝙蝠蛾鳞翅虫草 *Samsoniella hepialid* (孙涛等 2022) 和蜡蚧刺束梗孢 *Akanthomyces lecanii* (常晓云等 2024) 的线粒体基因组进行比较时发现, 只有细脚虫草的 *nad3* 终止密码子为 UAG, 其他 5 个物种 14 个 PCGs 的终止密码子均为 UAA, 除此之外结构上的差异小。通过对虫草科线粒体基因组进行共线

性分析, 发现 14 个物种存在 4 个同源区, 与其他虫草科物种相比, 细脚虫草的线粒体基因组较大, 同源区域相对较长。

本研究对 3 个采集地的细脚虫草线粒体基因组进行比较研究, 3 株分别来自中国云南、泰国清迈和越南林同。这 3 株细脚虫草在线粒体基因组结构、编码蛋白中氨基酸使用频率和密码子使用状况上都相似, 除 *trnE*-UUC 和 *trnP*-UGG 外的 23 个 tRNA 结构预测相同, 错配类型与位置也一致。通过构建线粒体基因组系统发育树发现, 4 株细脚虫草的分支不明显, 推测种内差异很小。YFCCYY01 和 YFCCTL09 分支的 BI 和 ML 支持率都偏低, 表明二者分化时间短, 未因地理等因素产生较大差异, 推测源自同一起源地, 同时, 通过比较 3 株细脚虫草线粒体基因组 14 个 PCGs 的内含子发现, YFCCYY01 和 YFCCTL09 在含有内含子的基因类型和总内含子数量上相似, 而 YFCCDT06 则很明显低于这两株 (表 5)。

