

曲霉属的现代分类命名研究进展

刘警鞠¹ 张雨森¹ 陈娟² 孙炳达³ 赵国柱¹

(1. 北京林业大学生物科学与技术学院 林业食品加工与安全北京市重点实验室, 北京 100083; 2. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193; 3. 中国科学院微生物研究所中国普通微生物菌种保藏管理中心, 北京 100101)

摘要: 曲霉属真菌的利用及发现命名历史悠久, 分类体系不断变化, 2011年7月通过的《国际藻类、菌物、植物命名法规》(墨尔本法规), 规定了“一种真菌一个名称”条款在2013年1月1日生效, 改变了原先真菌物种可以多名称, 有性型优先代表全型的规则, 对曲霉分类命名影响巨大。目前, 国际上对曲霉属及相关的属种进行了大规模系统分类修订, 更注重分子系统发育结果, 推荐的曲霉标准现代多相分类方法主要包括: 一、分子生物学测定通用DNA分子条形码ITS序列及特定的第二条形码基因(钙调蛋白, β -微管蛋白及RNA聚合酶II第二大亚基等); 二、形态学特征(基物、标准培养基、培养条件、菌落、分生孢子头、子囊孢子等); 三、代谢物谱(extrolite)分析(毒素、酶、有机酸、抗生素及其他次级代谢产物等)。新分类系统形成的曲霉属现代分类保留 *Aspergillus* 为代表曲霉属唯一合法的名称, 灰绿曲霉 *Aspergillus glaucus* 为模式种, 属下包含6个亚属, 27个组, 75个系/族, 446个接受种, 原有性型属种(名称)据系统发育关系被废除、组合或独立。本文总结了曲霉分类历史, 重点阐述墨尔本法规影响下曲霉属的修订变化、现代的分类系统、全基因组分析技术在曲霉研究中的应用, 及我国曲霉属的研究现状及建议等, 旨在为规范曲霉的分类、命名、合法名称的使用及曲霉真菌和基因资源挖掘等提供参考。

关键词: 散囊菌属; 有性型; 多相分类; 分子系统发育; 子囊菌门; 全基因组分析

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2021-0779

Research Progress in Modern Taxonomy and Nomenclature of *Aspergillus*

LIU Jing-ju¹ ZHANG Yu-sen¹ CHEN Juan² SUN Bing-da³ ZHAO Guo-zhu¹

(1. College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Key Laboratory of Food Processing and Safety in Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083; 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193; 3. China General Microbiological Culture Collection Centre, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101)

Abstract: The discovery and use of *Aspergillus* fungi have been a long history, while its taxonomy constantly changes. According to articles of ‘International code of nomenclature for algae, fungi and plants’ (Melbourne Code, July, 2011), “one fungus, one name, 1FIN” has been applied to fungi since January 1, 2013. It changed the rule of that the fungi could have multiple names and teleomorph could represent the holomorph, which had a great impact on *Aspergillus* taxonomy. Since then, *Aspergillus* and its related genera had been systematically revised on a large scale in the world. The new revisions paid more attention to the results of molecular phylogeny, and the standard modern polyphasic methods recommended for *Aspergillus* classification mainly included: I. Molecular biology by determining universal ITS rDNA molecular barcode and specific second barcode (calmodulin *CaM*, β -tubulin *BenA* and RNA polymerase II second subunit *RPB2*, etc.); II. morphological characteristics (substrate, standard medium, incubation conditions, colony, conidial head, ascospores, etc.); III. extrolite analysis (toxins, enzymes, organic acids, antibiotics and other secondary metabolites, etc.). The modern classification of *Aspergillus* formed by the new classification system retains *Aspergillus* as the only legal generic name, including 446 species, subdivided

收稿日期: 2021-06-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(31093440, 31570019)

作者简介: 刘警鞠, 女, 硕士研究生, 研究方向: 真菌分类学; E-mail: tdcqliu123@163.com

通讯作者: 赵国柱, 男, 博士, 教授, 研究方向: 真菌分类与分子系统学; E-mail: zhaogz@bjfu.edu.cn

in 6 subgenera, 27 sections and 75 series, *Aspergillus glaucus* was the type species. All related teleomorphic genera and species (names) were abolished, combined, or removed independently. In this paper, we briefly summarized the taxonomic history of *Aspergillus*, focusing on revision changes, modern taxonomy and genome-wide analysis techniques of *Aspergillus* in its study under the influence of new article of Melbourne Code, also including some comments and suggestions about present research status of *Aspergillus* in China. The purpose of this study is to provide reference for the standardization of classification, nomenclature, use of legal names, and the mining of *Aspergillus* fungi and gene resources.

Key words: *Eurotium*; teleomorph; polyphasic taxonomy; molecular phylogeny; Ascomycota; genome-wide analysis

曲霉属真菌分布广泛,是常见的食品、粮食、环境污染菌,部分种是重要的人体及动物条件致病菌,曲霉也能产生各种酶、有机酸、抗生素、代谢产物,在食品、酿造、医药等发酵工业、生物技术中有重要应用^[1-8]。黄曲霉(*Aspergillus flavus*)污染粮食、食品、饲料引起霉变,产生致癌的黄曲霉毒素;烟曲霉(*A. fumigatus*)对器官移植、艾滋病等免疫缺陷患者引起的感染已超过念珠菌 *Candida* spp.,成为临床上常见的真菌病原菌之一;而黑曲霉(*A. niger*)、米曲霉(*A. oryzae*)是酿酒、制酱、酱油生产等的主要发酵菌种,柠檬酸的生产主要依赖于黑曲霉;土曲霉(*A. terreus*)发酵产生的次生代谢产物洛伐他汀(lovastatin)等是临床上降胆固醇预防心脏病的重要药物;此外,黑曲霉(*A. niger*)和构巢曲霉(*A. nidulans*=*Emericella nidulans*)是基因工程、组学、遗传学、生物化学、细胞生物学、发酵工程等研究的重要模式生物。

