四种嗜热真菌的分离与鉴定*

蔡杰华[1,2] 刘 斌[1] 石冬梅[2] 彭万强[3] 赖钧灼[1]

(1 广西大学 生命科学与技术学院 广西 南宁 530005；2 安徽省蚌埠市固镇一中 安徽 蚌埠 233700；
3 安徽省蚌埠市固镇县中医院 安徽 蚌埠 233700)

摘要 目的：在对嗜热真菌的资源调查中，分离到嗜热真菌 20 株。**方法：**通过形态学比较研究并结合分子分析方法。**结果：**鉴定出嗜热真菌 4 种，即杜邦青霉 Penicillium dupontii、疏绵状嗜热丝孢菌 Thermomyces lanuginosus、嗜热子囊菌 Thermoascus aurantiacus、嗜热革节孢 Scytalidium thermophilum。此外，还分离到耐热真菌 1 种，鉴定为不规则头梗霉 Cephaliophora irregularis，为中国新记录种。**结论：**这些研究结果新增了嗜热真菌在中国的分布记载，丰富了我国西南地区嗜热真菌的菌种资源库，另外对分离获得的嗜热真菌进行木聚糖酶活性测试，发现嗜热子囊菌为高产木聚糖酶活力的菌株。

关键词：嗜热真菌；分类；形态特征；分子鉴定

中图分类号：Q949.32 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2012)06-1059-06

Isolation and Identification of Four Species of Thermorphilic Fungi*

CAI Jie-hua[1,2], LIU Bin[1], SHI Dong-mei[2], PENG Wan-qiang[3], LAI Jun-zhuo[1]

(1 College of Life Science and Technology, Guang University, Nanning 530005, China；2 The first middle school of guzhen, BengBu, An Hui, 233700, China；3 The Hospital of Traditional Chinese Medicine of guzhen, BengBu, An Hui, 233700, China)

ABSTRACT Objective: To investigate and identify the species of thermophilic fungi according to morphology characteristic and identification. Methods：The illustrated description of species was supplied. Results：Four species of thermorphilic fungi were identified, among of them, including Penicillium dupontii, Thermomyces lanuginosus, Thermoascus aurantiacus and Scytalidium thermophilum. One thermotolarent fungus was also isolated and identified, that is Cephaliophora irregularis, which become new record for the first time in China. Conclusion: Among of the obtained strains, Thermoascus aurantiacus Gxu03 was the best strain producing the highest xylanase activity.

Key words: Thermophilic fungi; Taxonomy; Morphology characteristic; Identification

Chinese Library Classification(CLC): Q949.32 Document code: A

Article ID:1673-6273(2012)06-1059-06

前言

嗜热真菌(Thermophilic fungi)是自然界中一类能够在极端高温条件下生存的特殊真菌类群，其最低生长温度为 20 ℃或 20 ℃以上，最高生长温度为 50 ℃或 50 ℃以上。嗜热真菌在高温条件下具有独特的生存适应能力，并可产生嗜热木聚糖酶等特殊的代谢产物，因此它已经成为研究热稳定酶和生物进化的重要微生物来源。木聚糖酶广泛应用于食品、饲料、化工、制药等领域。目前木聚糖酶的生产菌种主要是中温菌，由于中温菌具有产酶慢，酶系比活力不高且耐热性能不强等缺点，限制了木聚糖酶的应用。嗜热真菌能够分泌耐热胞外木聚糖酶，而且酶活力强，具有更广阔的应用前景。本研究对中国西南地区的嗜热真菌进行调查、分离和鉴定，收集菌种资源并从中筛选出木聚糖酶高产菌株。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2007 年 5 月～2008 年 4 月，先后几次到南宁市及其周边地区采集样品，采集物主要包括高温堆肥、木薯淀粉渣、木屑堆、朽木条、腐烂稻草、树叶、土壤等样品。采集方法主要根据采集物而定，堆肥样品自堆肥中心取样，最好是当堆肥中心温度达到 50 ℃以上时采集；土样采集时，先用洁净工具刮去土壤表层覆盖物，取离表层土壤深 0-10 cm 的土壤，同一采集点多处取样后再将其均匀混合，装入具有封口膜的塑料袋中，每份土样采集量为 20-50 克，并用记号笔在塑料袋上标明编号、土表植物、地点、采集时间。

1.2 培养基

马铃薯葡萄糖琼脂培养基（PDA）：马铃薯 200g，葡萄糖 20 g，琼脂 16 g，水 1000 ml，pH 自然。

酵母 - 胰蛋白胨 - 葡萄糖琼脂培养基培养基（YG）：酵母膏 3g，胰蛋白胨 5g，葡萄糖 5g，琼脂 20g，水 1000 ml，pH 自然。

孟加拉红培养基（RBA）：蛋白胨 5.0 g，葡萄糖 10.0 g，KH_2PO_4 1.0g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g，琼脂 20 g，孟加拉红 0.03 g，蒸馏水 1000 ml，pH 7.0。