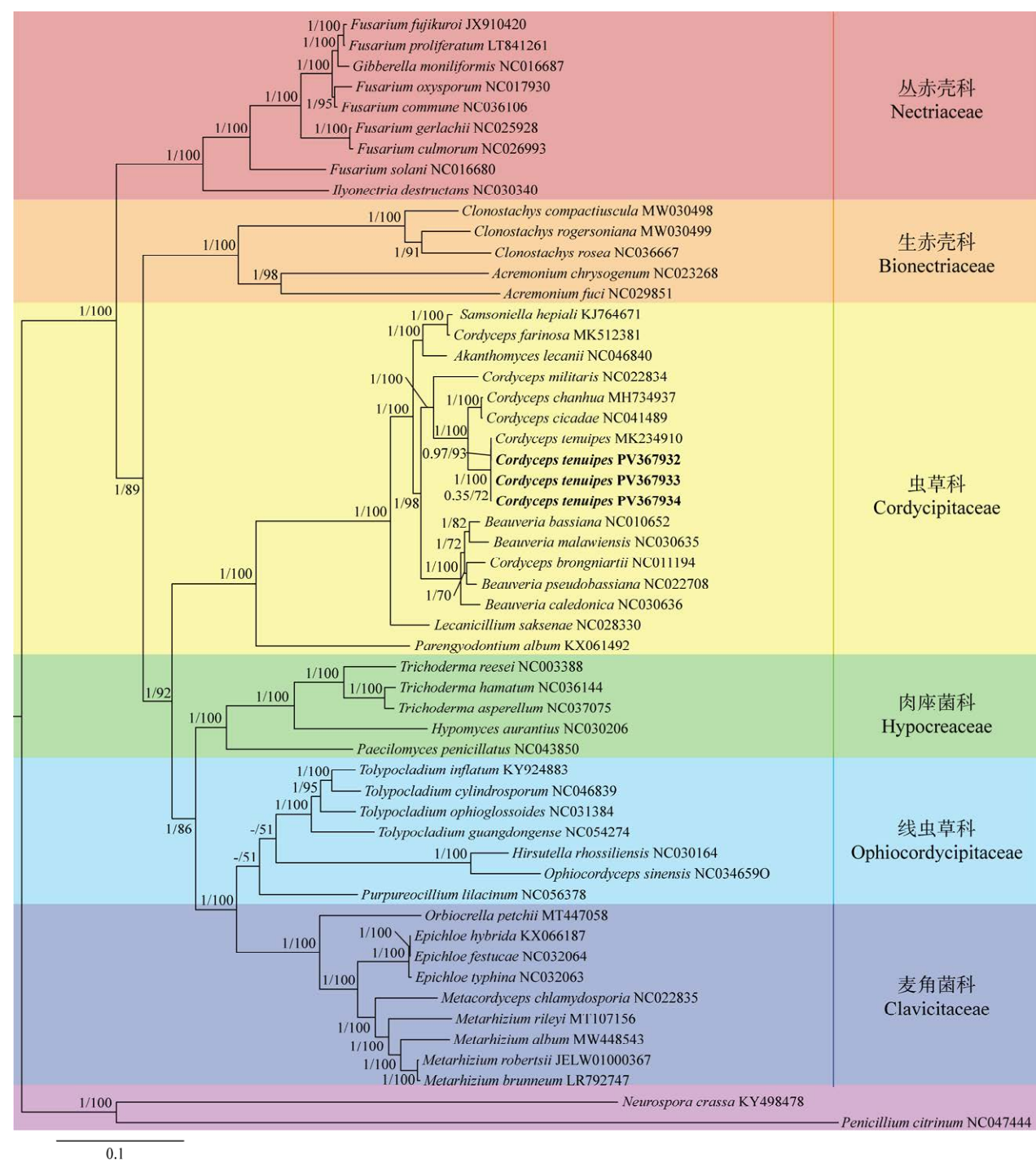


图 5 基于贝叶斯法和最大似然法构建肉座菌目线粒体基因组 14 个编码蛋白基因(PCGs)系统发育树 14 个 PCGs 基因包括 *cob*、*cox1*、*cox2*、*cox3*、*atp6*、*atp8*、*atp9*、*nad1*、*nad2*、*nad3*、*nad4*、*nad4L*、*nad5* 和 *nad6*；拓扑点上数字分别表示该分支的贝叶斯法(右)和最大似然法(左)支持率；以 *Neurospora crassa* 和 *Penicillium citrinum* 作为外类群，本研究所用菌株加粗表示

Fig. 5 Phylogenetic tree of 14 coding protein genes (PCGs) in the mitochondrial genome of Hypocreales based on the Bayesian inference (BI) and the maximum likelihood (ML). The 14 PCGs genes include *cob*, *cox1*, *cox2*, *cox3*, *atp6*, *atp8*, *atp9*, *nad1*, *nad2*, *nad3*, *nad4*, *nad4L*, *nad5* and *nad6*. The numbers on the topological points indicate the support rate of the BI (right) and the ML (left), respectively. *Neurospora crassa* and *Penicillium citrinum* are used as outer groups, and the strains are bold in this study.