近年来人们对曲霉的开发利用,毒素检测,曲霉病的防范越来越重视。《国际藻类、菌物、植物命名法规》(简称《墨尔本法规》)^[9-10]“一个真菌一个名称(one fungus, one name, 1F1N)”的规则于2013年生效,使整个曲霉属的分类命名系统发生重大变化。了解曲霉的现代分类系统,正确鉴定、系统分类及规范使用名称,对于曲霉属真菌的国际国内研究、学术交流,相关行业的开发和应用都非常重要。

1 曲霉属的近代分类研究历史

曲霉属 *Aspergillus* P. Micheli ex Haller 最初由 Micheli 建立,拉丁名称“*Aspergillus*”,(源于一种天主教会用来洒圣水的装置“aspergillum”),用来描述该类真菌产生爆炸头式(喷洒式)的产孢结构(分生孢子头)特征。1768年由 Haller 合格发表, Fries 于 1832 年认可了属名,灰绿曲霉 *Aspergillus*

glaucus (L.) Link (= *Mucor glaucus* L.) 为该属模式种。曲霉属自建立起长期归属在无性型的半知菌门(类)。1854年, de Bary 首次建立了无性型曲霉属 *Aspergillus* 与其有性型散囊菌属 *Eurotium* 的联系。Benjamin 于 1955 年将曲霉属的有性型分为 *Eurotium*、*Emericella* 和 *Sartorya*, 随后对如何处理、描述、命名,分类曲霉及相关有性型一直存在争议。至《墨尔本法规》生效(2013)之前,曲霉菌的分类研究历史主要有两个时期及分类体系^[11]。

(1) 1985 年以前,以 Thom-Raper-Fennell 为代表的传统经典分类系统^[12-13]。该系统曾广泛应用,主要以形态分类为依据。认为人们接触的曲霉绝大部分为无性型,只有少数产生有性子囊孢子繁殖阶段,为避免不必要的命名混淆,将最早用来描述无性型的名称 *Aspergillus* 包含了无性型和有性型在内的全部种类,而不承认独立有性型名称的地位。在属与种之间的分类等级使用“群”(group), Raper 在专著中,将所承认的 150 个种及变种划分为 18 个群^[13]。但这不符合当时的《国际植物命名法规》(斯德哥尔摩法规),即真菌的第一个合格发表的有性型名称享有优先权。另外,由于“群”不是《国际植物命名法规》中规定的分类术语,不具有正式的分类学地位。因此,该分类体系虽然广泛应用,但一直存在很大争议,并被不断修改和完善^[14]。

(2) 1985 年至《墨尔本法规》生效的 2013 年之前,曲霉有性型和无性型命名并存,但通常有性型被认为代表全型(holomorph),属下分亚属 subgenus 和组 section,分子系统学研究结果在曲霉分类中逐步得到应用。1985 年在荷兰阿姆斯特丹召开的首届国际青霉和曲霉研讨会上认为应把曲霉属以下分类等级正规化与《国际植物命名法规》一致,为了合法化曲霉属下的分类单位。同年, Gams 等^[15]根据

形态学及对应性型特征，引入了“亚属 subgenus”和“组 section”的概念和名称，将曲霉属分为 6 个亚属包含 17 个组（1 个亚属未分组），对应 1965 年 Raper & Fennell 提出的 18 个群。而有性型另外分别归入了不同的有性型属，如 *Eurotium*, *Petromyces*, *Emericella* 等。

随着分子系统学技术的飞速发展，从《真菌学词典》第八版开始^[16]，取消半知菌（亚门）类的高等级分类阶元，无性型真菌改称丝分孢子真菌（mitosporic fungi），以无性型为主的曲霉属 *Aspergillus* 也相应按照分子系统发育或对应的有性型

归于子囊菌门（Ascomycota）下，但无性型和有性型名称仍然可以单独使用和命名。2000 年, Pitt 等^[17]对曲霉类群进行了修正，接受了 184 个无性曲霉名称和 70 个相应的有性型名称。2008 年，Peterson^[18]建立曲霉属的多基因系统发育树，发现曲霉属的有性型属与无性型的 6 个亚属系统发育关系非常密切，Houbraken 和 Samson^[19]也支持这一观点。因此，在这一时期无性与有性虽然仍有争议，但大多仍然可以分别分类命名，各自独立合法使用，广义的曲霉大类群包含了无性型曲霉属 *Aspergillus* 及其相关的有性型属超过 10 个（表 1）。

表 1 曲霉原主要的有性型及相关属的处理

Table 1 Treatment of major teleomorph and related genera of *Aspergillus*

原有性型及相关属 Sexual and related genera	处理方式 Treatment	处理后结果 Current status
毛萨托菌属 <i>Chaetosartorya</i>	有性型异名 Sexual synonym	= 淡黄亚属 Subgenus <i>Cremei</i>
脊孢菌属 <i>Cristaspora</i>	有性型异名 Sexual synonym	= 淡黄亚属 Subgenus <i>Cremei</i>
分叉菌属 <i>Dichotomomyces</i>	有性型异名 Sexual synonym	= 棒状组 Section <i>Clavati</i>
裸胞壳属 <i>Emericella</i>	有性型异名 Sexual synonym	= 古铜组 Section <i>Aenei</i> = 巢状组 Section <i>Nidulantes</i> = 焦色组 Section <i>Usti</i>
散囊菌属 <i>Eurotium</i>	有性型异名 Sexual synonym	= 曲霉亚属 Subgenus <i>Aspergillus</i>
芬尼菌属 <i>Fennellia</i>	有性型异名 Sexual synonym	= 黄梗组 Section <i>Flavipedes</i>
半内果属 <i>Hemicarpenteles</i>	转至 Transferred to	青霉属 <i>Penicillium</i>
新内果属 <i>Neocarpenteles</i>	有性型异名 Sexual synonym	= 棒状组 Section <i>Clavati</i>
新石座菌属 <i>Neopetromyces</i>	有性型异名 Sexual synonym	= 环绕组 Section <i>Circumdati</i>
新萨托菌属 <i>Neosartorya</i>	有性型异名 Sexual synonym	= 烟色组 Section <i>Fumigati</i>
石座菌属 <i>Petromyces</i>	有性型异名 Sexual synonym	= 黄色组 Section <i>Flavi</i>
单瓶霉属 <i>Phialosimplex</i>	无性型异名 Asexual synonym	= 多拟青霉亚属 Subgenus <i>Polypaecilum</i>
多拟青霉属 <i>Polypaecilum</i>	无性型异名 Asexual synonym	= Subgenus <i>Polypaecilum</i>
核闭壳属 <i>Sclerocleista</i>	从曲霉属移除 Excluded from <i>Aspergillus</i>	独立 Independent
束梗丛霉属 <i>Stilbothamnium</i>	有性型异名 Sexual synonym	废弃异名 Discarded synonym