1.3 主要仪器设备

生化培养箱，上海跃进医疗器械厂；电热恒温培养箱，上

* 基金项目：国家自然科学基金项目(30860006)；广西大学科研基金项目(X081002)。

作者简介：蔡杰华(1982)，女，研究生，主要研究方向：资源与环境微生物

Tel：13955205571 E-mail：caijiehua2008@163.com

(收稿日期：2011-08-30 接受日期：2011-09-23)

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

海跃进医疗器械厂；往复式恒温摇床，上海智城分析仪器制造有限公司；超净工作台，苏州净化设备厂；PCR 仪，Thovmo Electron Corporation；电泳仪，北京六一仪器厂；酶标仪，奥地利 TECAN 公司；冷冻离心机，中科院武汉科学仪器厂；显微镜，OLYMPUS OPTICAL CO.；灭菌锅，上海博迅实业有限公司；酸度计，上海雷磁仪器厂；超低温冰箱，美国 FORMA 公司；分析天平，德国赛多利斯。

1.4 主要试剂

链霉素；聚乙烯吡咯烷酮(PVP)；石英砂；Tris 饱和酚；氯仿：异戊醇 (25∶24∶1)；氯仿：异戊醇(24∶1)；75%乙醇；EB 溴化乙锭 (10 mg/ml)；6 × Loading Buffer；DNA Marker；琼脂糖。CTAB 提取 Buffer：20 mM EDTA，2%(V/W) CTAB，100 mM Tris，pH 8.5，1.4 M NaCl；5 × TBE 电泳缓冲液：54 g Tris，20 ml 0.5 mol/l EDTA(pH 8.0)，27.5 g 硼酸，加双蒸水定容至 1000 ml。使用时将上述缓冲液稀释 10 倍，使用浓度 0.5 × TBE；TE 缓冲液 (pH8.0) (10mM Tris HCl；1M EDTA)

1.5 菌种分离

将样品用无菌水稀释至 10^{-1}-10^{-3} 稀释度，吸取 0.1ml 涂布于含有链霉素 30 μg/ml 的无菌各分离培养基平板上，用 Parafilm 封口膜封口后置于 50 ℃恒温培养箱中培养 3-10 d，在培养过程中随时观察，待平板上长出菌落，移接到新的培养基上，50 ℃下继续培养，直到分离获得纯培养。也可直接把样品撒在含有链霉素 30 μg/ml 的各分离培养基平板上，50 ℃下培养，形成菌落后采用相同方法分离。

将纯化后的菌种移接到新的 PDA 培养基上并置于 19 ℃下培养 3-10 天，不生长者则可判断为嗜热真菌，生长者为耐热真菌。

1.6 形态学鉴定

对分离获得的菌株，接种于 PDA 培养基平板上，分别置于 30、40 和 50 ℃下培养，观察菌落培养特征，并按 liu et al.[1]方法进行玻片培养。具体为：先用灭菌的打孔器在菌落边缘切取直径为 1 cm 的菌种块，然后用灭菌的解剖刀将切取的菌种块置于无菌的载玻片上，菌丝面既可朝上也可朝下，最后盖上无菌盖玻片并将其置于无菌的 50 ml 塑料离心管内培养，使其离心管的直径正好等于载玻片的宽度，将其牢牢卡住。将其放入 50℃下进行培养 4～7 d，为了防止菌种块失水过快，可在离心管中放置无菌吸水棉球。待菌丝长好后，取另一洁净的载玻片，滴加一滴无菌水，取下已长好菌丝体的盖玻片盖上，即可在显微镜下对菌丝、分生孢子梗、分生孢子等形态特征进行观察、拍照和测量，并查阅相关资料进行鉴定。如果要制成永久玻片，可以乳酚油或乳酸酚棉兰染色剂作为浮载剂。

1.7 分子生物学鉴定

1.7.1 菌株来源 本研究分离鉴定的 4 株嗜热真菌。

1.7.2 菌体培养 菌体培养方法参见 Liu et al.等方法。培养时先铺一层无菌的玻璃纸 (直径 5cm) 在 PDA 平板上，然后在玻璃纸上移接直径为 1 cm 的菌丝块，根据不同菌株的生长速度培养，待玻璃纸上长满菌丝后再用灭菌的解剖刀将菌丝体刮下，置于 1.5 ml 离心管内用于提取 DNA 或冻存留待提取 DNA 用。

