

一株高雄山虫草的分子鉴定

郝芳芳¹, 王秀然¹, 张天柱², 刘思阳¹, 王岩¹, 卢天成^{1*}

(1. 吉林农业大学生命科学学院, 吉林长春 130118; 2. 长春中医药大学医药学院, 吉林长春 130117)

摘要 [目的] 利用生物信息学方法初步探讨虫草属日本拟青霉的分类地位。[方法] 提取日本拟青霉的基因组, 并利用通用引物 ITS1 和 ITS4 采用 PCR 技术扩增 rDNA18S-28S ITS 序列。采用 Clustalx1.83 和 MEGA5 软件构建系统发育树, 生物信息学比较分析确定其分类地位。[结果] PCR 扩增产物为 603 bp。将日本拟青霉重新命名为雪花高雄山虫草 (*Cordyceps takaomontana* strain JLSnow)。将虫草重新分类, 并对该类群及其特征进行了描述。[结论] 从分子水平上说明日本拟青霉与其他虫草之间的差异, 该研究为虫草属真菌的分类提供新思路。

关键词 冬虫夏草; ITS; 进化树; 日本拟青霉; 雪花高雄山虫草

中图分类号 S188 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)31-10848-03

Molecular Characterization of a *Cordyceps takaomontana* Strain

HAO Fang-fang¹, WANG Xiu-ran¹, ZHANG Tian-zhu², LU Tian-cheng et al (1. College of Life Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118; 2 College of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun, Jilin 130117)

Abstract [Objective] The aim was to discuss classification position of *Cordyceps takaomontana* using bioinformatics methods. [Method] Genome of *Paecilomyces japonica* were extracted and rDNA18S-28S ITS sequences by PCR using universal primers ITS1 and ITS4 were amplified, followed by sequencing. [Result] The PCR amplified product was 603 bp. Comparative analysis of bioinformatics using Clustalx1.83 and MEGA5 software was clone to construct a phylogenetic tree, and the molecular taxonomic status was identified according to our new-divided taxon. *Paecilomyces japonica* should rename as *Cordyceps takaomontana* strain JLSnow. Species included in this taxon and their characteristics were described. [Conclusion] The difference between Japan *Cordyceps takaomontana* and Chinese *Cordyceps* fungi was revealed, and the study provided new ideas for the classification of *Cordyceps* fungi.

Key words *Cordyceps*; ITS; Phylogenetic tree; *Paecilomyces japonica*; *Cordyceps takaomontana*

冬虫夏草 (*Ophiocordyceps sinensis*) 是由子囊菌纲真菌寄生在蝙蝠蛾幼虫尸体的子座-幼虫复合体。冬虫夏草具有较高的滋补保健功效, 是世界上最稀有、珍贵的药用真菌之一^[1]。冬虫夏草的自然资源十分稀少。日本拟青霉 (*Paecilomyces japonica*) 作为食用蘑菇在韩国被广泛应用, 这可能是新的替代虫草的资源。然而其分类地位不明确^[2-5]。虫草属是一个多品种复杂的真菌群, 在种属分类水平上关系复杂。目前学者经常使用电源系统研究虫草亚属或亚群^[6]。然而, 虫草是一个品种多样且形态复杂的物种。形态学描述没有统一的标准, 因此形态的描述过于主观。另外, 在多种因素的作用下有些菌株的形态和生理生化指标均不稳定。此外, 形态学的最大缺点在于它不能应用于活菌。因此单独使用传统的分类方法可能不能解决这些问题^[7-8]。

分子生物学技术在真菌分类上介绍了更具体、准确而可靠的分子生物学技术的鉴定方法, 如 DNA 碱基组成分析、限制性片段多态性 (RFLP)、随机扩增多态性 DNA (RAPD)、脉冲电场凝胶电泳 (PFGE) 和小亚基 rDNA 或 rRNA 测序^[9]。这些方法弥补了传统分类的不足, 为真菌分类学的研究开辟了途径。真菌的核糖体 DNA (rDNA) 是指 rRNA 基因簇的重复单元, 包括 5.8S、18S 和 28S rRNA 基因及其相邻的非转录间隔区 (NTS) 和非转录区 (NTR), 有些生物物种中还包括 5S rRNA。rDNA 基因序列在进化过程中保守强、拷贝数多, 且

