

间座壳属产植物激素、有机酸和脂肪酸分析研究

王舒敏^{1,2}, 孙进华¹, 弓德强¹, 陈更新³, 李 敏^{1*}, 胡美姣^{1*}

1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海南海口 571101; 2. 海南大学生命科学院, 海南海口 570228;
3. 海南大学热带农林学院, 海南儋州 571737

摘 要: 间座壳属 (*Diaporthe*) 真菌是一类重要的植物病原真菌、内生菌及腐生菌, 广泛分布于生态系统中。本研究利用 LC-MS 和 GC-MS 法测定 16 株间座壳属产植物激素、有机酸和脂肪酸的种类及产量, 并通过 Ward 法聚类分析对不同菌株进行品质类型的分类。结果表明: 16 株菌株中均能检测到 4 种植物激素、3 种有机酸和 5 种脂肪酸。植物激素分别为脱落酸 (ABA, 平均产量 125.36 $\mu\text{g/kg}$)、吲哚乙酸 (IAA, 平均产量 40.28 $\mu\text{g/kg}$)、水杨酸 (SA, 平均产量 6.63 $\mu\text{g/kg}$) 和茉莉酸 (JA, 平均产量 4.95 $\mu\text{g/kg}$), ABA 的产量明显高于其他植物激素。有机酸为琥珀酸 (平均产量 336.04 $\mu\text{g/g}$)、维生素 C (Vc, 平均产量 10.03 $\mu\text{g/g}$) 和莽草酸 (平均产量 0.58 $\mu\text{g/g}$), 其中琥珀酸产量明显高于其他有机酸。脂肪酸分别为反亚油酸 (平均产量 58.99 $\mu\text{g/g}$)、亚麻酸 (平均产量 28.15 $\mu\text{g/g}$)、硬脂酸 (平均产量 21.35 $\mu\text{g/g}$)、棕榈酸 (平均产量 17.07 $\mu\text{g/g}$) 和油酸 (平均产量 15.22 $\mu\text{g/g}$)。利用植物激素、有机酸和脂肪酸累积状况对 16 株间座壳属分别进行聚类分析, 均把 *D. biconispora* D43 菌株单独归为一个类群, 该菌株的 ABA (443.86 $\mu\text{g/kg}$)、琥珀酸 (1115.98 $\mu\text{g/g}$)、莽草酸 (1.21 $\mu\text{g/g}$) 和油酸 (60.75 $\mu\text{g/g}$) 的产量均最高, 而反亚油酸产量 (7.08 $\mu\text{g/g}$) 最低。综合分析认为 *D. biconispora* D43 菌株在琥珀酸的开发利用方面具有一定潜力。研究结果为间座壳属真菌在食品、化工等领域的研发和应用提供参考。

关键词: 间座壳属; 植物激素; 有机酸; 脂肪酸

中图分类号: R284 文献标志码: A

Production of Phytohormones, Organic Acids and Fatty Acids by *Diaporthe* Fungi

WANG Shumin^{1,2}, SUN Jinhua¹, GONG Deqiang¹, CHEN Gengxin³, LI Min^{1*}, HU Meijiao^{1*}

1. Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571101, China; 2. School of Life Sciences, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 3. School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Danzhou, Hainan 571737, China

Abstract: Species of *Diaporthe* have broad host ranges and are widely distributed in ecosystems, occurring as plant pathogens, endophytes or saprobes. In this study, the ingredients and contents of phytohormones, organic acids, and fatty acids in 16 strains of *Diaporthe* fungi, collected and identified from Xisha islands, were detected by LC-MS and GC-MS methods. Cluster analysis by Ward method of Euclid Distance was used to classify the quality types of different strains. The results showed that four phytohormones, three organic acids, and five fatty acids could be detected. The phytohormones included abscisic acid (ABA, average yield 125.36 $\mu\text{g/kg}$), indole-3-acetic acid (IAA, average yield 40.28 $\mu\text{g/kg}$), salicylic acid (SA, average yield 6.63 $\mu\text{g/kg}$) and jasmonic acid (JA, average yield 4.95 $\mu\text{g/kg}$). the yield of ABA was significantly higher than other plant hormones, and the four phytohormones contents of different strains varied greatly. Organic acids were succinic acid (average yield 336.04 $\mu\text{g/g}$), succinic acid (Vc, average yield 10.03 $\mu\text{g/g}$), shikimic acid (average yield 0.58 $\mu\text{g/g}$). The succinic acid production of *Diaporthe* fungus was significantly higher than those of other organic acids. The yield of organic acids varied greatly among the 16 strains. The fatty acids were trans

收稿日期 2024-05-13; 修回日期 2024-07-26

基金项目 海南省自然科学基金项目 (No. 322MS113); 南锋专项 (No. NFZX-2024)。

作者简介 王舒敏 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 丝状真菌资源收集、鉴定及评价。*通信作者 (Corresponding author): 李 敏 (LI Min), E-mail: coldminerer@163.com; 胡美姣 (HU Meijiao), E-mail: humeijiao320@163.com。

linoleic acid (average yield 58.99 $\mu\text{g/g}$), linolenic acid (average yield 28.15 $\mu\text{g/g}$), stearic acid (average yield 21.35 $\mu\text{g/g}$), palmitic acid (average yield 17.07 $\mu\text{g/g}$) and oleic acid (average yield 15.22 $\mu\text{g/g}$). The production of trans linoleic acid were the highest, while the production of oleic acid the lowest, and the five organic acids contents of different strains varied remarkably. Cluster analysis using plant hormones, organic acids, and fatty acids of the 16 strains revealed *D. biconispora* D43 was independent group. The strain showed the highest production of ABA (average yield 443.86 $\mu\text{g/kg}$), succinic acid (average yield 1115.98 $\mu\text{g/g}$), shikimic acid (average yield 1.21 $\mu\text{g/g}$), and oleic acid (average yield 60.75 $\mu\text{g/g}$), while the lowest production of linoleic acid (average yield 7.08 $\mu\text{g/g}$). Comprehensive analysis suggests that *D. biconispora* D43 had certain potential for the development and utilization of microbial derived succinic acid. This study would provide information for the research and application of *Diaporthe* resources in the field of food, chemical industry, and other related fields.