1.7.3 DNA 提取 参照 Doyle & Doyle[2]方法并经修改后的步骤对 DNA 进行提取。具体步骤：取刮下的新鲜菌丝体 10-50 mg 置于 1.5 ml 离心管中，加入灭菌的石英砂和 0.01 g PVP，先加入 100 μl 65 的 CTAB 缓冲溶液，用灭菌的磨砂玻璃棒研磨成匀浆，再加入 500 μl 相同 CTAB 缓冲溶液，数次颠倒使之均匀混合，置于 65 ℃水浴保温 0.5-1 h；待冷却后加入等体积 600 μl 饱和酚：氯仿：异戊醇 (25∶24∶1) 抽提；离心 12000 rpm，10 min，再取上清液移转入另一离心管中，重复抽提一次；离心 12000 rpm，10 min，取上清液加入等体积异丙醇，混合均匀，室温放置 10-20 min；离心 (12000 rpm，15 min)，去上清液；取 75%乙醇 100 μl 洗涤两次，再倒去 75%乙醇，风干后加入 100 μl TE 缓冲液；产物与 6 × Loading Buffer 混合，用 0.8%的琼脂糖凝胶进行电泳检测，于 -20 ℃保存备用。

1.7.4 PCR 扩增 1) 引物合成：扩增和测序所用的引物 ITS1，ITS4 由北京诺赛生物技术公司合成。

ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'

ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'

2) 扩增反应体系：为 40 μl 体系，依次加入下列试剂：dd H_2O (30.4 μl)，Buffer (10×) (4 μl)，ITS1(10 pmol/μl) (1.2 μl)，ITS2 (10 pmol/μl) (1.2 μl)，dNTP (2.5 mM) (2 μl)，*Taq* 酶 (5 U/μl) (0.4 μl)，模板 DNA (0.8 μl)。

3) 扩增条件：94℃ 4 min 后，进入以下连续 30 个循环：55 ℃ 30 s，72 ℃ 1.5 min，94 ℃ 40 s，72 ℃ 2 min，最后一个循环 72 ℃延伸 10 min。

4) PCR 产物纯化：用 1%的琼脂糖凝胶检测扩增产物，产物表现为单一条带且浓度足够者，再进一步纯化，采用北京诺赛公司 Go3S 柱式 PCR 产物纯化试剂盒，按说明书的要求进行操作。

1.7.5 序列测定及序列分析 将纯化的 PCR 产物直接送北京诺赛生物技术公司，用美国 PE 公司生产的 377 或 3730 型 DNA 测序仪进行序列测定。先用引物 ITS1 正向测定，对正向无法测通的片段再用反向引物再测，反向序列经 BioEdit 软件反向互补后与正向序列进行连接形成完整序列，并与 GenBank 中的相关序列进行比对和分析比较。

2 结果

2.1 形态学鉴定结果

通过对筛选的菌株进行形态学鉴定，共获得了 4 种嗜热真菌和 1 种耐热真菌，分别编号为：Gxu01～Gxu05。

2.1.1 Gxu01：杜邦青霉 (*Penicillium dupontii* Griffon[17]& Maublanc，Bulletin Trimestriel Soc. Mycol. France 27: 73, 1911)

在 PDA 培养基上 30 ℃下培养，菌落无生长现象，40 ℃生长缓慢。50 ℃菌落生长较快，菌落初期呈白色毡状，后期变为青灰色；菌丝无色，壁光滑，具分隔，分隔处偶有膨大现象，直径 2～3 μm；分生孢子梗一般垂直单生于菌丝上，较短，无隔，8～14× 2～3.5 μm，帚状枝，一般有 1～6 个瓶梗组成，偶见单生。瓶梗大小为 6～11× 1～2.5 μm；分生孢子椭圆形，链生，初无色，渐转为淡黄色，2～4× 2～3 μm。

研究菌株：Gxu01，通过形态学鉴定属于杜邦青霉 (*Penicillium dupontii* Griffon & Maublanc，Bulletin Trimestriel Soc. Mycol. France 27: 73, 1911) 该菌株 2008 年 7 月分离自高温堆肥，广西南宁市。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

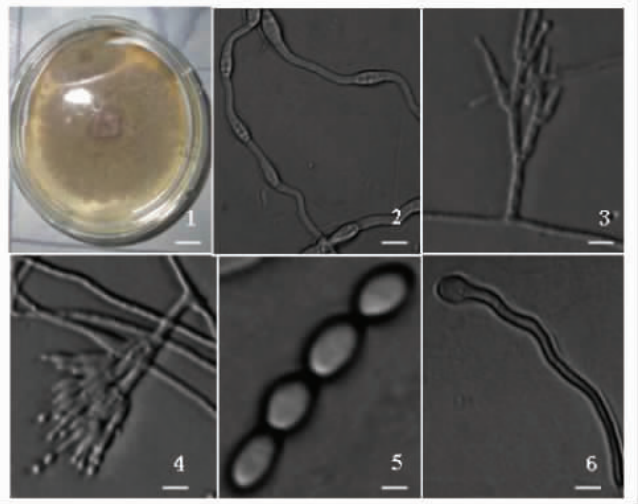

图 1 杜邦青霉：1 菌落；2 菌丝；3～4. 分生孢子梗；5. 链状分生孢子；6. 萌发的分生孢子；标尺 10 μm

Fig.1 *Penicillium dupontii*: 1.Colonial; 2. Hyphae; 3-43.Conidiophores; 5. Conidia; 6. Germinating conidia; Bars: 10 μm