包含可变区和高变区。因此, rDNA 基因序列分析是真菌分类学家关注的焦点。对于大多数真核生物而言, rDNA 包括非转录区 (NTS)、18S rDNA 的外部转录间隔区 (ETS)、5.8S rDNA 的内部转录间隔区 1 (ITS1)、28S rDNA 的内部转录间隔区 2 (ITS2), 总长度为 7.7 ~ 24 kb^[10]。

18SrDNA 的序列信息还不足以对真菌种间进行精确鉴别, 必须借助其他序列信息作补充, ITS 序列信息起到了很好的作用。ITS1 和 ITS2 是中度保守的区域, 且种内保守性相对一致, 但种间差异明显。这些特性使 ITS 适用于真菌物种的分子鉴定, 以及属内物种间或种内差异明显的亲缘关系的分析。rDNA 的 IGS 区 (NTS, ETS) 速度进化最快, 与 ITS 区域相比, IGS 区域因为变异太高不适宜某些真菌的种间鉴别^[11]。总体而言, 真菌 rDNA 的基因间隔区 (NTS, ETS, ITS) 为高度重复序列, 且该序列的重复数在菌株之间的差异明显。采用适当的引物或探针利用 PCR 或 Southern 杂交显示菌株多态性可作为研究真菌类群属种水平的分类学指标。该 rDNA 编码的基因序列 (5.8S, 18S 和 28S rDNA 序列) 具有较强的保守性, 所以最能反映真菌间的亲缘关系。

笔者扩增日本拟青霉的 rDNA 基因并分析了 18S rDNA 和 ITS 序列, 利用生物信息学方法初步探讨虫草属日本拟青霉的分类地位, 通过对日本拟青霉进行分子鉴定, 从分子水平上说明日本拟青霉与其他虫草之间的差异, 以期对虫草属真菌的分类提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料 由东北师范大学生命科学院太龙杰教授提供日本拟青霉菌株并存储在实验室中。固体培养基: 马铃薯提取物 20 g, 蔗糖 2 g, 琼脂 2 g, 蒸馏水 100 ml。液体培养基: 马

基金项目 吉林农业大学青年科学基金项目 (201243); 吉林农业大学的博士学位基金项目 (201108)。

作者简介 郝芳芳 (1988 -), 女, 吉林长岭人, 硕士研究生, 研究方向: 微生物功能基因组学。* 通讯作者, 副教授, 博士, 从事微生物功能基因组和细胞生物技术研究。

收稿日期 2014-09-25

铃薯提取物 20 g,蔗糖 2 g,蒸馏水 100 ml。市场上购买的桑蚕蛹。天恩泽基因组提取试剂盒用于基因组提取。

1.2 日本拟青霉的栽培 将该菌株切成块,分别接种于固体平板上 27 °C 培养 6 d。将活化好的菌种取 1 cm² 小块接种至含有 100 ml 液体培养基的三角瓶中,25 °C、140 r/min 培养 48 h。对日本拟青霉进行固体培养:将 10 ml 培养液接种至含有 100 g 蚕蛹的无菌瓶中,27 °C 培养 7 d,然后在 20~25 °C 下培养,湿度 90%,弱光培养 25~30 d。子实体和基质形态记录:子实体的长度、直径、重量。

1.3 PCR 扩增和测序 菌丝体离心后将沉淀转移至一个塑料研钵中,液氮研磨成粉末,然后转移到 1.5 ml Eppendorf 管中。使用天恩泽基因组提取试剂盒提取基因组 DNA。通用引物如下: fwd_its1:5'-tcg taa caa ggt ttc cgt agg tg-3', rev_its4:5'-tcc tcc gct tat tga tat gc-3'。PCR 条件:94 °C 5 min;94 °C 30 s,56 °C 30 s,72 °C 1 min,30 个循环;72 °C 10 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳进行分离(电压 120 V,时间 15~20 min)。将该序列用 Axigen 凝胶回收试剂盒(Axygen Co., China)进行回收并送出测序(北京华大公司)。

1.4 系统进化树构建 在 NCBI GenBank 上提交该序列,编号为 JQ009304.1。在 NCBI 上进行比对相似度最高的序列确定为分离真菌的分类地位。使用 clustalx1.83 软件进行序列比对,MEGA5 用于构建系统发育树。