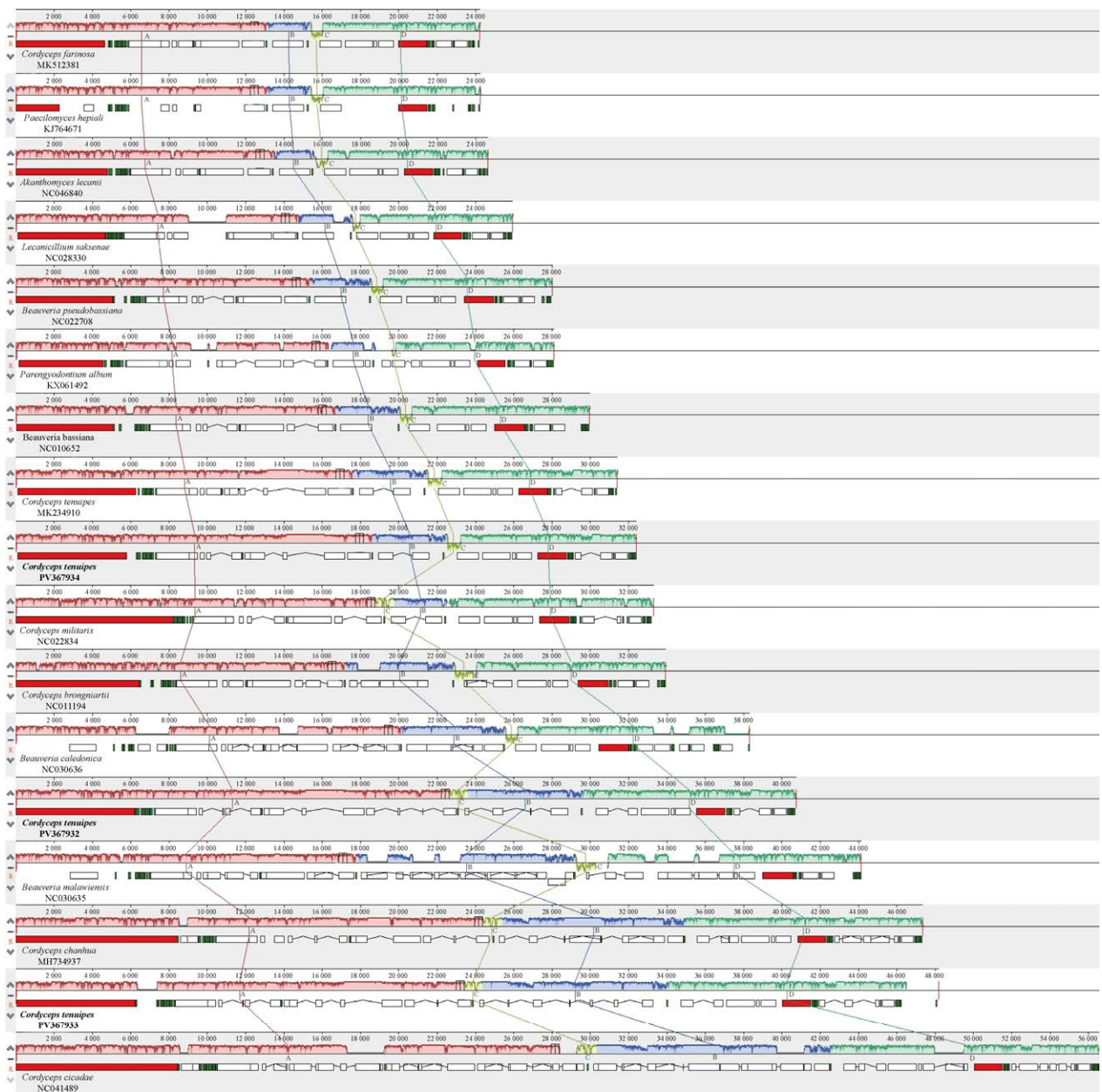


图 6 虫草科线粒体基因组共线性分析 同源区下不同颜色矩形代表不同类型基因的位置及长度

Fig. 6 Collinearity analysis of the mitochondrial genome of Cordycipitaceae. Colored rectangles beneath homologous regions indicate the specific positions and lengths of various gene types.

细脚虫草是一种具有潜在药用价值的真菌，在日本和韩国都已作为保健品而开发。线粒体作为细胞有氧呼吸的场所，担负着制造能量的使命，从线粒体的角度来说，其活性越好，真菌的生命活动也就越好，可以减少培养上的难度及加快代谢产物的合成。有研究表明，具有内含子的基因往往具有更高的基因表达水平(Juneau *et al.* 2006)，同时内含子在剪接、mRNA 转运、NMD

和表达调控等方面起作用，如在 RNA 合成过程中，内含子被剪切掉能避免 R-loop 的形成从而保持 DNA 的稳定性(Niu 2007)。此外，内含子作为真核生物基因组中的突变缓冲区，可以保护编码序列免受随机发生的有害突变的影响(Jo & Choi 2015)。因此从线粒体水平上来说，YFCCTL09 和 YFCCYY01 更适用于食品等领域的开发应用。

作者贡献

李松宇：论文撰写、数据处理及软件分析；
陆莹玲：试验思路设计、图表制作；尹瑜璠：菌种分离纯化及 DNA 提取；李丹丹：材料采集及数据提供；虞泓：虫草资源调查、论文审查和监督。

利益冲突

作者声明，该研究不存在任何潜在利益冲突的商业或财务关系。

[REFERENCES]