讨论：该菌是一个世界广泛分布的嗜热真菌，主要存于堆肥、动物粪便、枯枝落叶等，法国、以色列、南非、印度、日本、美国等国家已有报道。王冬梅和李多川从我国云南的昆明和大理分离到该菌。1965 年 Stolk 首次发现并描述该菌的有性型，即 *Talaromyces thermophilus* Stolk [3-4]。该菌的的有性阶段不常发生，Griffon & Maublanc 早在 1911 年就描述了无性型，在无性型被发现半个世纪后其有性型才被发现。我们在培养该菌时也未能观察其有性型。因此，该菌的鉴定主要根据无性阶段的形态的特征。

2.1.2 **Gxu02 疏棉状嗜热丝孢菌** (*Thermomyces lanuginosus* Tsiklinskaya[13-15], Ann. Inst. Pasteur, Paris. 113: 500-505, 1899)

图 2 在 PDA 培养基上菌落生长迅速，2 天直径可达 5 cm。菌落初期呈白色，逐步绿灰、黑色；菌丝纤细，无色，分隔，直径 1.5～4 μm，菌丝体为疏棉状；产孢细胞为膨大的柄细胞，无色，不分枝，长 8～15 μm，中间粗，两端渐细，基部宽 1～2.0 μm，顶部宽 2～3.5 μm，垂直侧生，具隔膜，隔膜处常缢缩；分生孢子单生于分生孢子梗顶端，球形，壁厚，幼时无色，表面光滑，不具隔膜，成熟后表面出现刺状突起，黑棕色，直径 8～10 μm，成熟后的分生孢子极易脱落，脱落时常带有一段很短的小柄。

研究菌株：Gxu02，通过形态学鉴定属于疏棉状嗜热丝孢菌 (*Thermomyces lanuginosus* Tsiklinskaya, Ann. Inst. Pasteur, Paris. 113: 500-505, 1899)，该菌株 2008 年 6 月分离自高温堆肥，广西南宁市。

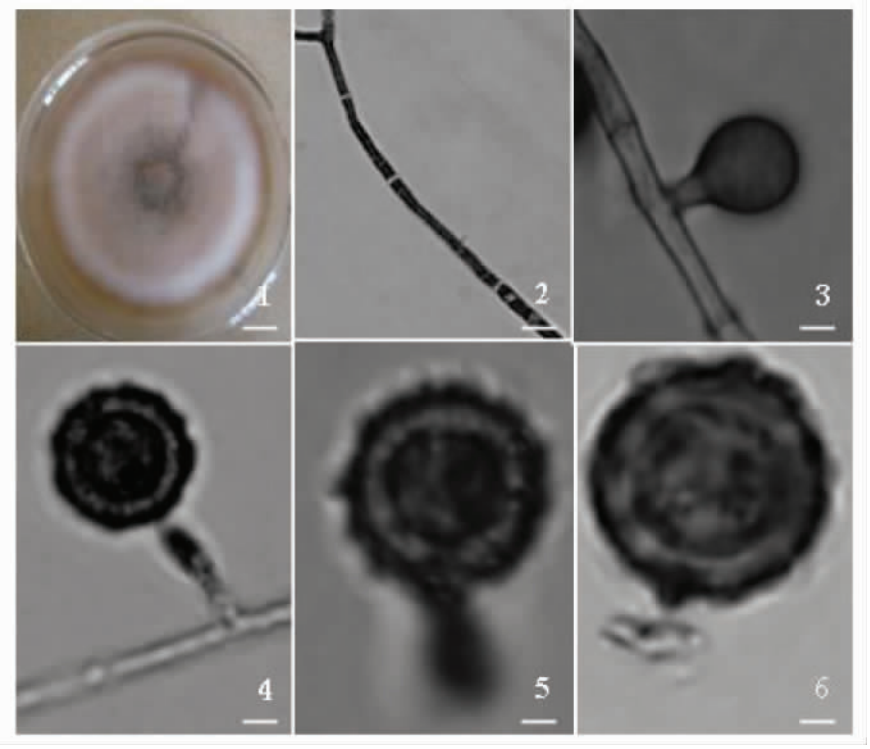

图 2 疏绵状嗜热丝孢菌：1 菌落；2 菌丝；3～4. 分生孢子梗；5～6. 分生孢子；标尺 10?m

Fig.2 *Thermomyces lanuginosus*: 1.Colonial; 2. hyphae; 3～4. Conidiophores; 5～6. Conidia; Bars: 10?m