Keywords: *Diaporthe*; phytohormones; organic acids; fatty acids

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.11.022

间座壳属 (*Diaporthe*) 于 1870 年由 NITSCHKE 建立, 属于囊菌门 (Ascomycota) 类壳菌纲 (Sordariomycetes) 间座壳目 (Diaporthales) 间座壳科 (Diaporthaceae) 真菌。SACCARDO 于 1883 年提出了拟茎点霉 (*Phomopsis*) 为间座壳属的无性阶段。2011 年, 墨尔本命名法会议上通过《国际藻类、菌物和植物命名法规》(ICN), 会议决定采用“一菌一名”的单一命名法^[1]。间座壳属取得了该属命名权。该属地理分布广, 寄主种类多, 在自然生态系统中占有极为重要的地位^[2]。该属引起多种作物、观赏植物和林木病害, 是重要的植物病原真菌, 同时也是植物的内生菌和腐生菌^[3-8]。研究表明间座壳属具有复杂和发达的次生代谢能力^[9-10], 已鉴定的次生代谢产物中包含有聚酮类、生物碱类、萜类、肽、蒽醌类及其他类型结构化合物, 大多具有抗肿瘤、杀菌、杀寄生虫、抗高脂血症、抗氧化等生物活性^[9-11], 为新型药物开发和生物合成提供了重要资源。然而对其发酵分泌的其他代谢产物, 如有机酸、脂肪酸和植物激素等方面的研究和利用鲜有报道。2018—2023 年, 笔者在进行西沙群岛微生物资源调查时发现, 调查的 22 个岛礁中, 从 12 个岛礁的 33 种植物中均发现该属菌株, 共鉴定保存该属真菌 80 余株。表明间座壳属真菌广泛分布于西沙群岛的植物群落中, 是我国热带岛礁特殊生境中一类重要的真菌资源, 亦是构成生态系统的重要组成部分^[12]。本研究选取采集鉴定的 16 个代表性间座壳属菌株, 分别测定其植物激素、有机酸和脂肪酸等分泌情况, 比较分析不同菌株间的化合物种类及含量差异等, 旨在探讨其在食品、化工等领域的应用潜能, 为挖掘新的有益真菌资源提供研究基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 16 株供试菌株由中国热带农业科学院环境与植物保护研究所分离、鉴定、保存, 菌株具体信息见表 1。

1.1.2 试剂 马铃薯葡萄糖琼脂培养基, 草酸、磷酸二氢铵、磷酸、氢氧化钾、甲酸、氯仿、乙酸乙酯、石油醚和甲醇 (色谱纯) 用于样品处理和指标测定。

1.1.3 主要仪器设备 台式冷冻离心机 (型号: Eppendorf 5810R, 艾本德股份公司)。高效液相串联质谱仪 (液相色谱仪型号: ACQUITY UPLC I-Class, 三重四极杆质谱仪型号: Waters Xevo TQ-S micro, 美国沃特世有限公司)。高效液相色谱仪 (型号: Waters e2695+PDA 2998, 美国沃特世有限公司)。气相色谱-质谱联用仪 (型号 7890A-5975C, 美国安捷伦科技公司)。

1.2 方法

1.2.1 菌株样品的处理 将待测 16 株菌株接种于马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基上, 于 25 $^{\circ}\text{C}$ 培养 4 d, 用无菌打孔器在菌落边缘打制 4 个菌饼 ($d=5\text{ mm}$), 将其放入装有 100 mL 马铃薯葡萄糖 (PDB) 液体培养基的 250 mL 锥形瓶中, 置于 28 $^{\circ}\text{C}$, 180 r/min 恒温摇床中发酵培养 7 d。双层纱布过滤, 收集菌丝体, 将其放入研钵中, 加入液氮充分研磨至粉末状, 再分装至离心管中, 置于 -80 $^{\circ}\text{C}$, 备用。

1.2.2 激素种类和含量检测 称取 0.5 g 菌丝样品至 10 mL 离心管中, 加入 3 mL 预冷的 80% 甲醇混匀, 匀浆液在涡旋仪 2500 r/min 涡旋 1 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 萃取 24 h 后, 离心机预冷至 4 $^{\circ}\text{C}$, 以 8000 r/min 离心 10 min。利用注射器取其上清液 1 mL, 用

表 1 供试菌株信息
Tab. 1 Information of test strains

菌株编号 Strain No.	种名 Species name	寄主 Host	采样地点 Sample site	GenBank 登录号 GenBank accession No.				
				ITS	TUB2	HIS-3	TEF-1	CAL
D08	<i>D. pseudophoenicicola</i>	大花紫薇	永兴岛	OQ469331	OQ554503	OQ554524	OQ554461	OQ554482
D14	<i>Diaporthe</i> sp.	仙羽蔓绿绒	永兴岛	OQ469337	—	—	—	—
D15	<i>Diaporthe</i> sp.	鸡冠刺桐	永兴岛	OQ469338	—	—	—	—
D21	<i>D. biconispora</i>	降香黄檀	永兴岛	OQ469344	OQ554508	OQ554529	OQ554466	OQ554487
D26	<i>D. pseudomangiferae</i>	月季	永兴岛	OQ469349	OQ554510	OQ554531	OQ554468	OQ554489
D27	<i>D. eugeniae</i>	大叶绿萝	永兴岛	OQ469350	OQ554511	OQ554532	OQ554469	OQ554490
D29	<i>D. arengae</i>	芒果	永兴岛	OQ469352	OQ554512	OQ554533	OQ554470	OQ554491
D30	<i>Diaporthe</i> sp.	莲雾	永兴岛	OQ469353	—	—	—	—
D36	<i>Diaporthe</i> sp.	鹤望兰	甘泉岛	OQ469359	—	—	—	—
D37	<i>Diaporthe</i> sp.	假马鞭	晋卿岛	OQ469360	—	—	—	—
D40	<i>Diaporthe</i> sp.	大叶榄仁	晋卿岛	OQ469363	—	—	—	—
D42	<i>Diaporthe</i> sp.	荔枝	晋卿岛	OQ469365	—	—	—	—
D43	<i>D. biconispora</i>	海岸桐	北岛	OQ469366	OQ554514	OQ554535	OQ554472	OQ554493
D44	<i>D. melitensis</i>	大叶榄仁	羚羊礁	OQ469367	OQ554515	OQ554536	OQ554473	OQ554494
D45	<i>D. melitensis</i>	海滨大戟	银屿	OQ469368	OQ554516	OQ554537	OQ554474	OQ554495
D46	<i>Diaporthe</i> sp.	海岸桐	中岛	OQ469369	—	—	—	—

注：—表示未取得登录号。ITS 为转录间隔区序列及 5.8S 核糖体 RNA 基因；TUB2 为 β -微管蛋白基因；HIS-3 为组蛋白 H3 基因；TEF-1 为延伸因子 1- α 基因；CAL 为钙调蛋白基因。

Note: — represents GenBank accession No. had not been obtained. ITS represents the internal transcribed spacer region and intervening 5.8S rRNA gene; TUB2 represents beta-tubulin gene; HIS-3 represents histone H3 gene; TEF-1 represents elongation factor 1- α gene; CAL represents calmodulin gene.