2 结果与分析

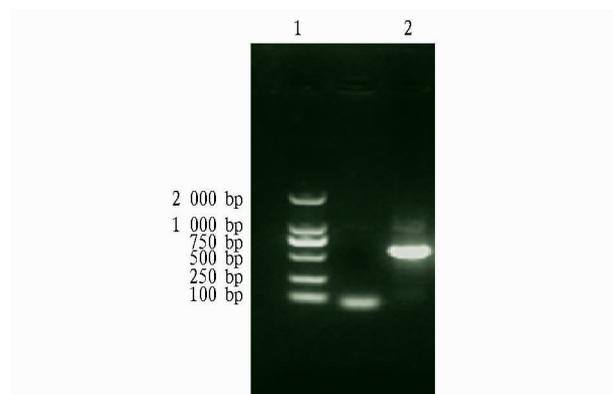
2.1 形态学分析 日本拟青霉菌株以蚕蛹作为培养基加湿培养 30 d。日本拟青霉的外观形态见图 1。子座湿度低,孢子化程度较低仅顶部有孢子覆盖,子实体平均株高 4.4 cm,子实体平均湿重 0.161 g/10 根,平均干重 0.049 g/10 根,干湿比 0.305。相比之下,人工栽培蛹虫草子实体的平均株高为 2.0~6.3 cm;子实体的平均湿重最低 0.002 g/10 根,最高

0.158 g/10 根^[12]。



图 1 雪花高雄山虫草在桑蚕蛹培养基上生长 30 d 后形态

2.2 PCR 产物与序列 从图 2 可以看出,虫草菌株的 DNA 条带清晰明亮,大小为 603 bp,表明该序列完整性好,可进行后续试验。PCR 产物的序列结果见图 3。



注:1 为标记,2 为样品条带。

图 2 PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳结果

```

1   t c g t a a c a a a   a g t t t t c c g t a   g g t g a a c c a g   c g g a g g g g a t c   a t t a c c a g a g   t t t t a c a a c t
61  c c c a a c c c t t   c t g t g a a c c t   a c c c a t a g t t   g c t t c g g c g g   a c c c g c c c c a   g c g t c c g g a c
121 g g c c c a g c g c   c g g c c c g c g a   c c t g g a c c c a   g g c g g c c g c c   g g g a c c a c g   c a a c c c t g t a
181 t c t g t c a g c c   t c t c t g a a t c   c g c c g c a a g g   c a a c a c a a a c   g a a t c a a a a c   t t t c a c a a c
241 g g a t c t c t t g   g t t c t g g c a t   c g a t g a a g a a   c g c a g c g a a a   t g c g a t a c g t   a a t t g t g a a t
301 g c a g a a t t c c   g t g a a t c a t c   g a a t c t t t g a   a c g c a c a t t g   c g c c c c c a g   c a t t c t g g c g
361 g g c a t g c c t g   t t c g a g c g t c   a t t t c a a c c c   t c g a c g t c c c   c c g g g a c g t c   g g c c t t g g g g
421 a c c g g c a g c a   c c c c g c c g g c   c c t g a a a t g g   a g t g g c g g c c   c g t c c c g g c c   g a c c t c t g c g
481 c a g t a c a a g c   a c t c g c a c c g   g g a a c c c g a c   g c g g c c c g c c   g t g a a a c c c c   c a a c c t c t g a
541 a c g t t g a c c t   c g g a t c a g g t   a g g a c t a c c c   g c t g a a c t t a   a g c a t a t c a a   t a a g c c g g a g
601 g a a