讨论：疏棉状嗜热丝孢菌最早由 Tsiklinskaya 于 1899 年描述，是一个分布极为广泛的嗜热真菌。由于早期文献交流的缺乏，造成该种多次被重复描述，先后有 *Humicola lanuginosa* Griffon & Maublanc [12-13]、*Sepedonium lanuginosum* (Miehe[16]) Griffon & Maublanc、*Monotospora lanuginosa* (Griffon and Maublanc) Mason 等多个同种异名。

2.1.3 Gxu03：嗜热子囊菌 (*Thermoascus aurantiacus* Miehe Die Selbsterhitzung des Heues, 1907, 70)

在 PDA 培养基上 50 ℃下培养，菌落生长迅速，2-3 d 菌落直径达 9 cm，而 30 ℃下则不生长；培养初期菌丝白色，呈稀疏网状，3 d 后，菌落表面有白色颗粒状出现，渐转为金黄色至锈棕色，5～6 d 左右产生黄色或者棕色的水珠状的分泌物；菌丝无色，光滑，具分枝和隔膜，直径 2～11 μm；分生孢子位于菌丝的末端，厚壁，光滑，瘤状，长

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

14.0～24.0 μm,宽 6.0～16.0 μm;闭囊壳单生或簇生,球形或不规则状,黄棕色,直径为 365～900 μm,外壁由多层拟薄壁细胞组成;子囊簇生于子囊盘中,卵圆形至球形、壁薄、易消解;子囊孢子卵圆形至椭圆形、壁光滑,4.0～5.0× 4.0～7.0 μm。

研究菌株:Gxu03,通过形态学鉴定属于嗜热子囊菌(*Thermoascus aurantiacus* Miehe Die Selbsterhitzung des Heues, 1907, 70),该菌株 2008 年 9 月分离自高温堆肥和土壤,广西南宁市。

讨论:该菌由 Miehe 于 1907 年从自发热的草堆中分离并描述,Sopp 以 *Dactylomyces thermophilus* 为模式建立的新属 *Dactylomyces* 被处理为 *Thermoascus* 的异名,由于 Cooney[11] & Emerson 在描述 *T. aurantiacus* 时依据的菌株实为 *Dactylomyces crustaceus*,后来者根据 Cooney & Emerson 对该种的概念对他们的菌株所进行的鉴定无疑是错误的,因此目前文献资料中仍为不少被鉴定为 *T. aurantiacus* 的真菌可能并不是该菌而是 *T. crustaceus*。*T. aurantiacus* 与 *T. crustaceus* 的区别在于其子囊孢子壁光滑,具一明显的芽孔,而后者子囊孢子壁具有细微的小刺,并产生拟青霉属(*Paecilomyces*)无性型。我们的菌形态上与 *T. aurantiacus* 较符合,因此鉴定为该菌。

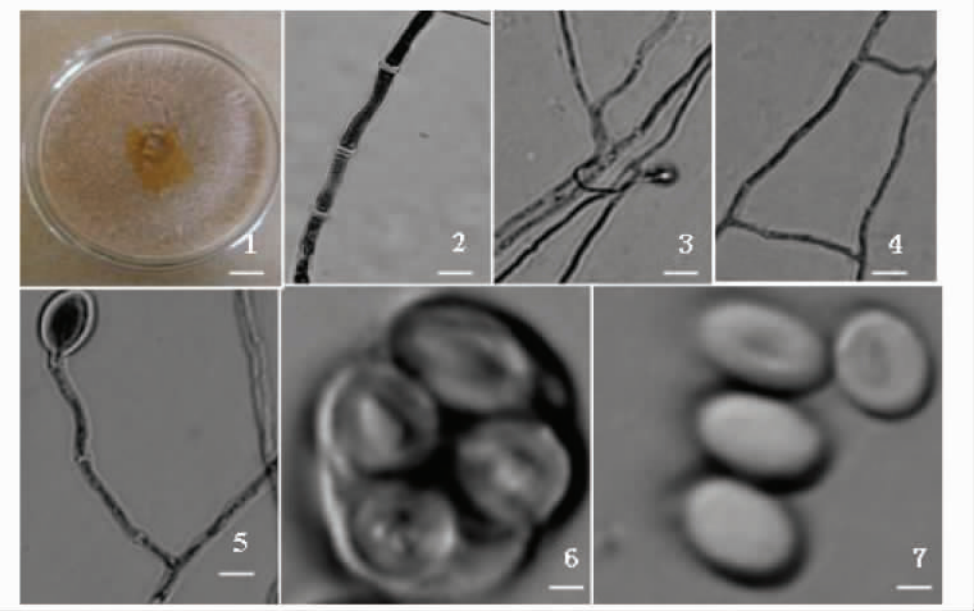

图 3 嗜热子囊菌:1. 菌落;2～4. 菌丝;5. 分生孢子梗;6. 子囊;7.子囊孢子;标尺 10 μm

Fig. 3 Thermoascus aurantiacus:2～4. hyphae, 5. Conidiophores, 6. Asci with ascospores, 7. Ascospores, Bars: 10 μm