0.22 μm 滤膜过滤至 1.5 mL 进样瓶中。设置 3 组重复，以 PDB 培养基作对照。

液相色谱条件：采用 ACQUITY UPLC BEH Shield RP18 色谱柱（2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.7 μm ），进样量 2 μL ，流动相 A 为 0.1% 甲酸水，B 为甲醇，流速为 0.2 mL/min 进行洗脱，柱温 37 $^{\circ}\text{C}$ ，运行时间 8 min。质谱条件：离子源温度为 120 $^{\circ}\text{C}$ ，脱溶剂气温度为 380 $^{\circ}\text{C}$ ，毛细管电压为 2.0 kV，锥孔气流速为 60 L/h，脱溶剂气流速 600 L/h，碰撞气流速 0.18 mL/min，采用多反应监测（multiple reaction monitoring, MRM）检测方法。

定量分析：以茉莉酸甲酯（MeJA）、茉莉酸（JA）、赤霉素（GA₃）、吲哚乙酸（IAA）、脱落酸（ABA）、玉米素（ZT）和水杨酸（SA）为标准品（上海源叶生物科技有限公司），通过与标准品的出峰时间和峰面积进行比较，定量分析样品中激素种类和含量。

1.2.3 有机酸种类和含量检测 称取 1 g 菌丝样品至 10 mL 离心管中，加入 3 mL 0.05% 草酸提取 30 min，置于离心机中，以 10000 r/min，离心 5 min 后，利用无菌注射器取其上清液 1 mL，通过 0.22 μm

无菌滤膜过滤至 1.5 mL 进样瓶中。设置 3 组重复，以 PDB 培养基作对照。

液相色谱条件：色谱柱 Agilent C18（4.6 mm $\times$ 250 mm $\times$ 5 μm ）。柱温为室温，检测波长为 210 nm，进样量为 10 μL 。流动相为 5% 磷酸二氢铵，用磷酸调 pH 为 2.1。

定量分析：以柠檬酸、苹果酸、琥珀酸、酒石酸、奎宁酸、莽草酸、Vc 为标准品（上海源叶生物科技有限公司）。通过与标准品的出峰时间和峰面积进行比较，定量分析样品中有机酸种类和含量。

1.2.4 脂肪酸种类和含量检测 称取 0.5 g 菌丝样品移入 2 mL 离心管中，加入 1 mL 石油醚-乙醚混合液，加入 0.5 mL 氢氧化钾-甲醇溶液进行脂肪酸甲酯化；涡旋振荡，静止反应 1 h；再次涡旋振荡，加入 1 mL 去离子水；静置 30 min 分层，以 4500 r/min 离心 2 min，上清液经 0.22 μm 有机滤膜过滤。设置 3 组重复，以 PDB 培养基作对照。

气相色谱条件：安捷伦毛细管柱 DB-225MS（30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm ），恒定流速 1 mL/min，进样口温度为 280 $^{\circ}\text{C}$ ，进样量为 1 μL ，分流比为

2 : 1。升温程序：初始温度为 50 ℃，保持 1 min；以 5 ℃/min 升温至 200 ℃，以 2 ℃/min 升温至 230 ℃，保持 10 min。传输线温度为 280 ℃，离子源温度为 230 ℃，四极杆温度为 150 ℃，电离方式为 EI 源，电离能量为 70 eV，溶剂延迟 2 min。

定量分析：以棕榈酸甲酯、棕榈油酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、反亚油酸甲酯、亚油酸甲酯等 35 种化合物为标准品（NU-CHEK，美国纽雀客有限公司）。通过与标准品的出峰时间和峰面积进行比较，定量分析样品中脂肪酸种类和含量。

1.3 数据处理

利用 Excel 2007 软件对试验数据进行整理、统计，使用 IBM SPSS 25.0 软件进行多重比较和聚类分析。

2 结果与分析

2.1 间座壳属真菌产植物激素分析

通过检测表明，16 个菌株的菌丝体均能检测到 ABA、IAA、JA 和 SA 4 种植物激素。根据植物激素标品的线性回归方程（表 2），得出 16 个菌株植物激素含量（表 3）。各植物激素平均含量排序为 ABA(125.36 μg/kg)>IAA(40.28 μg/kg)>SA (6.63 μg/kg)>JA (4.95 μg/kg)。不同菌株菌丝体的 ABA 含量差异较大，其变异系数达到 0.72。其中，D43 菌株含量最高，为 443.86 μg/kg，显著高于其他菌株；其次是 D44 菌株，产量为 153.28 μg/kg，其余 14 个菌株菌丝体的 ABA 含量均较低，在 57.66~143.82 μg/kg 之间。不同菌株菌丝体的 IAA 含量差异大，其变异系数达到 1.26。其中 D44 菌株含量最高，为 185.72 μg/kg，显著高于其他菌株；其次是 D45 菌株，IAA 含量为 143.54 μg/kg；其余菌株的 IAA 含量较低，在 1.43~55.31 μg/kg 之间。不同菌株菌丝体中的 JA 含量不同，其变异系数为 0.33。D40 的 JA 含量最高，含量为 8.70 μg/kg，显著高于其他菌株；D42 菌株

表 2 植物激素标准品线性回归方程
Tab. 2 Linear regression equations of phytohormones standard substances

标准品 Standard substance	回归方程 Linear regression equation	相关系数 <i>R</i> ²	保留时间 Retention time/min
吲哚乙酸（IAA）	y=120 166x+365 569	0.9976	4.78
脱落酸（ABA）	y=21 155x+26 324	0.9966	4.97
水杨酸（SA）	y=85 097x+213 875	0.9990	5.13
茉莉酸（JA）	y=161 838x+230 394	0.9999	5.27