2 《墨尔本法规》对曲霉现代分类命名的影响

2011 年 7 月，在第 18 届（墨尔本）国际植物学大会命名法分会上通过新的《国际藻类、菌物、植物命名法规》（简称《墨尔本法规》），与旧法规相比一个重大的变化是修改了第 59 条规则（article 59），对真菌命名采用“一种真菌，一个名称”即 1F1N（one fungus, one name）的规则，规定从 2013 年 1 月 1 日起 1F1N 生效^[9-10, 20]。这一伟大的变革，具有划时代的意义，对真菌尤其复型多名称及

无性型真菌影响巨大。法规改变原有性型名称优先代表全型的规定，真菌的无性型名称享有与有性型名称同等的优先权，如果无性型名称有效发表的时间更早，且被广泛使用和引用，则该无性型名称可以被用于表示全型真菌^[10]，即一种真菌无论有性无性只保留一个优先合法的名称。这需要对 2013 年之前发表的所有曲霉属 *Aspergillus* 及其相关的有性型属种（上千个）名称进行全面的唯一性确认和修订。为此，国际青霉及曲霉专业委员会（International

Commission of *Penicillium* and *Aspergillus*, ICPA) 针对曲霉属及其有性型属的处理以及命名问题展开了广泛讨论, 审议了多种方案, 其中主要三种方案影响比较大。

方案一, 将曲霉无论有性还是无性型根据不同的系统发育分支拆分成相应的不同属, 使用每一分支中最古老名称作为属名, 如有性型的属名 *Neosartorya*, *Emericella*, *Petromyces* 等会保留代表不同分支的属名称。这个方案优点保留了主要有性型属名, 而缺点在于, 会导致一些常见和重要(无性型为主)的种, 如黑曲霉 *A. niger*、赭曲霉 *A. ochraceus*、烟曲霉 *A. fumigatus* 和黄曲霉 *A. flavus* 等因在相应的系统发育分支中并非最早而需要更名, 改到相应有性型属名下。

方案二, 在方案一的基础上做了改善, 保留曲霉属 *Aspergillus* 及重要种类, 需要重新选择保留的 *Aspergillus* 的模式种(例如 *A. fumigatus* 或 *A. niger*)。如果模式种选择 *A. niger*, 则属名 *Aspergillus* 可用于黑曲霉 *A. niger*、黄曲霉 *A. flavus*、米曲霉 *A. oryzae* 等, 常见重要种类名称保持不变; 其余种类归为保留的几个不同有性型名称的属, 如原有性型的属 *Emericella*、*Neosartorya* 和 *Eurotium* 名称将分别用于容纳原曲霉属 *Aspergillus* 下的不同组 sections, 如 *Versicolores*、*Fumigati* 和 *Aspergillus* 中对应的种。这个方案基于经济及物种重要性考虑, 缺点在于多个属需重新选择其他的模式种, 有悖于命名法规, 导致命名混乱, 会引起争议。

方案三, 继续保留最早的曲霉属 *Aspergillus* 的名称及模式种灰绿曲霉 *A. glaucus*, 将相关的有性型名称视为 *Aspergillus* 联系在一起的具有生物学意义的结构特征(异名)。如, *A. glaucus* (原无性型) 被保留, 则其原有性型名称蜡叶散囊菌 *Eurotium herbariorum* 则被废弃, 但可以描述该种有性型为产生散囊菌型(*Eurotium*-type)的子囊座(ascmata); 这样曲霉属 *Aspergillus* 原有性型属, 如 *Neosartorya*、*Emericella*、*Eurotium* 和 *Petromyces* 等及一些相关属 *Dichotomomyces*、*Polypaecilum* 和 *Phialosimplex* 将成为曲霉属 *Aspergillus* 的异名属。这个方案使得大多数曲霉保留无性型名称的同时其有性型名称(异名)能以所代表的特征而出现在 *Aspergillus* 名下, 有利

于命名法的稳定性, 便于不同领域人员的使用和理解, 得到了 ICPA 和大多数分类学者的认可, 被逐步广泛采用(<http://www.aspergilluspenicillium.org/images/PDF/minutes.pdf>)。

对曲霉属的界定还存在其他的观点, Pitt 和 Taylor^[21-22] 对曲霉及其相近属之间的系统发育关系研究, 认为青霉属 *Penicillium* 是曲霉属巢状亚属(subgenus *Nidulantes*)的姐妹分支, 主张将曲霉属分成几个小属, 不同亚属沿用相关有性型属名, 如将 subgenus *Nidulantes* 改为裸胞壳属 *Emericella*, 将 subgenus *Aspergillus* 改为散囊菌属 *Eurotium*。但 Samson 等^[1] 认为这种划分方式会破坏曲霉属的单系性, 引起不必要的名称改变, 坚持将曲霉属作为一个单系属, 并在属下划分不同的亚属。