2.1.4 Gxu04:嗜热革节孢(*Scytalidium thermophilum* (Cooney & Emerson) Austwick, Straatsma & Samson, Mycological Research, 97: 321-328, 1993) 在 PDA 培养基上 50 ℃下培养,菌落匍匐生长,生长速度较迅速,初白色絮状,后中央灰黑边缘黑色,呈轮状生长;菌丝细长,无色,光滑,具分隔与分枝,直径为 2～3.5 μm;菌丝直接膨大为分生孢子,分生孢子呈单个、成对或者短链状排列,多顶生或间生,一般长椭圆形、葫芦形,较少为圆形、短棒形,10～20 μm× 8～12 μm,初无色,后为灰黑色。

研究菌株:Gxu04,通过形态学鉴定属于嗜热革节孢(*Scytalidium thermophilum* (Cooney & Emerson) Austwick, Straatsma & Samson, Mycological Research, 97: 321-328, 1993[5]),该菌株 2008 年 9 月分别分离自高温堆肥和土壤,广西南宁市。

讨论:该菌原由 Cooney & Emerson 描述并命名为 Torula thermophila,中文名为嗜热色串孢,1976 年 Austwick 把其处理为现名。Straatsma & Samson 也认为 Torula thermophila 模式的正确名称为 *Scytalidium thermophilum*,但该种在宏观及微观特征上的变化都比较大,是一个明显的复合种。

2.1.5 Gxu05:不规则头梗霉(*Cephaliophora irregularis* Thaxter [6-9], Bot. Gaz. 35: 158, 1903) 在 PDA 培养基上,30 ℃下培养 3 d,菌落直径可达 9 cm。菌落初为白色,后淡褐色,背面观深褐色。菌丝透明,光滑,分枝,分隔,直径为 2.5～7.0 μm。分生孢子梗直立,分隔,不分枝,长 20～135 μm,基部宽 5～8 μm,顶端细胞膨大,近球形或棒状,最宽处直径为 13～35 μm,最顶端细

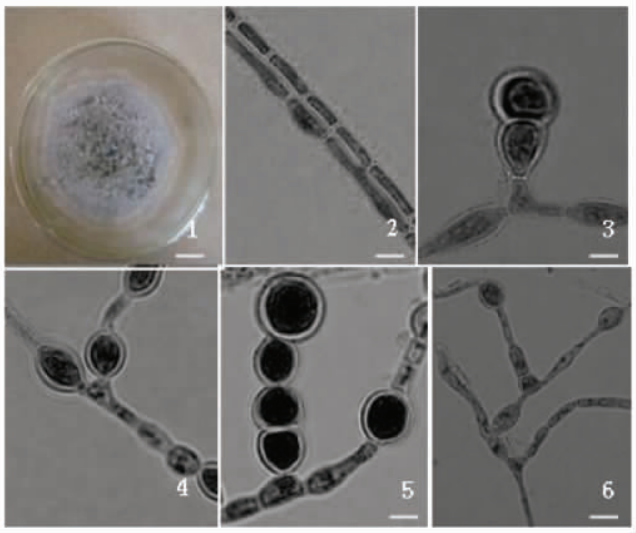

图 4 嗜热革节孢:1.菌落;2. 菌丝;3～6.间生及顶生孢子(单生、双生和链生) 标尺.10 μm

Fig. 4 Scytalidium thermophilum:1.Colonial;2. hyphae;3～6. Intercalary and terminal spores. bars:10 μm

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

胞(产孢细胞)表面着生多个分生孢子。分生孢子梨形、卵形、棒形或其他不规则形状,顶部钝圆,基部渐细,光滑,起初无色,后淡褐色,通常有 1-2 个分隔,分隔处靠近基部,大小为 20.0～35.0 μm× 11.5～17.5 μm。个别分生孢子也可直接着生于菌丝上。

研究菌株:Gxu05,通过形态学鉴定属于不规则头梗霉(*Cephaliophora irregularis* Thaxter, Bot. Gaz. 35: 158, 1903),为中国新记录种。该菌株的生长基物为广西南宁市室外堆放的木薯渣堆肥。干制培养物和菌种保存在广西大学应用微生物研究所。

讨论:不规则头梗霉可生长在动物粪便、朽木和土壤等不同的基物上,与该属其他成员的主要区别在于其分生孢子的特殊形状及其仅有的 1-2 个隔膜。Tubaki 发现 *C. irregularis* 可通过菌丝缠绕捕食线虫;Tzean 等在报道 *C. navicularis*[20]时,证实该菌可通过粘性附枝捕食蛭形轮虫;Barron [10-12] 等也发现 *C. musicola* 和 *C. longispora* 可捕食轮虫和小型节肢动物。这些研究表明该属可能是一类具有捕食线虫、轮虫等小型动物功能的真菌。我们通过在 C. irregularis 菌丝培养物中添加腐生线虫 Panagrellus redivivus 进行杀线作用测试,并未发现该菌株具有捕食线虫的作用。Tubaki 在其论文中没有指明线虫的种类,因此我们的菌株对腐生线虫没有作用,是由于线虫种类不同,还是菌株之间有差异,无从进行比较,*C. irregularis* 的捕食功能有待进一步证实。