表 3 不同菌株植物激素含量
Tab. 3 Plant hormones content of different strains μg/kg

菌株 Strain	ABA	IAA	JA	SA
D08	143.82±1.97 ^c	55.31±1.54 ^c	6.12±0.86 ^{bc}	5.80±0.41 ^d
D14	70.89±2.15 ⁱ	23.11±0.97 ^e	5.19±0.24 ^{cde}	1.04±0.19 ^f
D15	116.01±3.74 ^e	25.50±1.32 ^e	3.43±0.36 ^{gh}	3.11±0.50 ^e
D21	129.04±4.02 ^d	3.12±0.17 ^h	5.84±0.43 ^{bcd}	5.41±0.58 ^d
D26	65.42±1.58 ^{ij}	10.03±0.28 ^g	5.27±0.33 ^{cde}	5.27±0.40 ^d
D27	104.74±1.74 ^f	22.80±1.17 ^e	5.71±0.25 ^{bcd}	5.78±0.23 ^d
D29	128.76±2.13 ^d	45.32±1.96 ^d	3.74±0.29 ^{fgh}	12.72±0.53 ^a
D30	91.93±1.29 ^g	21.01±1.49 ^{ef}	5.42±0.10 ^{cde}	4.71±0.32 ^d
D36	79.52±3.19 ^h	15.97±1.30 ^f	2.90±0.28 ^{hi}	2.53±0.23 ^e
D37	59.70±1.28 ^j	20.44±1.15 ^{ef}	4.74±0.34 ^{def}	10.39±0.70 ^b
D40	143.33±2.86 ^c	1.43±0.25 ^h	8.70±0.29 ^a	12.95±0.52 ^a
D42	57.66±4.01 ^j	22.57±1.54 ^e	2.15±0.20 ⁱ	5.24±0.35 ^d
D43	443.86±0.99 ^a	26.18±1.96 ^e	4.57±0.23 ^{efg}	8.77±0.22 ^c
D44	153.28±2.57 ^b	185.72±3.94 ^a	6.86±0.57 ^b	10.58±0.73 ^b
D45	94.88±3.61 ^g	143.54±3.08 ^b	3.42±0.26 ^{gh}	2.90±0.29 ^e
D46	122.85±2.80 ^{de}	22.45±1.24 ^e	5.07±0.27 ^{cde}	8.93±0.36 ^c
极小值	57.66	1.43	2.15	1.04
极大值	443.86	185.72	8.70	12.95
标准差	90.57	50.91	1.62	3.67
均值	125.36	40.28	4.95	6.63
变异系数	0.72	1.26	0.33	0.55

注：同列不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05）。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference (*P*<0.05).

的 JA 含量最低，仅为 2.15 μg/kg。不同菌株菌丝体的 SA 含量不同，其变异系数为 0.55。其中 D40 和 D29 的 SA 产量较高，分别为 12.95、12.72 μg/kg，显著高于其他菌株；D14 含量最低，为 1.04 μg/kg。

2.2 间座壳属真菌产有机酸分析

通过测定间座壳属产有机酸情况，结果表明，16 株菌的菌丝体中均检测到琥珀酸、Vc 和莽草酸 3 种有机酸。根据标品的线性回归方程（表 4），得出 16 个菌株各有机酸含量（表 5）。按照平均含量排序为琥珀酸(336.04 μg/g)>Vc(10.03 μg/g)>莽草酸 (0.58 μg/g)。琥珀酸的含量明显高于 Vc 和莽草酸。不同菌株菌丝体间的琥珀酸含量差异较大，其变异系数达到 0.73。其中，D43 的琥珀酸含量最高，平均含量为 1115.98 μg/g，显著高于其他菌株；其次是 D37、D46 和 D15，其含量分别为 565.80、459.52、435.89 μg/g。不同菌株菌丝体间的 Vc 含量差异也较大，其变异系数达到 0.71。其中，D46 的 Vc 含量最高，为 26.42 μg/g，

显著高于其他菌株；其次是 D37 菌株，Vc 含量为 24.21 μg/g，其余菌株的 Vc 含量均较低，在 3.97~17.00 μg/g 之间。不同菌株菌丝体中的莽草酸含量不同，其变异系数为 0.46。其中，D43 的莽草酸含量最高，为 1.21 μg/g，显著高于其他菌株。

表 4 有机酸标准品线性回归方程

Tab. 4 Linear regression equations of organic acids standard substances

标准品 Standard substance	回归方程 Linear regression equation	相关系数 R ²	保留时间 Retention time/min
维生素 C	y=5760.6x+3221.4	0.9999	5.21
莽草酸	y=22 494.0x+1617.4	0.9999	5.63
琥珀酸	y=339.3x-1847.7	0.9999	13.02

表 5 不同菌株有机酸含量

Tab. 5 Organic acids content of different strains μg/g

菌株 Strain	琥珀酸 Succinic acid	维生素 C Vc	莽草酸 Shikimic acid
D08	133.88±4.23 ⁱ	4.18±0.09 ^d	0.50±0.01 ^{cde}
D14	138.36±2.94 ^{hi}	6.76±0.11 ^{cd}	0.60±0.01 ^{bcd}
D15	435.89±28.84 ^c	15.82±2.76 ^b	0.79±0.10 ^b
D21	359.55±2.60 ^d	6.85±0.43 ^{cd}	0.46±0.02 ^{cde}
D26	194.57±24.10 ^{fgh}	3.97±0.94 ^d	0.52±0.05 ^{cde}
D27	337.61±5.50 ^d	8.72±0.33 ^c	0.66±0.21 ^{bc}
D29	138.37±2.72 ^{hi}	8.57±0.35 ^c	0.47±0.01 ^{cde}
D30	222.54±6.32 ^f	8.70±3.87 ^c	1.08±0.17 ^a
D36	210.70±3.05 ^{fg}	4.30±0.14 ^d	0.53±0.07 ^{cde}
D37	565.80±11.15 ^b	24.21±0.46 ^a	0.57±0.03 ^{bcd}
D40	282.66±4.57 ^e	5.26±0.22 ^{cd}	0.36±0.03 ^{def}
D42	276.67±0.52 ^e	8.69±0.11 ^c	0.19±0.02 ^f
D43	1115.98±8.45 ^a	4.35±0.91 ^d	1.21±0.02 ^a
D44	344.59±4.67 ^d	17.00±0.54 ^b	0.49±0.02 ^{cde}
D45	159.90±56.96 ^{ghi}	6.61±0.16 ^{cd}	0.29±0 ^{ef}
D46	459.52±24.14 ^c	26.42±0.25 ^a	0.49±0.04 ^{cde}
极小值	133.88	3.97	0.19
极大值	1115.98	26.42	1.21
标准差	243.85	7.07	0.26
均值	336.04	10.03	0.58
变异系数	0.73	0.71	0.46

注：同列不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).

2.3 间座壳属真菌产脂肪酸分析

通过测定表明，供试的 16 株菌丝体中均能检测到棕榈酸、硬脂酸、油酸、反亚油酸和亚麻酸 5 种脂肪酸。根据标品的线性回归方程（表 6），计算出 16 个菌株各脂肪酸含量（表 7）。按产量平均值排序为反亚油酸（58.99 μg/g）>亚麻酸（28.15 μg/g）>硬脂酸（21.35 μg/g）>棕榈酸

（17.07 μg/g）>油酸（15.22 μg/g）。16 个菌株的反亚油酸含量差异大，其变异系数达到 0.52。其中，D15 含量最高，为 146.13 μg/g，显著高于其他菌株；菌株 D43 含量最低，为 7.08 μg/g，显著低于其他 15 个菌株。不同菌株的亚麻酸含量差异明显，其变异系数达到 0.58。其中，D37 的亚麻酸含量最高，为 70.91 μg/g，显著高于其他菌株；其次为 D14 和 D40，含量分别为 51.63 μg/g 和 51.51 μg/g。不同菌株的硬脂酸含量不同，其变异系数为 0.67。D30 和 D29 含量较高，分别为 52.87 μg/g 和 52.70 μg/g，显著高于其他菌株。16 个菌株的棕榈酸含量差异较大，其变异系数达到 0.93，D15 的棕榈酸含量最高，为 61.60 μg/g，其次是 D27（48.18 μg/g），其余菌株的棕榈酸含量较低，在 4.95~35.85 μg/g 之间。不同菌株的油酸含量不同，其变异系数为 1.02。其中，D43 的油酸含量最高，为 60.75 μg/g，显著高于其他菌株；其次为 D29，油酸产量为 42.71 μg/g。