```

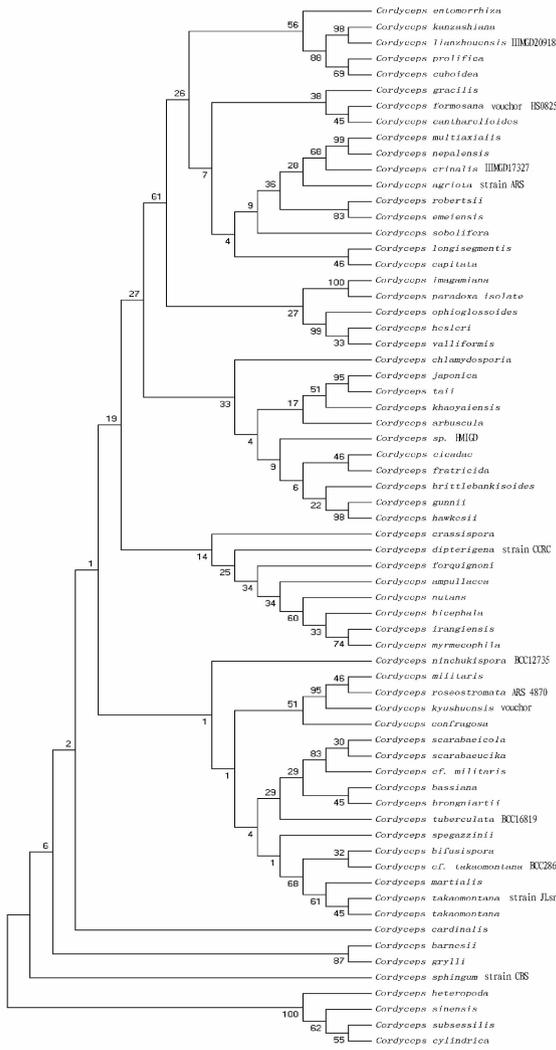
图 3 PCR 产物的序列结果

2.3 系统进化树 分析了日本拟青霉菌株的 5.8SrDNA 和 ITS 序列,并结合 NCBI GenBank 中已有的日本拟青霉的 5.8SrDNA 和 ITS 序列,构建了虫草属的系统发育树,并确定了日本拟青霉菌株的分类地位。日本拟青霉的 5.8SrDNA 和 ITS 序列与其他虫草菌株比对结果(图 4)显示,日本拟青霉与高雄山虫草聚类成一支,相似度为 99.4%,bootstrap 可信度分析达 45%。这个虫草菌株与虫草属的其他 3 个品种即双缩孢虫草(*Cordyceps bifusispora*)、高雄山虫草(塔萨虫草)(*Cordyceps cf. takaomontana*)和珊瑚虫草(*Cordyceps martialis*)先后聚类。其中日本拟青霉与高雄山虫草(塔萨虫草)bootstrap 可信度分析达 45%,相似度为 99.9%;日本拟青霉的

ITS 序列与高雄山虫草(*Cordyceps takaomontana*(AB189443))的相关序列亲缘关系非常接近,其序列之间的相似度达 100.0%。而日本拟青霉、高雄山虫草和珊瑚虫草聚类成一支,bootstrap 可信度分析达 61%,相似度为 89.9%。日本拟青霉的 ITS 序列与珊瑚虫草的相关序列的相似度高达 95.8%。与双缩孢虫草和珊瑚虫草相比,日本拟青霉与高雄山虫草的相似性最高,这显示日本拟青霉和高雄山虫草为虫草属中同一物种。因此,将日本拟青霉重新命名为雪花高雄山虫草(*Cordyceps takaomontana* strain JLSnow)。

3 讨论

NJ 树通过邻接法(NJ)利用试验序列和 Genbank 序列所



注:树上节点的值是 bootstrap 值,而分支值为进化距离。

图4 雪花高雄山虫草的系统进化树

构建的系统聚类树可以看出,同属聚类在一起,且各物种又形成相对独立的枝,其支持率基本上可信。基于 COI 序列的 NJ 树能够明显地看出虫草不同的种属能够很好地区分开。日本拟青霉所在群包括 16 个种,分别是 *Cordyceps ninchukispora* strain, *Cordyceps militaris*^[13], *Cordyceps roseostromata* strain ARS, *Cordyceps kyushuensis* voucher Y. L. Guo HMAS 78115^[14], *Cordyceps confragosa*, *Cordyceps scarabaeicola*^[15], *Cordyceps scarabaeucika*, *Cordyceps cf. militaris*, *Cordyceps bassiana*^[16], *Cordyceps brongniartii*^[17], *Cordyceps tuberculata* strain BCC16819^[18], *Cordyceps spegazzinii*^[19], *Cordyceps bifusispora*^[20], *Cordyceps cf. takaomontana* BCC28612, *Cordyceps martialis*^[21], 雪花高雄山虫草 (*Cordyceps takaomontana* strain Jlsnow)^[22], 高雄山虫草 (塔萨虫草) (*Cordyceps takaomontana*)^[22]。这 16 个种聚类成大小不等的 2 支,较小的 1 支包含 4 个种类,bootstrap 可信度分析最低为 46%,最高可达 95%,相似度大于 78.6%。较大的一支包含 12 个种类,bootstrap 可信度分析最低为 32%,最高可达 83%,相似度大于 85.6%。雪花高雄山虫草与高雄山虫草 (塔萨虫草) 被归为同一个物种。