2.2 分子生物学鉴定结果

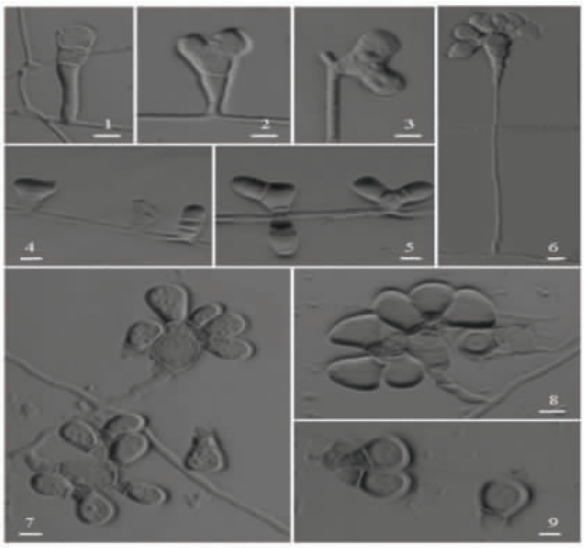

图 5 不规则头梗霉:1~2. 分生孢子梗;3~5. 不同分生孢子直接产于菌丝上;6~8. 分生孢子梗及其成熟的分生孢子;9.分生孢子;标尺 10 μm

Fig. 5 Cephaliophora irregularis:1~2. Conidiophores;3~5. Different conidia arising directly from hyphae;6~8. Conidiophores with mature conidia;9. conidia;Bars: 10 μm

在形态学鉴定基础上,对 4 个嗜热真菌物种的代表性菌株进行 ITS1-5.8S-ITS4 区段的序列测定,将测得的序列于 NCBI 数据库中的进行比对,选择相关序列,用 MEGA4.1 软件采用最小距离法绘制系统进化树,结果见图 6。

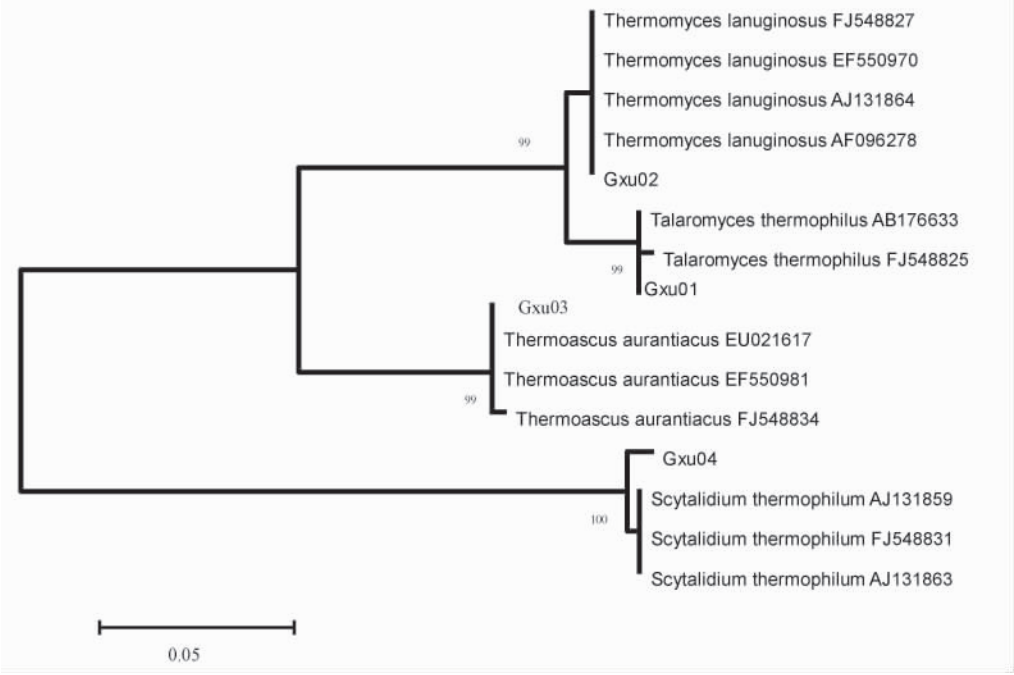

图 6 基于 ITS 序列采用距离法分析构建的 N-J 树

Fig. 6 The N-J tree based on ITS sequence distance analysis

3 讨论

在系统发育树中,菌株 Gxu01 与供试的 2 个嗜热篮状菌(*Ta. thermophilus*)的菌株聚在一起形成一个分枝,其自展支持率为 99%,表明 Gxu01 与嗜热篮状菌亲缘关系很近,由于我们未观察到其有性型,故鉴定为该菌的无性型杜邦青霉。Gxu02 的则与疏绵状嗜热丝孢菌(*Thermomyces lanuginosus*)4 个菌株序列聚集在一起,自展支持率为 96%,结合形态学观察,把 Gxu02 鉴定为疏绵状嗜热丝孢菌。Gxu03 的与(*Thermoascus aurantiacus*)3 个菌株序列聚集在一起,自展支持率为 99%,结合