2.4 基于植物激素、有机酸、脂肪酸产量的聚类分析

利用 16 个间座壳属真菌菌株的植物激素、有机酸和脂肪酸产量，按照系统聚类的欧氏距离 Ward 法分别进行系统聚类。基于植物激素产量的聚类结果表明，在遗传距离为 2.3 处，可将 16 个菌株分为 3 个类群，其中，菌株 D43 单独聚为一支，菌株 D44 和 D45 聚为一支，其他 13 个菌株聚为一支（图 1）。基于有机酸产量的聚类结果表明，在遗传距离为 1.5 处，可将 16 个菌株分为 3 个类群，菌株 D43 单独为一支，菌株 D15、D37 和 D46 聚为一支，其他 12 个菌株聚为一支（图 2）。基于脂肪酸产量的聚类结果表明，在遗传距离为 8.5 处，可将 16 个菌株分为 4 个类群，其中菌株 D43 仍单独聚为一支，菌株 D27 单独聚为一支，D14 和 D37 聚为一支，其他 12 个菌株聚为一支（图 3）。

表 6 脂肪酸标准品线性回归方程

Tab. 6 Linear regression equations of fatty acids standard substance

标准品 Standard substance	回归方程 Linear regression Equation	相关系数 R ²	保留时间 Retention time/min
棕榈酸甲酯	y=344 664.5x+1 173 089.4	0.9991	25.84
硬脂酸甲酯	y=363 288.6x-1 281 324.8	0.9985	29.26
油酸甲酯	y=647 192.1x+1 608 527.7	0.9993	29.42
反亚油酸甲酯	y=426 793.6x-3 289 974.4	0.9966	29.94
亚麻酸甲酯	y=294 126.7x+210 277.2	0.9994	30.64

表 7 不同菌株脂肪酸含量
Tab. 7 Fatty acids content of different strains μg/g

菌株 Strain	棕榈酸 Palmitic acid	硬脂酸 Stearic acid	油酸 Oleic acid	反亚油酸 Linoleic acid	亚麻酸 Linolenic acid
D08	7.35±1.13 ^e	13.75±0.89 ^g	4.70±0.61 ^g	53.27±1.25 ^{def}	10.05±0.30 ^{fg}
D14	10.08±1.27 ^e	17.32±1.50 ^f	17.59±0.94 ^d	44.18±0.40 ^f	51.63±1.31 ^b
D15	61.60±8.32 ^a	25.98±2.36 ^{de}	14.90±2.35 ^c	146.13±12.80 ^a	31.19±1.98 ^{cde}
D21	11.09±0.51 ^e	26.95±0.93 ^{cd}	13.67±0.65 ^{ef}	69.70±1.31 ^c	23.46±1.14 ^{cdefg}
D26	4.95±0.43 ^e	5.78±0.74 ⁱ	1.09±0.15 ^{hi}	92.00±0.96 ^b	34.20±0.70 ^c
D27	48.18±1.23 ^b	0.93±0.06 ^j	24.55±0.61 ^c	46.65±0.89 ^{ef}	8.46±0.84 ^g
D29	11.15±1.01 ^e	52.70±1.08 ^a	42.71±1.29 ^b	55.68±2.19 ^{def}	17.60±0.28 ^{defg}
D30	21.50±0.44 ^d	52.87±0.89 ^a	19.65±0.38 ^d	43.17±1.11 ^f	32.32±0.84 ^{cd}
D36	7.22±0.53 ^e	23.21±0.78 ^e	12.13±0.48 ^f	47.34±2.07 ^{ef}	22.20±1.34 ^{cdefg}
D37	8.01±1.27 ^e	10.36±0.27 ^h	0.23±0.05 ⁱ	23.75±0.51 ^g	70.91±3.99 ^a
D40	12.13±1.23 ^e	31.39±1.01 ^b	13.34±0.57 ^{ef}	98.52±0.89 ^b	51.51±0.90 ^b
D42	9.96±0.39 ^e	12.27±1.39 ^{gh}	0.92±0.26 ^{hi}	42.18±10.75 ^f	28.31±19.87 ^{cde}
D43	35.85±0.47 ^c	29.40±0.73 ^{bc}	60.75±0.84 ^a	7.08±0.32 ^h	25.97±1.05 ^{cdef}
D44	9.26±3.02 ^e	11.97±0.62 ^{gh}	3.14±0.83 ^{gh}	60.33±5.00 ^{cde}	16.49±0.94 ^{defg}
D45	9.36±1.59 ^e	12.46±0.71 ^{gh}	1.40±0.47 ^{hi}	64.02±1.39 ^{cd}	10.14±0.75 ^{fg}
D46	5.51±0.54 ^e	14.24±1.15 ^g	12.76±0.74 ^{ef}	49.92±0.62 ^{ef}	15.93±0.57 ^{efg}
极小值	4.95	0.93	0.23	7.08	8.46
极大值	61.60	52.87	60.75	146.13	70.91
均值	17.07	21.35	15.22	58.99	28.15
标准差	16.72	14.95	16.41	32.13	17.29
变异系数	0.93	0.67	1.02	0.52	0.58

注：同列不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).

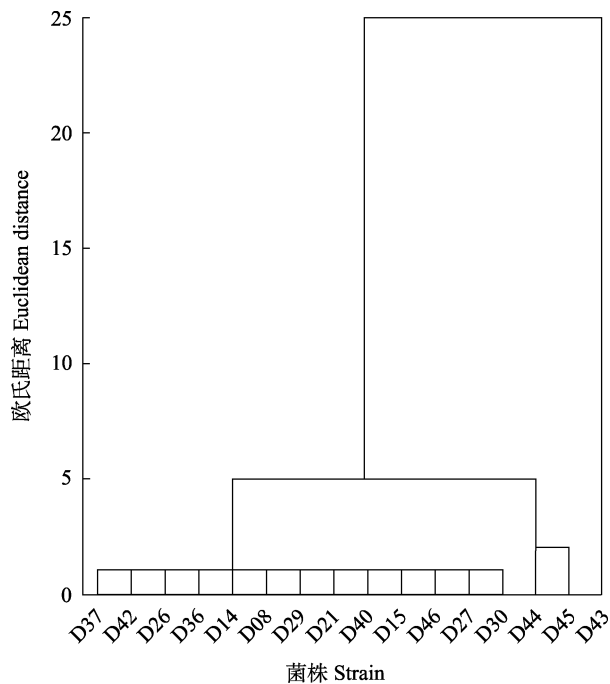


图 1 不同菌株基于植物激素的聚类分析（Ward）
Fig. 1 Cluster analysis of different fungus based on phytohormone (Ward)