- Aguileta G, de Vienne DM, Ross ON, Hood ME, Giraud T, Petit E, Gabaldón T, 2014. High variability of mitochondrial gene order among fungi. *Genome Biology and Evolution*, 6(2): 451-465
- Alexeyev M, Shokolenko I, Wilson G, LeDoux S, 2013. The maintenance of mitochondrial DNA integrity—critical analysis and update. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(5): a012641
- Bibi S, Wang D, Wang Y, Mustafa G, Yu H, 2023. Mitogenomic and phylogenetic analysis of the entomopathogenic fungus *Ophiocordyceps lanpingensis* and comparative analysis with other *Ophiocordyceps* species. *Genes*, 14(3): 710
- Chang XY, Wang T, Li ZZ, Chen MJ, 2024. Sequence characteristics and phylogenetic relationship of the mitochondrial genome of *Akanthomyces lecanii*. *Microbiology China*, 51(8): 3103-3118 (in Chinese)
- Chen SQ, Wang YB, Zhu KF, Yu H, 2021. Phylogeny and morphology reveal *Ophiocordyceps pingbianensis* sp. nov., an entomopathogenic fungus from China. *Life*, 11(7): 686
- Chen ZA, Chen ZN, 1990. Culture of *Cordyceps tenuipes* and analysis of chemical constituents of its products. *Mycosystema*, 9(4): 304-311 (in Chinese)
- Chen ZN, 1992. Preliminary comparison of chemical constituents between *Paecilomyces tenuipes* (solid culture) and *Ophiocordyceps sinensis*. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 14(20): 36-37 (in Chinese)
- Gordon JL, Byrne KP, Wolfe KH, 2009. Additions, losses, and rearrangements on the evolutionary route from a reconstructed ancestor to the modern *Saccharomyces cerevisiae* genome. *PLoS Genetics*, 5(5): e1000485
- Jin JJ, Yu WB, Yang JB, Song Y, de Pamphilis CW, Yi TS, Li DZ, 2020. GetOrganelle: a fast and versatile toolkit for accurate de novo assembly of organelle genomes. *Genome Biology*, 21(1): 241
- Jo BS, Choi SS, 2015. Introns: the functional benefits of introns in genomes. *Genomics and Informatics*, 13(4): 112-118
- Juneau K, Miranda M, Hillenmeyer ME, Nislow C, Davis RW, 2006. Introns regulate RNA and protein abundance in yeast. *Genetics*, 174(1): 511-518
- Kepler RM, Luangsa-Ard JJ, Hywel-Jones NL, Quandt CA, Sung GH, Rehner SA, Aime MC, Henkel TW, Sanjuan T, Zare R, Chen M, Li Z, Rossman AY, Spatafora JW, Shrestha B, 2017. A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales). *IMA Fungus*, 8(2): 335-353
- Li DD, 2019. Study on genomics of *Cordyceps tenuipes* (Peck) Kepler, B. Shrestha & Spatafora. MS Thesis, Yunnan University, Kunming. 1-94 (in Chinese)
- Li DD, Zhang GD, Huang LD, Wang YB, Yu H, 2019. Complete mitochondrial genome of the important entomopathogenic fungus *Cordyceps tenuipes* (Hypocreales, Cordycipitaceae). *Mitochondrial DNA Part B*, 4(1): 1329-1331
- Liang ZQ, Han YF, Chu HL, 2012. *Flora fungorum sinicorum*. Vol. 43, (*Paecilomyces, Isaria, Taifanglania*). Science Press, Beijing. 1-154 (in Chinese)
- Liu GJ, Wen HA, 2006. Optimization of extraction process and determination method of polysaccharide from *Cordyceps tenuipes* mycelium. *Mycosystema*, 25(4): 625-632 (in Chinese)
- Liu WL, Cheng C, Yao S, 2015. The current situation of microbial food culture management in Republic of Korea. *Food and Fermentation Industry*, 41(11): 237-242 (in Chinese)
- Lohse M, Drechsel O, Bock R, 2007. Organellar genome DRAW (OGDRAW): a tool for the easy generation of high-quality custom graphical maps of plastid and mitochondrial genomes. *Current Genetics*, 52(5): 267-274
- Ma JM, Wang ZQ, Yang ZL, Sun T, Yang SD, Yu H, 2024. Morphology, phylogeny, and mitogenomics reveal a new entomopathogenic fungus, *Blackwellomyces changningensis* (Hypocreales, Clavicipitaceae), from southwestern China. *Mycologia*, 6: 1-17
- Meng GL, Zeng PM, Wang ZY, Cheng B, Ye LY, Wu XP, 2020. Application of the *Ganoderma multipileum* mitogenome to identification of *Ganoderma* species. *Mycosystema*, 39(1): 23-33 (in Chinese)
- Nie Y, Wang L, Cai Y, Tao W, Zhang YJ, Huang B, 2019. Mitochondrial genome of the entomophthoroid fungus *Conidiobolus heterosporus* provides insights into