该群的特征包括:①寄主是鳞翅目昆虫蛹、鳞翅目幼虫,雪花冬虫夏草的寄主为鳞翅目蛹。②基质单生或群生,橙黄色或红色的根状菌索固着在寄主上,由寄主的头部和其他部分出芽,为圆柱状或棒状,通常有一个尖端,高 1~9 cm,头部和柄可分枝,橙红色,柄多弯曲;头部棒状,孢子线性有许多隔膜。雪花高雄山虫草的形态学特征为基质群生,子实体为淡黄色固着于寄主上,呈圆柱状,具有尖锐的顶端,高 4~5 cm;头部呈棒状,有分枝。两者的形态特征非常相似。③寄主蛹大多布满白色菌丝。雪花高雄山虫草寄主蛹外也布满雪白色的菌丝(因此而得名)。④它们分布在潮湿的地区,如中国浙江、安徽、河南、福建、广东、台湾以及日本。雪花高雄山虫草分布在中国台湾和日本等气候潮湿的地区。分布情况也表明该研究的雪花高雄山虫草与所在虫草属群具有很高的亲缘性。

参考文献

[1] JOHN HOLLIDAY, MATT CLEAVER. Medicinal Value of the Caterpillar Fungi Species of the Genus *Cordyceps* (Fr.) Link (Ascomycetes). A Review[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2008, 10(3): 219-234.

[2] KYUNGAH JUNG, IN-HO KIM, DAESEOK HAN. Effect of medicinal plant extracts on forced swimming capacity in mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2004, 93: 75-81.

[3] TANG Y J, ZHU L W, LI H M, et al. Submerged Culture of Mushrooms in Bioreactors-Challenges, Current State-of-the-Art, and Future Prospects[J]. Food Technol Biotechnol, 2007, 4(3): 221-229.

[4] AHMED IMTIAJ, CHANDANA JAYASINGHE, GEON WOO LEE, et al. Physicochemical Requirement for the Vegetative Growth of Schizophyllum commune Collected from Different Ecological Origins[J]. Mycobiology, 2008, 36(1): 34-39.

[5] WI YOUNG LEE, EUNG-JUN PARK, JIN KWON AHN, et al. Ergothioneine Contents in Fruiting Bodies and Their Enhancement in Mycelial Cultures by the Addition of Methionine[J]. Mycobiology, 2009, 37(1): 43-47.

[6] SUNG H O, HYWEL-JONES N L, SUNG J M, et al. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi[J]. Studies in Mycology, 2007, 57: 55-59.

[7] EVANS H C, SAMSON R A. *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.

[8] EVANS H C, ELLIOT S L, HUGHES D P. Hidden Diversity Behind the Zombie-Ant Fungus *Ophiocordyceps unilateralis*: Four New Species Described from Carpenter Ants in Minas Gerais, Brazil[J]. PLoS ONE, 2011, 17024.

[9] RASTOGI G, SANI R K. Molecular Techniques to Assess Microbial Community Structure, Function, and Dynamics in the Environment[J]. Microbes and Microbial Technology: Agricultural and Environmental Applications, 2011, 29: 57.

[10] YUKIHIKO YOKOTA, TAKEFUMI KAWATA, YOICHI IIDA, et al. Nucleotide sequences of the 5.8S rRNA gene and internal transcribed spacer regions in carrot and broad bean ribosomal DNA[J]. Journal of Molecular Evolution, 1989, 29(4): 294-301.

[11] O'BRIEN H E, PARRENT J L, JACKSON J A, et al. Fungal Community Analysis by Large-Scale Sequencing of Environmental Samples[J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(9): 5544-5550.

[12] BHUSHAN SHRESTHA, SANG-KUK HAN, JAE-MO SUNG, et al. Fruiting Body Formation of *Cordyceps militaris* from Multi-Ascospore Isolates and Their Single Ascospore Progeny Strains[J]. Mycobiology, 2012, 40(2): 100-106.

[13] YERRA KOTESWARA RAO, SHIH-HUA FANG, WEN-SHI WU, et al. Constituents isolated from *Cordyceps militaris* suppress enhanced inflammatory mediator's production and human cancer cell proliferation[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2010, 131(2): 363-367.