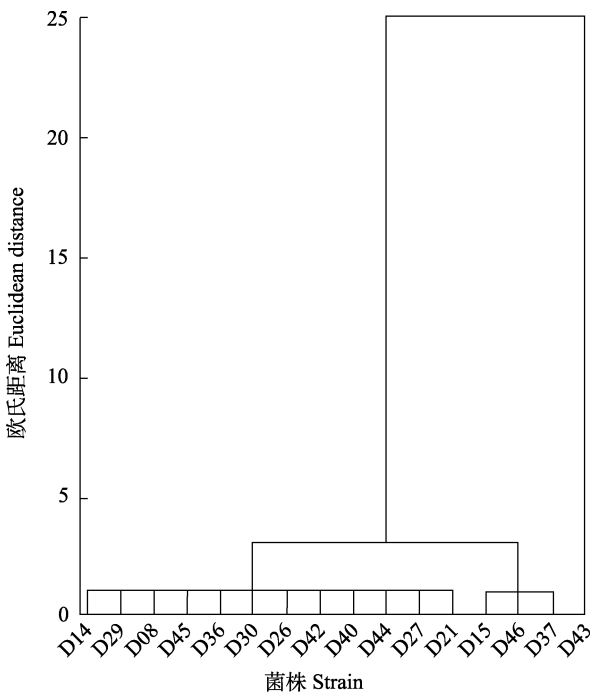


图 2 不同菌株基于有机酸的聚类分析（Ward）
Fig. 2 Cluster analysis of different fungus based on organic acids (Ward)

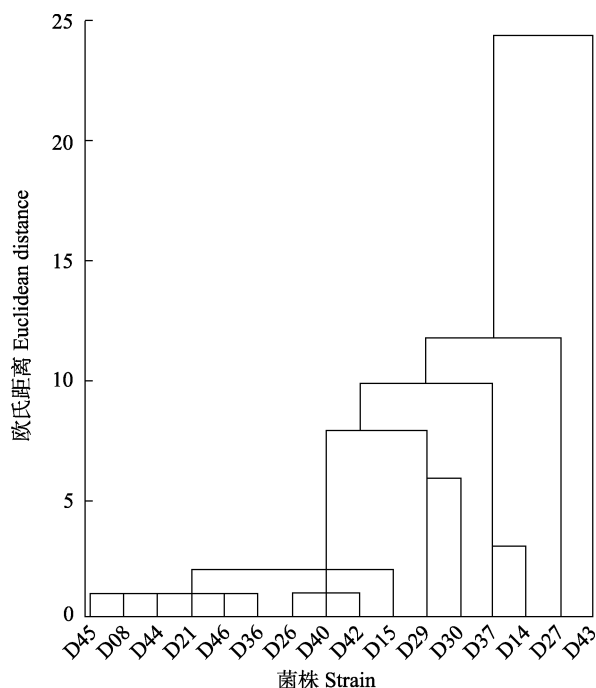


图 3 不同菌株基于脂肪酸的聚类分析 (Ward)

Fig. 3 Cluster analysis of different fungus based on fatty acids (Ward)

3 讨论

微生物发酵广泛应用于食品、医药等领域,给人类生活和工业生产带来了巨大改变。发酵制剂包括如植物激素、有机酸、脂肪酸、增稠剂、凝胶剂、增味剂、酶、风味化合物、维生素、必需氨基酸、食用色素等^[13-14]。研究发现多数真菌都可以产生植物激素。如藤仓镰刀菌 (*Fusarium fujikuroi*) 通过分泌赤霉素 (GA_3) 引起水稻恶苗病,被广泛应用于 GA_3 的工业生产^[15]。可可毛色二孢 (*Lasiodiplodia theobromae*) 发酵可以生产大量 JA,且产能远远高于植物^[16-17]。近 30 年来,研究者一直致力于利用微生物发酵培养产生天然 ABA,以满足农业生产的需求。研究发现灰葡萄孢 (*Botrytis cinerea*) 携带一个 ABA 生物合成基因簇^[18],当前已经实现了灰葡萄孢工业发酵生产天然 ABA^[19]。此外,有报道可可毛色二孢产植物激素的种类,认为该菌不仅可以大量产生 JA,在其菌丝中还能检测到 GA_3 、ABA、SA 和 TZ 等植物激素^[20]。本研究测定了间座壳属 16 个菌株分泌茉莉酸甲酯 (MeJA)、JA、 GA_3 、ABA、ZT、SA 等植物激素的能力,发现间座壳属真菌可以分泌 4 种植物激素,其中 ABA 的平均产量相对最高,但该属真菌的植物激素水平总体较低。

大多数有机酸可通过微生物发酵进行生产,

其中实现工业化生产的有柠檬酸、葡萄糖酸、乳酸、苹果酸、琥珀酸等^[21]。黑曲霉 (*Aspergillus niger*) 已经用于商业化生产柠檬酸、葡萄糖酸^[14]。乳酸菌 (*Lactobacillus*) 是乳酸的主要生产菌。苹果酸的主要生产菌是酪丁酸梭菌 (*C. tyrobutyricum*)、*S. cerevisiae*、大肠杆菌 (*E. coli*) 等^[22]。琥珀酸的发酵微生物多来源于产琥珀酸曼氏杆菌 (*Mannheimia succiniciproducens*)^[23]、大肠杆菌、琥珀酸放线杆菌 (*Actinobacillus succinogenes*)^[24] 以及解脂耶氏酵母 (*Yarrowia lipolytica*)、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)^[25] 和毕赤酵母 (*Pichia kudriavzevii*)^[26] 等。GUETTLER 等^[27] 从牛瘤胃中分离筛选出 1 株琥珀酸放线杆菌菌株,琥珀酸产量达到 70.0 g/L。黄超等^[28] 以大肠杆菌 SUC37 为出发菌株,通过 Red 同源重组技术,构建乳酸脱氢酶基因 (*ldhA*) 失活突变株,琥珀酸产量达 59.26 g/L。孙莹^[29] 筛选到 1 株总状枝毛霉 (*M. racemosus*),琥珀酸产量达 21.25 g/L。BABAEI 等^[25] 构建的工程菌解脂耶氏酵母 ST8578 的琥珀酸产量达 35.3 g/L。丝状真菌分泌较多的有机酸是苹果酸和柠檬酸,本研究检测了 16 个间座壳属菌株的柠檬酸、苹果酸、琥珀酸、奎宁酸、莽草酸、Vc 6 种有机酸的积累情况,发现 16 个菌株均能检测到琥珀酸、莽草酸、Vc,琥珀酸的平均产量显著高于 Vc 和莽草酸。其中 D43 菌株的琥珀酸产量达 1115.98 $\mu\text{g/g}$,产量较高。针对该菌株的产酸特性,后续可开展该菌株的诱变处理、发酵条件筛选及基因工程改造等研究,挖掘其产酸潜力。