3 曲霉属的分类研究现状

围绕《墨尔本法规》的 1F1N 规则及 ICPA 的方案, 随后曲霉属及相关的无性有性属种的大规模的系统分类修订展开, 新修订更注重分子系统发育学及多相分类方法的应用。其中最系统代表性工作为荷兰菌种保藏中心(CBS)的 Samson 团队基于收集到的 *Aspergillus* 模式菌株(ex-type)系统研究结果^[1]。其推荐曲霉的标准现代多相分类方法主要包括: 一、分子鉴定及系统发育, 测定通用 DNA 分子条形码(barcoding) ITS 及特定的第二条形码基因(钙调蛋白 *CaM*, β -微管蛋白 *BenA* 及 RNA 聚合酶 II 第二大亚基 *RPB2*)(表 2)^[1]; 二、形态学特征(基物、标准培养基、菌落、培养条件、分生孢子头、子囊孢子等); 三、代谢物谱(extrolite)分析(毒素、酶、有机酸、抗生素及其他次级代谢产物)。通过系统发育分析显示曲霉菌 *Aspergillus* 与传统的 9 个相关有性型属为单系分支与青霉菌密切相关; 根据《墨尔本法规》1F1N 条款及 ICPA 的意见, 接受保留 *Aspergillus* 作为曲霉属唯一合法的名称, 相关有性型属处理为 *Aspergillus* 的异名; 重新修订了属级分类特征; 对已接受尚缺乏曲霉 *Aspergillus* 名称的种引入了 5 个新名称, 21 个新组合; 更新了接受的曲霉属种, 包含 339 种; 对于仅有标本, 没有模式菌株或 DNA 序列条形码及其他资料信息不全的 16 种列为排除和怀疑的种。此研究奠定了《墨尔本

表 2 曲霉属真菌 PCR 基因片段，引物及相关参数

Table 2 Gene fragments, primers and related PCR parameters of <i>Aspergillus</i> fungi					
基因片段 Gene fragment	退火温度 Annealing temperature/°C	循环次数 Cycles	引物 Primer	引物方向 Direction	引物序列 Primer sequence (5'-3')
核糖体内部转录间隔区 ITS	55	35	ITS1	正向 Forward	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G
			ITS4	反向 Reverse	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC
β- 微管蛋白基因 <i>BenA</i>	55	35	Bt2a	正向 Forward	GGT AAC CAA ATC GGT GCT GCT TTC
			Bt2b	反向 Reverse	ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC
钙调蛋白基因 <i>CaM</i>	55	35	CMD5	正向 Forward	CCG AGT ACA AGG ARG CCT TC
			CMD6	反向 Reverse	CCG ATR GAG GTC ATR ACG TGG
RNA 聚合酶 II 的第 2 大亚基 <i>RPB2</i>	梯度 50-52-55 (alt. : 48-50-52)	5-5-30	5F	正向 Forward	GAY GAY MGW GAT CAY TTY GG
			7CR	反向 Reverse	CCC ATR GCT TGY TTR CCC AT

Note : Y=T/C, M=A/C, W=A/T, R=A/G

法规》之后，*Aspergillus* 系统分类修订研究基础。

在 Samson 分类框架下，国内外学者近年来对 *Aspergillus* 及其属下分类单位进行了更为系统的研究，一些基于基因组、代谢物谱、蛋白质谱分析的新技术、新方法也被推荐应用曲霉系统分类、代谢产物筛选预测、致病性分析中，如全基因组测序分析（whole genome sequencing, WGS）、基质辅助激光解吸 / 电离飞行时间质谱（matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS）、（超）高效液相色谱结合二极管阵列检测质谱分析（（ultra）high-performance liquid chromatography coupled with diode array detection and mass spectrometry, UHPLC/HPLC-DAD-MS）等^[23-34]。其中 Houbroken 等^[34]根据系统发育分析结合表型、生理型、代谢物结果进行最为系统的总结更新，并在原组 section 的等级下引入系 / 族 series 的等级，认为将曲霉种分配到相应的系 series，可以高度预测物种可能具有的功能特征，在使用基于表型的识别时可能是有用的，同时补充 *Aspergillus* 从 339 种^[1]到 446 种^[34]，形成了包括亚属、组、系、种的曲霉属真菌最新现代分类系统。即 *Aspergillus* 为唯一合法属名，为真菌界（Fungi），子囊菌门（Ascomycota），盘菌亚门（Pezizomycotina），散囊菌纲（Eurotiomycetes），散囊菌亚纲（Eurotiomycetidae），散囊菌目（Eurotiales），曲霉科（Aspergillaceae），曲霉属（*Aspergillus*）真菌总称。灰绿曲霉 *A. glaucus*（L.）Link 为曲霉属模式种，属下包含 6 个亚属

（subgenera），曲霉亚属（subgenus *Aspergillus*）、环绕亚属（subgenus *Circumdati*）、淡黄亚属（subgenus *Cremeri*）、烟色亚属（subgenus *Fumigati*）、巢状亚属（subgenus *Nidulantes*）和多拟青霉亚属（subgenus *Polypaecilum*），27 个组 sections，75 个系 series（附表），全部的有性型及相关属被处理为 *Aspergillus* 的异名或从中移除独立（表 1）^[34]。另外，ICPA 网站（<https://aspergilluspenicillium.org/>）上也列出接受的曲霉种，并为每种提供了正确名称、对应的异名（包括原有性型）、模式（标本）type、模式菌株 ex-type（保藏机构菌株编号）、属于哪一组 section、DNA 第一条形码 ITS 及大部分第二条形码（*BenA*，*CaM*，*RPB2*）序列注册号等，非常方便使用者查证和参考。

4 全基因组序列分析（whole genome sequencing, WGS）在曲霉属研究中的应用

近十年，以 Illumina，PacBio 为代表的高通量测序技术成熟，其通量高、准确率高、周期短、费用低的特点为真菌全基因组分析提供了强有力的支撑。曲霉一些重要亚属、组、种类、不同菌株全基因组已获得（表 3），为深入研究曲霉基因组结构特点、遗传多样性、系统发育关系、比较致病性、预测或筛选关键酶和代谢产物、鉴定特定基因等及曲霉资源开发提供了丰富的信息^[30]。

2018 年，美国科学家对 *A. arachidicola* 进行全基因组测序，并通过基因组学比较，推断出其与 *A. parasiticus* 为一个祖先的可能性最大^[35]。同年丹麦技术大学、美国联合基因组研究所（JGI）等机构在