- evolution of basal fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(1): 1379-1391
- Niu DK, 2007. Protecting exons from deleterious R-loops: a potential advantage of having introns. *Biology Direct*, 2: 11
- Shimizu D, 1994. Color iconography of vegetable waps and plant worms. Seibundo Shikosha, Tokyo. 1-381
- Shin KH, Lim SS, Lee S, Lee YS, Jung SH, Cho SY, 2003. Anti-tumour and immuno-stimulating activities of the fruiting bodies of *Paecilomyces japonica*, a new type of *Cordyceps* spp. *Phytotherapy Research*, 17(7): 830-833
- Sun T, Li TH, Huang O, Zhu KF, Chen SQ, Wang YA, Wang Y, Wang YB, Yu H, 2022. Phylogenetic analysis of the mitochondrial genome of the *Samsoniella hepiali* holotype strain. *Mycosystema*, 41(10): 1572-1584 (in Chinese)
- Sun T, Zou WQ, Dong QY, Huang O, Tang DX, Hong Y, 2022. Morphology, phylogeny, mitogenomics and metagenomics reveal a new entomopathogenic fungus *Ophiocordyceps nujiangensis* (Hypocreales, Ophiocordycipitaceae) from southwestern China. *MycoKeys*, 94: 91-108
- Wang YB, Wang Y, Fan Q, Duan DE, Yu H, 2020. Multigene phylogeny of the family Cordycipitaceae (Hypocreales): new taxa and the new systematic position of the Chinese cordycipitoid fungus *Paecilomyces hepiali*. *Fungal Diversity*, 103(1): 1-46
- Wen TC, Liang ZQ, Mei DQ, 2004. Advances of researches on the anamorph of *Cordyceps takaomontana*—*Paecilomyces tenuipes*. *Journal of Fungal Research*, 2(3): 58-62 (in Chinese)
- Williams S, Foster P, Littlewood D, 2014. The complete mitochondrial genome of a turbinid vetigastropod from MiSeq Illumina sequencing of genomic DNA and steps towards a resolve gastropod phylogeny. *Genes*, 533(1): 38-47
- Wu F, Zhou LW, Yang ZL, Bau T, Li TH, Dai YC, 2019. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. *Fungal Diversity*, 98: 1-76
- Xiang CY, Gao F, Jakovlić I, Lei HP, Hu Y, Zhang H, Zou H, Wang GT, Zhang D, 2023. Using PhyloSuite for molecular phylogeny and tree-based analyses. *iMeta*, 2(1): e87
- Zhang D, Gao F, Jakovlić I, Zou H, Zhang J, Li WX, Wang GT, 2020. PhyloSuite: an integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies. *Molecular Ecology Resources*, 20(1): 348-355
- Zhang S, Wang XN, Zhang XL, Liu XZ, Zhang YJ, 2017. Complete mitochondrial genome of the endophytic fungus *Pestalotiopsis fici*: features and evolution. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(4): 1593-1604
- Zhao ZY, Zhu KF, Tang DX, Wang YB, Wang Y, Zhang GD, Geng YP, Yu H, 2021. Comparative analysis of mitochondrial genome features among four *Clonostachys* species and insight into their systematic positions in the Order Hypocreales. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11): 5530

[附中文参考文献]

- 常晓云, 汪婷, 李增智, 陈名君, 2024. 蜡蚧刺束梗孢 (*Akanthomyces lecanii*) 的线粒体基因组特征与系统发育分析. *微生物学通报*, 51(8): 3103-3118
- 陈召南, 1992. 细脚拟青霉(固培物)与冬虫夏草化学成分初步比较. *中成药*, 14(20): 36-37
- 陈祝安, 陈召南, 1990. 细脚虫草的培养及其产物的化学成分分析. *真菌学报*, 9(4): 304-311
- 李丹丹, 2019. 细脚虫草基因组学研究. 云南大学硕士论文, 昆明. 1-94
- 梁宗琦, 韩燕峰, 初华丽, 2012. 中国真菌志 第43卷(拟青霉属, 棒束孢属, 戴氏霉属). 北京: 科学出版社. 1-154
- 刘桂君, 文华安, 2006. 细脚虫草菌丝体多糖提取工艺优化及其测定方法优选. *菌物学报*, 25(4): 625-632
- 刘文丽, 程池, 姚粟, 2015. 韩国食品用微生物菌种管理现状. *食品与发酵工业*, 41(11): 237-242
- 孟国良, 曾培明, 王紫璆, 程冰, 叶丽云, 吴小平, 2020. 重伞灵芝线粒体基因组在灵芝种间鉴定中的应用. *菌物学报*, 39(1): 23-33
- 孙涛, 李天昊, 黄偶, 祝孔福, 陈思琪, 王雅南, 王垚, 王元兵, 虞泓, 2022. 蝙蝠蛾鳞翅虫草 *Samsoniella hepiali* 模式菌株线粒体基因组系统发育分析. *菌物学报*, 41(10): 1572-1584
- 文庭池, 梁宗琦, 梅德强, 2004. 高雄山虫草无性型——细脚拟青霉的研究进展. *菌物研究*, 2(3): 58-62