脂肪酸是微生物细胞膜的重要组成部分,具有重要的生物学功能。用于生产脂肪酸的微生物种类主要有藻类、真菌和细菌。其中酵母和丝状真菌含有丰富的脂肪酸种类^[30-32]。主要包括棕榈酸、油酸等,此外还可以生产多不饱和脂肪酸,如亚麻酸、亚油酸、花生四烯酸、二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸等。被孢霉 (*Mortierella*) 是最早研究并应用于工业化生产亚油酸的菌种之一。*M. viticola*、卷枝毛霉 (*Mucor circinelloides*)、刺孢小克银汉霉 (*Cunninghamella echinulata*) 和雅致枝霉 (*Thamnidium elegans*) 等丝状真菌能够积累亚麻酸^[33]。青霉菌 (*Penicillium*)、拉曼被孢霉 (*M. ramanniana*)、深黄被孢霉 (*M. isabellina*) 和高山被孢霉 (*M. alpina*) 也可生产花生四烯酸^[34]。裂殖壶菌 (*Schizochytrium* sp.) 可生产二十二碳六

烯酸^[35]。本研究以棕榈酸、油酸、亚麻酸、亚油酸等 35 种脂肪酸作为标准品, 对 16 个间座壳属菌株的脂肪酸积累情况进行了研究。明确了间座壳属真菌产油脂的种类。结果表明 16 个间座壳属菌株均可以产生棕榈酸、油酸、亚麻酸、硬脂酸和反亚油酸, 其中反亚油酸的平均含量较高。反亚油酸具有损伤血管内皮细胞能力, 还可能与炎症因子的激活呈正相关^[36], 该化合物还可对环境造成污染。间座壳属真菌的反亚油酸的产量相对较低, 对人体和环境的毒性风险较低。供试的 16 个菌株中, D43 的反亚油酸产量最低, 而油酸产量最高, 表明在脂肪酸积累方面, 该菌株表现出对人体和环境友好的特征。

通过对比基于脂肪酸的聚类分析和基于多基因序列的聚类分析结果(数据未列出), 发现 16 株间座壳属菌株通过上述 2 种方法聚类后, 分类结果差异大。认为间座壳属种间鉴定的 DNA 分子特征和脂肪酸的分泌特征并不相符。这与早期研究认为微生物脂肪酸的含量和结构具有种属特征, 可以作为生物标记来辅助鉴定菌种^[37]的结论不尽相同。本研究还基于植物激素、有机酸和脂肪酸种类和产量对 16 株间座壳属菌株进行聚类分析, 以期比较不同菌株的品质类型, 发现 D43 均单独聚为一个类群, 说明该菌株根据上述品质分类时表现特别。进一步综合分析发现, 该菌株的 ABA、琥珀酸、莽草酸及油酸产量均最高, 且反亚油酸产量最低。认为该菌株在琥珀酸的开发利用方面具有一定潜力。

参考文献

- [1] TAYLOR J W. One fungus=one name: DNA and fungal nomenclature twenty years after PCR[J]. IMA Fungus, 2011, 2(2): 113-120.
- [2] BASTIDE F, SÉRAN DAT I, GOMBERT J, LAURENT E, MOREL E, KOLOPP J, GUILLERMINF P L, HAMONA B, SIMONEAU P, BERRUYER R, POUPARD P. Characterization of fungal pathogens (*Diaporthe angelicae* and *D. eres*) responsible for umbel browning and stem necrosis on carrot in France[J]. Plant Pathology, 2017, 66(2): 239-253.
- [3] UDAYANGA D, LIU X, MCKENZIE E H, CHUKEATIROTE E, BAHKALI A H, HYDE K D. The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens[J]. Fungal Diversity, 2011, 50: 189-225.
- [4] UDAYANGA D, LIU X, MCKENZIE E H, CHUKEATIROTE E, HYDE K D. A multi-locus phylogenetic evaluation of *Diaporthe* (*Phomopsis*)[J]. Fungal Diversity, 2012, 56(1): 157-171.
- [5] GOMES R R, GLIENKE C, VIDEIRA S I R, LOMBARD L, GROENEWALD J Z, CROUS P W. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi[J]. Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 2013, 31(1): 1-41.
- [6] HUANG F, UDAYANGA D, WANG X, HOU X, MEI X, FU Y, HYDE K D, LI H. Endophytic *Diaporthe* associated with *Citrus*: a phylogenetic reassessment with seven new species from China[J]. Fungal Biology, 2015, 119: 331-347.
- [7] GAO Y, LIU F, DUAN W, CROUS P W, CAI L. *Diaporthe* is paraphyletic[J]. IMA Fungus, 2017, 8(1): 153-187.
- [8] 杨琴. 中国间座壳属的分类和系统学研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2019.
- [9] YANG Q. Taxonomy and phylogeny of *Diaporthe* in China[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2019. (in Chinese)
- [9] CHEPKIRUI C, STADLER M. The genus *Diaporthe*: a rich source of diverse and bioactive metabolites[J]. Mycological Progress, 2017, 16(5): 477-494.
- [10] XU T C, LU Y H, WANG J F, SONG Z Q, HOU Y G, LIU S S, LIU C S, WU S H. Bioactive secondary metabolites of the genus *diaporthe* and anamorph *phomopsis* from terrestrial and marine habitats and endophytes: 2010—2019[J]. Microorganisms, 2021, 9(2): 217.
- [11] 蔡佳, 周雯颖, 许光明, 周小江. 间座壳属 *Diaporthe* sp. 真菌的天然产物研究进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(7): 1717-1726.
- [12] CAI J, ZHOU W Y, XU G M, ZHOU X J. Research progress on natural products of fungi of *Diaporthe* sp.[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2021, 46(7): 1717-1726. (in Chinese)
- [12] 胡美姣, 李敏, 高兆银, 弓德强. 西沙群岛岛礁植物病害原色图谱: 永兴岛卷[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021.
- [13] HU M J, LI M, GAO Z Y, GONG D Q. Original color atlas of plant diseases on Xisha islands: Yongxing island volume[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2021. (in Chinese)
- [13] DUFOSSÉ L. Red colourants from filamentous fungi: are they ready for the food industry?[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2018, 69: 156-161.
- [14] COPETTI M V. Fungi as industrial producers of food ingredients[J]. Current Opinion in Food Science, 2019, 25: 52-56.
- [15] CEN Y K, LIN J G, WANG Y L, WANG J Y, LIU Z Q, ZHENG Y G. The gibberellin producer *Fusarium fujikuroi*: methods and technologies in the current toolkit[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2020, 8: 232.