表 3 曲霉重要种类的基因组分析情况

Table 3 Genomic analysis of important *Aspergillus* species

曲霉种类 Species	功能特征 Function and characteristics	基因组 Genomic
黑曲霉 <i>A.niger</i>	制酱、酿酒、制醋，柠檬酸生产重要的发酵菌种，生物工程广泛应用 Important fermentation and bioengineering fungi, widely used in the producing of sauce, wine, vinegar, and citric acid	34 Mb, 8 条染色体 34 Mb, 8 chromosomes
棒曲霉 <i>A.clavatus</i>	产生棒曲霉素，对人和动物致病 Producing patulin, and it causes disease to human and animal	35 Mb, 5 条染色体 35 Mb, 5 chromosomes
黄曲霉 <i>A.flavus</i>	污染谷物、食品等，产生黄曲霉毒素 Contaminate grain, food, and produce aflatoxin	约 36 Mb, 8 条染色体 About 36 Mb, 8 chromosomes
烟曲霉 <i>A.fumigatus</i>	条件致病真菌，超过念珠菌成为临床常见的真菌感染 Conditional pathogenic fungi, becoming clinical common fungal infections beyond Candida	30 Mb, 8 个染色体 30 Mb, 8 chromosomes
费氏曲霉 <i>A.fischeri = Neosartorya fischeri</i>	可引起角膜炎和移植病人肺部曲霉病 Cause keratitis and pulmonary Aspergillosis in clinical lung-transplant patients	约 35 Mb, 5 条染色体 About 35 Mb, 5 chromosomes
米曲霉 <i>A.oryzae</i>	食品酿造工业广泛应用发酵菌株 Fermentation strains are widely used in food brewing industry	37 Mb, 8 条染色体 37 Mb, 8 chromosomes
构巢曲霉 <i>A.nidulans = Emericella nidulans</i>	遗传学和生物化学研究重要模式生物 Important model organism for genetics and biochemistry research	约 31 Mb, 8 条染色体 About 31 Mb, 8 chromosomes
土曲霉 <i>A.terreus</i>	产生临床有关的次生代谢产物——洛伐他汀，具有降血脂功效 Produce a clinically relevant secondary metabolite, lovastatin, which has the effect of lowering blood lipid	约 35 Mb, 8 条染色体 About 35 Mb, 8 chromosomes

Nature Genetics 发文，公布了曲霉属黑色组 *Nigri* 大规模基因组测序分析结果，获得该组完整 26 个种的基因组概况（包括 23 个种首次基因组从头测序）；建立该组种间及种内遗传图谱，并利用基因组信息预测了 17 903 个碳水化合物活性酶（CAZymes）和 2 717 个次级代谢物基因簇，发现了数千种新基因^[31]。

对致病性的烟曲霉 *A. fumigatus* 12 个菌株的泛基因组（Pan-genome）分析，预测了 116 230 个推测蛋白及其相应的基因组位置。发现 80%–90% 的基因模块是在所有菌株中高度保守的核心基因。剩余的“附属”基因模块聚集在基因组的亚末端区域，可能与发病机制和抗生素耐药性有关^[36]。Steenwyk 等^[37]和 Bartoletti 等^[38]从一名被曲霉属真菌导致继发性感染的 COVID-19 患者体内分离得到 4 株烟曲霉菌株 CAPA A–D，表型特征和系统发育分析鉴定结果表明这些菌株与烟曲霉参考菌株 *A. fumigatus* Af293 和 A1163 并没有明显的差异存在；而通过基因组分析发现，与 *A. fumigatus* Af293 和 A1163 相比，CAPA A–D 在毒力及相关性状上表现出的菌株特异性是由编码毒性蛋白的基因缺失突变引起。唑类药

物是预防和治疗曲霉病的有效药物，但长时间使用可能导致曲霉菌基因组的代偿性突变，导致曲霉菌耐药菌株的出现^[39–41]。通过对耐药菌株的全基因组分析，分生孢子中 *CYP51A* 基因的突变是导致耐药性出现的主要原因，根据这一发现，针对 *CYP51A* 基因突变的新型药物已经研发成功^[42]。

曲霉属黄绿组（sect. *Flavi*）是一重要类群，既包括有益的菌株，又有有害的种类，如用于食品发酵和酶生产的米曲霉 *A. oryzae*，以及引起食物变质和产生真菌毒素的黄曲霉 *A. flavus*。基因组测序技术如何精准的区分识别这些菌种及他们基因组水平上的差异。大规模基因组测序分析系统发育关系表明，*A. oryzae* 的近缘种不是 *A. flavus* 而是 *A. minisclerotigenes* 或 *A. aflatoxiformans*，并且鉴定出了基因组的高度多样性，尤其是亚端粒区。预测黄绿组曲霉有大量的碳水化合物活性酶和次级代谢基因簇（每个菌株 73 个）^[43]。

截止 2021 年 6 月，GenBank 中已报道曲霉属 115 种 485 个 / 株全基因组序列（<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Aspergillus>），基因组大小

从 23.887 Mb (*Aspergillus cejpui* FS110) 到 77.556 Mb (*A. latus* ASFU1710); 已注释的编码蛋白质数量为 7 761 (*A. rambellii* SRRC1468) –19 260 (*A. fumigatus* Af293); GC 含量: 43% (*A. coremiiformis* CBS 553.77) –53.1% (*A. olivimuriae* NRRL66783); tRNA 数量: 138 (*A. sydowii* CBS593.65) –333 (*A. violaceofuscus* CBS 115.71); 已注释的基因数 9 301 (*A. coremiiformis* CBS 553.77) –15 384 (*A. calidoustus* CBS 121 601)。与经典的扩增子条形码相比, 全基因组测序为曲霉的系统发育, 基因分析、代谢调控、物种资源挖掘等研究提供更全面丰富的信息, 将成为未来曲霉研究的重要方向和手段。

5 我国曲霉属分类研究及展望

我国曲霉应用历史悠久, 物种多样性丰富。齐祖同^[14]主编《中国真菌志·第五卷·曲霉属及其相关有性型》(以下简称曲霉志), 以 Raper 等^[13]和 Gams 等^[15]的分类系统为基础, 研究包含我国曲霉属 14 个组的 82 个种及变种; 其中有 26 个具