[14] SUN Y J, LING J Y, LU P, et al. Determination of Cordycepin in *Cordyceps kyushuensis* by Capillary Electrophoresis and its Antitumor Activity[J]. Chinese Chemical Letters, 2003, 14(7): 724-727.

商豆 6 号由商 9202 × 商 9211 杂交选育而成,2009 年通过国家农作物品种审定委员会审定(国审豆 2009021)。商豆 0812 由商 9202 × 商 8653 杂交选育而成,2014 年参加河南省预试。商豆 066 由商 8653 × 商 9202 杂交选育而成,2014 年参加安徽省联合鉴定试验。

2.4 商 9211 以油 89B 为母本、MSP287 为父本杂交选育而成。生育期 103 d,属中熟品种。植株直立,叶披针形,紫花,灰毛,有限结荚习性,株形收敛;株高 74.8 cm,主茎 13.7 节,有效分枝数 1.05 个,底荚高度 14.2 cm,单株有效荚数 39.6 个,单株粒数 56.63 个,单荚粒数 1.43 个,单株粒重 24.3 g,百粒重 22.06 g;褐荚,粒椭圆形,种皮黄色,微光泽,褐脐;不裂荚,落叶性好。抗倒性 0 级,抗病毒病、霜霉病。

由商 9202 × 商 9211 杂交选育出商豆 6 号,2009 年通过国家农作物品种审定委员会审定(国审豆 2009021)。

2.5 商 8480 以商早 7608 为母本、柘野生豆为父本杂交选育而成。生育期 108 d,属中熟品种。植株直立,叶卵圆形,紫花,灰毛,有限结荚习性,株形收敛;株高 60.4 cm,主茎 13.0 节,有效分枝数 5.2 个,底荚高度 9.4 cm,单株有效荚数 85.4 个,单株粒数 103.2 个,单荚粒数 1.53 个,单株粒重 25.6 g,百粒重 23.5 g;褐荚,粒圆形,种皮黄色,微光泽,淡褐脐,裂皮率 3%;不裂荚,落叶性好。抗倒性 0 级。

商豆 13 号由阜 7922-4 × 商 8480 杂交选育而成,2007 年参加了河南省预试;商豆 18 号由商 8480 × 豫豆 27 号杂交选育而成,2009 年参加了河南省预试。

2.6 商 1032 以商 8432 为母本、商 8414 为父本杂交选育而成。生育期 104 d,属中熟品种。植株直立,叶披针形,白花,灰毛,有限结荚习性,株形收敛;株高 76.9 cm,主茎 15.6 节,有效分枝数 2.0 个,底荚高度 10.4 cm,单株有效荚数 41.35 个,单株粒数 95.9 个,单荚粒数 2.32 个,单株粒重 12.5 g,百粒重 13.8 g;褐荚,粒椭圆形,种皮淡黄色,微光泽,淡黄脐,裂皮率 5%;不裂荚,落叶性好。抗倒性 0 级,紫斑率 1%。

由商 8480 × 商 1032 杂交选育出商豆 0912、商豆 16 号、商豆 1015 这 3 个大豆新品种(系),其中商豆 0912 于 2010 年参加河南省预试^[2],平均比对照(豫豆 22)增产 10.84%,居 A、B 两组试验 46 个品系第 7 位,2011 年参加河南省区试^[3],2012 年参加了黄淮海(南片)区域试验^[4];商豆 16 号 2008 年参加了河南省预试;商豆 1015 于 2011 年参加了河南省预试。

2.7 商豆 1099 以商 86118 为母本、阜 8329-1 为父本杂交选育而成。生育期 107 d,夏大豆中熟品种。有限结荚习性,植株直立,株高 71.9 cm,有效分枝数 1.2 个。叶圆形,叶色浓绿。紫花,棕毛。单株荚数 47.1 个,荚熟色褐,底荚高 23.7 cm,粒形扁圆,种皮色黄,有光泽,脐色褐,百粒重 15.2 g。抗倒伏性强,落叶性好;蛋白质含量 42.70%,脂肪含量 19.46%。抗病毒病、紫斑病。