- [16] ALDRIDGE D C, GALT S, GILES D, TURNER W B. Metabolites of *Lasiodiplodia theobromae*[J]. Journal of the Chemical Society C: Organic, 1971(9): 1623-1627.
- [17] SALVATORE M M, ALVES A, ANDOLFI A. Secondary metabolites of *Lasiodiplodia theobromae*: distribution, chemical diversity, bioactivity, and implications of their occurrence[J]. Toxins, 2020, 12(7): 457.
- [18] SIEWERS V, KOKKELINK L, SMEDSGAARD J, TUDZYNSKI P. Identification of an abscisic acid gene cluster in the grey mold *Botrytis cinerea*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(7): 4619-4626.
- [19] 王应明. 灰葡萄孢霉(*Botrytis cinerea*)TBC-A 菌脱落酸合成基因簇 *bcaba1-4* 的转录调控机制研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2018.
- WANG Y M. Research on transcriptional regulation mechanism of abscisic acid synthesis gene cluster *bcaba1-4* in *Botrytis cinerea* TBC-A[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2018. (in Chinese)
- [20] CASTILLO G, TORRECILLAS A, NOGUEIRAS C, MICHELENA G, SÁNCHEZ-BRAVO J, ACOSTA M. Simultaneous quantification of phytohormones in fermentation extracts of *Botryodiplodia theobromae* by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2014, 30: 1937-1946.
- [21] LIAUD N, GINIÉS C, NAVARRO D, FABRE N, CRAPART S, GIMBERT I H, LEVASSEUR A, RAOUCHE S, SIGOILLOT J C. Exploring fungal biodiversity: organic acid production by 66 strains of filamentous fungi[J]. Fungal Biology and Biotechnology, 2014, 1: 1-10.
- [22] ALONSO S, RENDUELES M, DÍAZ M. Microbial production of specialty organic acids from renewable and waste materials[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2015, 35(4): 497-513.
- [23] CHOI S, SONG H, LIM S W, KIM T Y, AHN J H, LEE J W, LEE M H, LEE S Y. Highly selective production of succinic acid by metabolically engineered *Mannheimia succiniciproducens* and its efficient purification[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2016, 113(10): 2168-2177.
- [24] SHEN N, ZHANG H, QIN Y, WANG Q, ZHU J, LI Y, JANG M G, HUANG R. Efficient production of succinic acid from duckweed (*Landoltia punctata*) hydrolysate by *Actinobacillus succinogenes* GXAS137[J]. Bioresource Technology, 2018, 250: 35-42.
- [25] BABAEI M, RUEKSOMTAWIN KILDEGAARD K, NIAEI A, HOSSEINI M, EBRAHIMI S, SUDARSAN S, ANGELIDAKI I, BORODINA I. Engineering oleaginous yeast as the host for fermentative succinic acid production from glucose[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2019, 7: 361.
- [26] XI Y Y, ZHAN T, XU H T, CHEN J, BI C H, FAN F Y, ZHANG X L. Characterization of JEN family carboxylate transporters from the acid-tolerant yeast *Pichia kudriavzevii* and their applications in succinic acid production[J]. Microbial Biotechnology, 2021, 14(3): 1130-1147.
- [27] GUETTLER M V, RUMLER D, JAIN M K. *Actinobacillus succinogenes* sp. nov., a novel succinic-acid-producing strain from the bovine rumen[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1999, 49(1): 207-216.
- [28] 黄超, 任晓洁, 裴疆森, 赵新河, 赵玉斌, 王灵云, 荆宇航. 高产琥珀酸工程菌株 *E. coli* SUC37 的代谢途径优化及分析 [J]. 化工进展, 2024, (2024-02-23)[2024-04-20]. <https://doi.org/10.16085/j.issn.1000-6613.2023-2057>.
- HUANG C, REN X J, PEI J S, ZHAO X H, ZHAO Y B, WANG L Y, JING Y H. Optimization and analysis of the metabolic pathway of succinic acid-producing *Escherichia coli*[J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2024, (2024-02-23)[2024-04-20]. <https://doi.org/10.16085/j.issn.1000-6613.2023-2057>. (in Chinese)
- [29] 孙莹. 霉菌 SH-24 好氧发酵产生琥珀酸的初步研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2007.
- SUN Y. The preliminary study on aerobic fermentation of succinic acid produced by *Mucor racemosus* SH-24[D]. Yantai: Yantai University, 2007. (in Chinese)
- [30] RATLEDGE C. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for single cell oil production[J]. Biochimie, 2004, 86(11): 807-815.
- [31] STAHL P D, KLUG M J. Characterization and differentiation of filamentous fungi based on fatty acid composition[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62(11): 4136-4146.
- [32] 柳杰, 刘文慧, 王晚晴, 华威, 程艳玲. 产油微生物及其发酵原料的研究进展[J]. 环境工程, 2017, 35(3): 132-136.
- LIU J, LIU W H, WANG W Q, HUA W, CHENG Y L. Research advances in oleaginous microorganisms and fermenting materials[J]. Environmental Engineering, 2017, 35(3): 132-136. (in Chinese)
- [33] 孙万里. 霉菌产油脂提取的研究[J]. 广州化工, 2014, 42(20): 99-101.
- SUN W L. Study on oil extraction from mold[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2014, 42(20): 99-101. (in Chinese)
- [34] 薛福婷, 时文悦, 吴琛, 王秀文, 李少琦, 逢淑娴, 宋元达. 液态发酵工艺对丝状真菌脂质积累的影响研究进展[J]. 粮食与食品工业, 2023, 30(6): 11-16.
- XUE F T, SHI W Y, WU C, WANG X W, LI S Q, PANG S X, SONG Y D. Research progress on the effects of liquid

- fermentation technology on lipid accumulation in filamentous fungi[J]. *Cereal and Food Industry*, 2023, 30(6): 11-16. (in Chinese)
- [35] COHEN Z, RATLEDGE C. *Single cell oils: microbial and algal oils*[M]. Illinois: AOCS Publishing, 2005.
- [36] 邱斌, 刘玮, 刘丽娜, 宗爱珍, 贾敏, 徐同成. 反亚油酸诱导人脐静脉内皮细胞的转录组学及生物信息学分析[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(1): 52-58.
- QIU B, LIU W, LIU L N, ZONG A Z, JIA M, XU T C. Transcriptomic and bioinformatic analyses of human umbilical vein endothelial cells induced by linoelaidic acid[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(1): 52-58. (in Chinese)
- [37] KOCK J L F, BOTHA A. *Fatty acids in fungal taxonomy*[M]//*Chemical fungal taxonomy*. New York: CRC Press, 2020: 219-246.