有性型, 分别隶属于子囊菌的裸胞壳、散囊菌、新萨托菌和石座菌 4 个属。此后见一些零星的种类报道^[44–48]。Chen 等^[26–27, 49]通过在荷兰菌种保藏中心 (CBS) 访学交流, 对世界范围内 (包括我国部分) 曲霉属巢状组、曲霉组等进行了系统的多相分类研究。我国对曲霉总体生产应用及污染防范较为关注, 遗传学及基因生物工程研究较多, 但是《墨尔本法规》之后, 面对整个曲霉分类系统的巨大变化, 缺乏系统全面的分类修订研究, 影响其他相关领域的发展。如我国著名的茯砖茶核心发酵菌株‘金花菌’, 曾认为是灰绿曲霉群 *Aspergillus glaucus* group、匍匐曲霉 *A. repens*、谢瓦氏曲霉 *A.chevalieri*、冠突曲霉 *A. cristatus*、冠突散囊菌 *Eurotium cristatum* 等, 近年在食品发酵行业更多的认同冠突散囊菌^[50–51], 但后两者实际为同一菌种的无性 – 有性型, 按《墨尔本法规》及现代曲霉分类系统, 应该保留和使用的为冠突曲霉 *A. cristatus* 名称。

通过对我国主要的菌种保藏机构收集的曲霉菌种的调查发现, 来自土壤、粮食霉污、酿造等相

表 4 我国主要菌种保藏机构收集曲霉及主要有性型属情况

Table 4 Information of *Aspergillus* and major related teleomorph by major strain collection institutions in China

机构名称 Name of institution	曲霉属 <i>Aspergillus</i>		散囊菌属 <i>Eurotium</i>		裸胞壳属 <i>Emericella</i>		新萨托菌属 <i>Neosartorya</i>	
	种数	菌株数	种数	菌株数	种数	菌株数	种数	菌株数
	Number of species	Number of strains	Number of species	Number of strains	Number of species	Number of strains	Number of species	Number of strains
中国普通微生物菌种保藏管理中心 CGMCC	146	1 465	0	0	0	0	0	0
中国工业微生物菌种保藏管理中心 CICC	71	1 440	5	20	1	1	1	1
中国药学微生物菌种保藏管理中心 CPCC	31	612	2	2	2	15	2	36
中国农业微生物菌种保藏管理中心 ACCC	58	343	7	24	4	20	4	5
中国林业微生物菌种保藏管理中心 CFCC	28	226	1	3	1	1	0	0
海洋微生物菌种保藏管理中心 MCCC	24	201	1	1	0	0	1	1
中国典型培养物保藏中心 CCTCC	16	149	0	0	0	0	0	0
广东省微生物菌种保藏中心 GDMCC	8	20	0	0	0	0	0	0
中国兽医微生物菌种保藏管理中心 CVCC	2	2	0	0	0	0	0	0

关环境较多,一些来源历史久远,缺乏分子鉴定数据,还有部分以有性型名称收录(表4)。我们对收录于《曲霉志》中的以及其他保存于CGMCC(中国普通微生物菌种保藏管理中心)的原属裸胞壳属菌株进行了重新鉴定和定名^[52]。对保存于CGMCC的其他300余株曲霉系统整理,分析发现其中大部分来自于土壤,时间跨度大,从1952–2015年不等,多为上世纪50–60年代收集,保藏时间久远,主要以形态分类鉴定为主,沿用的分类系统古老,缺乏分子数据,分类鉴定命名问题较多。我们按照《墨尔本法规》1FIN规则,经过形态及分子生物学研究,对其进行重新鉴定复核,共鉴定出曲霉属51种,分布于4个亚属,11个组,包括中国新记录种20个;鉴定名称发生变化的菌株有279株,占总比例(317株)的88%;例如菌株CGMCC 3.03554原鉴定为*A. niger*(黑曲霉),通过我们的多相分类鉴定为*A. flavus*(黄曲霉),另有18个菌株排除出曲霉属^[53–54]。

曲霉属真菌既包括能够引起食品霉变、人类和动物疾病的有害菌,又包括代谢物丰富,能应用于生产生活的有益菌。曲霉菌种类的准确鉴定有利于有益菌的充分开发利用,更有利于有害菌的防治。但是我国传统的曲霉属鉴定和分类以形态和菌落培养特征为主,缺乏分子数据,有性无性名称缺乏关联,名称使用不规范,有性型名称仍然应用,不适应《墨尔本法规》新的分类命名体系,给霉菌的防治和疾病病原的精确诊断及对症治疗等带来很大影响。我们建议十分有必要积极参与国际前沿研究合作,以《墨尔本法规》为指导,参照国际模式标本菌株材料,采用国际标准多相分类方法,同时引入全基因组测序分析手段,重新鉴定、分类、修订、评估我国曲霉的分类与多样性及系统发育关系。为挖掘重要种类的基因组学数据信息,寻找新的及重要的曲霉物种及基因资源,探索曲霉菌引起的疾病的治疗切入点,开发霉菌代谢产物,研制新型防霉剂提供重要参考,为工农业生产、粮食食品环境安全、人们健康提供保障和支撑。