以豫豆 25 × 商豆 1099 选育出了郑 99040,2003 年参加了河南省预试;以郑 96012 × 商豆 1099 选育出了郑 2092,2005 年参加了河南省预试;以豫豆 27 × 商豆 1099 选育出了商豆 15 号,2008 年参加了河南省预试;以商 802 × 商豆 1099 选育出了商豆 17 号,2009 年参加了河南省预试;以商豆 1099 × 平 99016-8 选育出了平 02016,2010 年、2011 年连续两年参加了河南省区试;通过对商豆 1099 系统选育培育出了安豆 1 号,2009 年通过河南省农作物品种审定委员会审定(豫审豆 2009004);以豫豆 22 × 商豆 1099 选育出了漂豆 2 号,2007 年、2008 年连续两年参加河南省区试;通过对商豆 1099 离子辐射,选育出了安豆 4 号,2011 年通过河南省农作物品种审定委员会审定(豫审豆 2011002);以商豆 1099 × 豫豆 16 号选育出了洛豆 098016,2012 年参加了河南省预试。

3 结论与讨论

在我国,利用人工杂交技术创新大豆种质不乏其例,例如辽宁省农业科学院、锦州市农业试验站以东北地方大豆品种丰收黄与熊岳小粒黄杂交,其杂交后代选出 5621 这一新种质,它虽没有被直接推广应用于生产,但用其杂交作杂交亲本材料,先后选育出 15 个大豆品种,其中铁丰 18、辽豆 3 号、开育 9 号、沈农 25104 等都曾是主产区主栽品种,在生产上种植面积很大^[5]。笔者的大豆育种实践也证明了这一点,商丘 7608、豫豆 14、商豆 1099、商豆 6 号和商豆 14 号等的选育与推广,无不与大豆种质创新密切相关。近年来,随着理化诱变和轮回选择等手段在大豆种质创新上的应用,商丘大豆种质会越来越丰富,这必将带来大豆育种的新突破。

参考文献

(上接第 10850 页)

[15] LEE JAE-KEUN. Investigation on Cultural Characteristics of Mycelial Growth by *Cordyceps scarabaeicola*[J]. The Korean Journal of Mycology, 2002, 8(2): 81-87.

[16] WU G, LI L, SUNG G H, et al. Inhibition of 2,4-dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis by topical application of the butanol extract of *Cordyceps bassiana* in NC/Nga mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2011, 134(2): 504-509.

[17] JÜRIG ENKERLI, FRANCO WIDMER, SIEGFRIED KELLER. Long-term field persistence of *Beauveria brongniartii* strains applied as biocontrol agents against European cockchafer larvae in Switzerland[J]. Biological Control, 2004, 29(1): 115-123.

[18] LING J Y, LI D S, ZHANG C K. A Study on the Metagenesis of a *Cordyceps tuberculata* Strain Collected from Mengshan[J]. Acta Edulis

[1] 张琪,寇传喜,闫向前,等. 2011 年豫东地区大豆生产与调研报告[J]. 大豆科技, 2012(1): 52-55.

[2] 2010 年河南省大豆品种试验总结[R]. 2010.

[3] 2011 年河南省大豆品种试验总结[R]. 2011.

[4] 2012 年黄淮海夏大豆(南片)区域试验总结[R]. 2012.

[5] 孙贵荒,宋书宏,孙恩玉. 大豆种质 5621 对所衍生品种的遗传贡献[J]. 中国油料作物学报, 2002(1): 38-41.

Fungi, 1999, 6(4): 44-47.

[19] TORRES M S, WHITE J F, BISCHOFF J F. *Cordyceps spegazzinii* sp. nov., a new species of the *C. militaris* group[J]. Mycotaxon, 2005, 94: 253-263.

[20] LIU Z Y, LIANG Z Q, LIU A Y. Identification of anamorph of *Cordyceps bifusispora*[J]. Mycosystema, 1996, 15: 210-214.

[21] WANG X X, WANG X D, GENG G Q, et al. Isolation and HPLC-HRMS analysis of a natural pigment from *Mycelia* of a strain of *Cordyceps martialis*[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2011, 38(4): 596-599.

[22] LEE SUNG HAK, HWANG HEE SUN, KIM HYUN AH, et al. Induction of apoptosis on human neuroblastoma cells with polysaccharides produced by submerged culture of an entomopathogenic fungus *Cordyceps takaomontana*[J]. Journal of Biotechnology, 2008, 136: 442-443.