文章所有附表数据请到本刊网刊下载(<http://biotech.aijournal.com>)。

参考文献

- [1] Samson RA, Visagie CM, Houbraken J, et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus* [J]. *Stud Mycol*, 2014, 78 : 141-173.
- [2] Frisvad JC, Larsen TO. Chemodiversity in the genus *Aspergillus* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015, 99 (19) : 7859-7877.
- [3] 隋雨菲, 欧阳立明, 鲁洪中, 等. 黑曲霉组学研究进展 [J]. *生物工程学报*, 2016, 32 (8) : 1010-1025.
Sui YF, Ouyang LM, Lu HZ, et al. Progress in omics research of *Aspergillus niger* [J]. *Chin J Biotechnol*, 2016, 32 (8) : 1010-1025.
- [4] 张宏海, 汪洋, 张晓琳, 等. 一株产赭曲霉毒素A黑曲霉及其产毒条件 [J]. *菌物学报*, 2017, 36 (4) : 433-443.
Zhang HH, Wang Y, Zhang XL, et al. An ochratoxigenic strain of *Aspergillus niger* and its ochratoxin A production conditions [J]. *Mycosystema*, 2017, 36 (4) : 433-443.
- [5] 许楚旋, 王嘉琦, 蒋冬花. 1株产生洛伐他汀杂色曲霉的筛选、鉴定和发酵优化条件 [J]. *生物技术通报*, 2018, 34 (11) : 210-215.
Xu CX, Wang JQ, Jiang DH. Screening and identification of a lovastatin-producing strain of *Aspergillus versicolor* and preliminary optimization of fermentation conditions [J]. *Biotechnol Bull*, 2018, 34 (11) : 210-215.
- [6] Parent-Michaud M, Dufresne PJ, Fournier E, et al. Prevalence and mechanisms of azole resistance in clinical isolates of *Aspergillus* section *Fumigati* species in a Canadian tertiary care centre, 2000 to 2013 [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2020, 75 (4) : 849-858.
- [7] Schabo DC, Martins LM, Maciel JF, et al. Production of aflatoxin B1 and B2 by *Aspergillus flavus* in inoculated wheat using typical craft beer malting conditions [J]. *Food Microbiol*, 2020, 89 : 103456.
- [8] Yu Z, Hübner J, Herrero S, et al. On the role of the global regulator RlcA in red-light sensing in *Aspergillus nidulans* [J]. *Fungal Biol*, 2020, 124 (5) : 447-457.
- [9] Kirk PM, Norvel LL, 姚一建. 国际植物学墨尔本大会上命名法规的变化 [J]. *菌物研究*, 2011, 9 (3) : 125-128.
Kirk PM, Norvel LL, Yao YJ. Changes to the code of nomenclature in Melbourne [J]. *J Fungal Res*, 2011, 9 (3) : 125-128.
- [10] Norvell LL. Fungal nomenclature. 1. Melbourne approves a new Code [J]. *Mycotaxon*, 2011, 116 (1) : 481-490.

- [11] Benjamin CR. Ascocarps of *Aspergillus* and *Penicillium* [J] . Mycologia, 1955, 47 (5) : 669-687.
- [12] Thom C, Raper KB. A manual of the *Aspergilli* [M] . Baltimore : Williams & Wilkins, 1945.
- [13] Raper KB, Fennell DI. The genus *Aspergillus* [M] . Baltimore : Williams & Wilkins, 1965.
- [14] 齐祖同 . 中国真菌志 . 第五卷 . 曲霉属及其相关有性型 [M] . 北京 : 科学出版社, 1997.
Qi ZT. Flora Fungorum Sinicorum. Vol. 5 *Aspergillus* et Teleomorphi Cognati [M] . Beijing : Science Press, 1997.
- [15] Gams W, Christensen M, Onions AH, et al. Infrageneric taxa of *Aspergillus* [M] //Advances in *Penicillium* and *Aspergillus* Systematics. Boston, MA : Springer US, 1986 : 55-62.
- [16] Hawksworth DL, Kirk PM, et al. Dictionary of the Fungi [M] . 8th ed. Ireland : CAB International Wallingford, 1995.
- [17] Pitt JI, Samson RA, Frisvad JC. List of accepted species and their synonyms in the family *Trichocomaceae* [M] // Samson RA, Pitt JI. Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification. Amsterdam : Harwood Academic Publishers, 2000 : 9-79.
- [18] Peterson SW. Phylogenetic analysis of *Aspergillus* species using DNA sequences from four loci [J] . Mycologia, 2008, 100 (2) : 205-226.
- [19] Houbraken J, Samson RA. Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of *Trichocomaceae* into three families [J] . Stud Mycol, 2011, 70 (1) : 1-51.
- [20] McNeill J, Barrie FR, Buck WR, et al. International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants (Melbourne Code) [M] . Königstein : Koeltz Scientific Books, 2012.
- [21] Pitt JI, Taylor JW. *Aspergillus*, its sexual states and the new International Code of Nomenclature [J] . Mycologia, 2014, 106 (5) : 1051-1062.
- [22] Pitt JI, Taylor JW. Proposal to conserve the name *Aspergillus* (Fungi : Eurotiales : Trichocomaceae) with a conserved type to maintain also the name *Eurotium* [J] . Taxon, 2016, 65 (3) : 631-632.
- [23] Hubka V, Nováková A, Kolařík M, et al. Revision of *Aspergillus* section *Flavipedes* : seven new species and proposal of section *Jani* sect. nov [J] . Mycologia, 2015, 107 (1) : 169-208.
- [24] Jurjević Ž, Kubátová A, Kolařík M, et al. Taxonomy of *Aspergillus* section *Petersonii* sect. nov. encompassing indoor and soil-borne species with predominant tropical distribution [J] . Plant Syst Evol, 2015, 301 (10) : 2441-2462.
- [25] Kocsubé S, Perrone G, Magistà D, et al. *Aspergillus* is monophyletic : evidence from multiple gene phylogenies and extrolites profiles [J] . Stud Mycol, 2016, 85 : 199-213.
- [26] Chen AJ, Varga J, Frisvad JC, et al. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Cervini* [J] . Stud Mycol, 2016, 85 : 65-89.
- [27] Chen AJ, Frisvad JC, Sun BD, et al. *Aspergillus* section *Nidulantes* (formerly *Emericella*) : polyphasic taxonomy, chemistry and biology [J] . Stud Mycol, 2016, 84 : 1-118.
- [28] Sklenář F, Jurjević Ž, Zalar P, et al. Phylogeny of xerophilic aspergilli (subgenus *Aspergillus*) and taxonomic revision of section *Restricti* [J] . Stud Mycol, 2017, 88 : 161-236.
- [29] Tanney JB, et al. *Aspergillus* subgenus *Polypaecilum* from the built environment [J] . Stud Mycol, 2017, 88 : 237-267.
- [30] Tsang CC, Tang JYM, et al. Taxonomy and evolution of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* in the omics era-Past, present and future [J] . Comput Struct Biotechnol J, 2018, 16 : 197-210.
- [31] Vesth TC, Nybo JL, Theobald S, et al. Investigation of inter-and intraspecies variation through genome sequencing of *Aspergillus* section *Nigri* [J] . Nat Genet, 2018, 50 (12) : 1688-1695.
- [32] Frisvad JC, Hubka V, Ezekiel CN, et al. Taxonomy of *Aspergillus* section *Flavi* and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins [J] . Stud Mycol, 2019, 93 : 1-63.
- [33] Rodriguez R, Santos C, Simões MF, et al. Polyphasic, including MALDI-TOF MS, evaluation of freeze-drying long-term preservation on *Aspergillus* (section *Nigri*) strains [J] . Microorganisms, 2019, 7 (9) : 291.
- [34] Houbraken J, Kocsubé S, Visagie CM, et al. Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (*Eurotiales*) : an overview of families, genera, subgenera, sections, series and species [J] . Stud Mycol, 2020, 95 : 5-169.
- [35] Moore GG, Mack BM, Beltz SB, et al. Genome sequence of an aflatoxigenic pathogen of Argentinian peanut, *Aspergillus arachidicola* [J] . BMC Genomics, 2018, 19 (1) : 189.
- [36] McCarthy CGP, Fitzpatrick DA. Pan-genome analyses of model fungal species [J] . Microb Genom, 2019, 5 (2) : e000243.
- [37] Steenwyk JL, Mead ME, de Castro PA, et al. Genomic and phenotypic analysis of COVID-19-associated pulmonary

- aspergillosis isolates of *Aspergillus fumigatus* [J]. *Microbiol Spectr*, 2021, 9 (1): e0001021.
- [38] Bartoletti M, et al. Epidemiology of invasive pulmonary aspergillosis among intubated patients with COVID-19: a prospective study [J]. *Clin Infect Dis*, 2021, 73 (11): e3606-e3614.
- [39] Ghelfenstein-Ferreira T, Saade A, Alanio A, et al. Recovery of a triazole-resistant *Aspergillus fumigatus* in respiratory specimen of COVID-19 patient in ICU-A case report [J]. *Med Mycol Case Rep*, 2021, 31: 15-18.
- [40] Ahangarkani F, Puts Y, Nabili M, et al. First azole-resistant *Aspergillus fumigatus* isolates with the environmental TR₄₆/Y121F/T289A mutation in Iran [J]. *Mycoses*, 2020, 63 (5): 430-436.
- [41] Arastehfar A, Lass-Flörl C, Garcia-Rubio R, et al. The quiet and underappreciated rise of drug-resistant invasive fungal pathogens [J]. *JoF*, 2020, 6 (3): 138.
- [42] Arastehfar A, et al. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis: from basics to clinics [J]. *Stud Mycol*, 2021, 100: 100115.
- [43] Kjærhølling I, Vesth T, Frisvad JC, et al. A comparative genomics study of 23 *Aspergillus* species from section *Flavi* [J]. *Nat Commun*, 2020, 11 (1): 1106.
- [44] 李冬梅, 王端礼, 李若瑜, 等. 我国北方地区裸胞壳属 (*Emericella*) 的种 [J]. *菌物系统*, 1998, 17 (2): 130-136.
- Li DM, Wang DL, Li RY, et al. *Emericella* spp soils of North China [J]. *Mycosystema*, 1998, 17 (2): 130-136.
- [45] Wang L. Four new records of *Aspergillus* sect. *Usti* from Shandong Province, China [J]. *Mycotaxon*, 2012, 120 (1): 373-384.
- [46] Wang L. *Aspergillus keveioides*, a new species of *Aspergillus* sect. *Usti* from Shandong Province, China [J]. *Mycosystema*, 2013, 32 (S1): 136-144.
- [47] Zhang LC, Chen J, Lin WH, et al. A new species of *Emericella* from Tibet, China [J]. *Mycotaxon*, 2013, 125 (1): 131-138.
- [48] Yu Y, Zhang YH, Wang L. *Aspergillus germanicus*, a new Chinese record of *Aspergillus* section *Usti* [J]. *Microbiol China*, 2015, 42 (4): 674-682.
- [49] Chen AJ, Hubka V, Frisvad JC, et al. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Aspergillus* (formerly *Eurotium*), and its occurrence in indoor environments and food [J]. *Stud Mycol*, 2017, 88: 37-135.
- [50] 李世瑞, 蒋立文, 等. 一株冠突散囊菌的鉴定、培养差异性 & 蛋白质全谱分析 [J]. *中国酿造*, 2018, 37 (4): 98-102.
- Li SR, Jiang LW, et al. Identification, culture differences and protein full spectrum analysis of *Eurotium cristatum* [J]. *China Brew*, 2018, 37 (4): 98-102
- [51] 王昕, 等. 茯砖茶中冠突散囊菌的分离鉴定及其在液态发酵中的应用 [J]. *食品科学*, 2019, 40 (14): 172-178.
- Wang X, et al. Isolation and identification of *Eurotium cristatum* from fuzhuan tea and its application in liquid-state fermentation [J]. *Food Sci*, 2019, 40 (14): 172-178.
- [52] 孙炳达, 丁刚, 张雨森, 等. 曲霉属巢状亚属真菌研究现状及部分鉴定实例 [J]. *菌物学报*, 2017, 36 (9): 1192-1209.
- Sun BD, Ding G, Zhang YS, et al. Current taxonomy of *Aspergillus* subgenus *Nidulantes* and re-identification of several strains [J]. *Mycosystema*, 2017, 36 (9): 1192-1209.
- [53] Zhang YS, Ding G, Sun BD, et al. Phylogeny of *Aspergillus* section *Terrei* with two new records from the China General Microbiological Culture Collection Centre [J]. *Phytotaxa*, 2018, 382 (3): 275-287.
- [54] 张雨森. 中国曲霉属土色组和巢状组的分类及新疆特殊生境下曲霉属的相关种类 [D]. 北京: 北京林业大学, 2019.
- Zhang YS. Taxonomy of *Aspergillus* section *Terrei* and *Aspergillus* section *Nidulantes* from China and related species of *Aspergillus* from special habitats in Xinjiang [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2019.

(责任编辑 李楠)