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

形态学观察，把 Gxu03 鉴定为嗜热子囊菌。Gxu04 与嗜热革节孢（*Scytalidium thermophilum*）的 3 个菌株相聚一起，自展支持率为 100%，尽管其序列与其它菌株有一定的差异性，可视为种内差异，因此把 Gxu04 鉴定为嗜热革节孢。从系统树还可看出，4 个嗜热真菌中，杜邦青霉与疏绵状嗜热丝孢菌亲缘关系最近，其次是嗜热子囊菌，最远的是嗜热革节孢。

参 考 文 献(References)

[1] Liu B, Liu XZ, Zhuang WY. A new species of Hyalorbilia and its anamorph from China[M]. Nova Hedwigia, 2005, 81: 145-156

[2] Doyle JJ, Doyle JL. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytochem Bull, 1987, 19: 11-15

[3] Stolk，A C. Thermophilic species of Talaromyces Benjamin and Thermoascus Miehe[J].Antonie van Leeuwenhoek,1965, 31: 262-276

[4] Austwick P K C. Environmental aspects of Mortierella wolfii infection in cattle[J]. New Zealand Journal of Agricultural Research, 1976, 19: 25-33

[5] Straatsma G, Samson, RA. Taxonomy of Scytalidium thermophilum, an important thermophilic fungus in mushroom compost [J]. Mycological Research, 1993, 97: 321-328

[6] Thaxter，R. New or peculiar North American Hyphomycetes. III [J]. Botanical Gazette，1903，35: 153-159

[7] Tubaki, K.Cephaliophora irregularis newly found in Japan [J]. the Journal of Japanese Botony, 1956, 31: 161-164

[8] Subramanian, C.V. Fungi imperfecti from Madras-IV. Proceedings of the Indian Academy of Sciences[J]. Section B, 1953, 37: 96-105

[9] Tzean，S.S., Barron, G.L. A new predatory hyphomycete capturing bdelloid rotifers in soil [J]. Canadian Journal of Botany, 1982, 60(7): 1212-1215

[10] Barron, G.L., Morikawa, C., Saikawa, M. New Cephaliophora species capturing rotifers and tardigrades [J]. Canadian Journal of Botany, 1990, 68: 685-690

[11] Cooney, D G., Emerson, R. Thermophilic Fungi. An account of their biology, activities and classification [J]. W H Freeman & Co, San Francisco, 1964, 27-42

[12] Mouchacca, J. Thermophilic fungi: Biodiversity and Taxonomic Status[J]. Crypt Mycol, 1997, 18: 19-69

[13] Maheshwari, R., Bharadwaj, G., Bhat, M K. Thermophilic fungi: their physiology and enzymes [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2000, 64: 461-488

[14] Lindt, W. Mitteilungen ü ber einige neue pathogene schimmelpilze [J]. Arch Exp Path Pharmakol, 1886, 21: 269-298

[15] Tsiklinskaya, P. Surles mucedinees thermophiles[J]. Annales Institute Pastear Paris, 1899, 13: 500-505

[16] Miehe, H. Die Selbsterhitzung des Heus. Eine biologische Studie[M]. Gustav Fischer Verlag, Jena, Germany, 1907, 1-127

[17] Griffon, E., Maublance, A. Deux moisissures thermophiles [J]. Bull Soc Mycol France. 1911, 27: 68-71

[18] Latouche, C J. On a thermophile species of Chaetomium. Trans Brit Mycol Soc, 1950, 33: 94-104

[19] Salar, R., Aneja, K R. Thermophilic Fungi: Taxonomy and Biogeography [J]. Journal of Agricultural Technology, 2007, 3 (1): 77-107

[20] Chen, G Y, Chen, Z .C. Thermophilic and thermotolerant fungi in Taiwan [J]. Transactions of the Mycological Society of Republic of China, 1988, 3(6): 1-72

（上接第 1033 页）

[8] Sallusto F, Lanzavecchia A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor alpha[J]. Exp Med, 1994, 179 (4): 1109-1118

[9] Mayordomo JI. Bone marrow-derived dendritic cells serve as potent adjuvants for peptide-based antitumor vaccines [J]. Stem Cells, 1997, 15(2): 94-103

[10] Nagai Y, Akashi S, Nagafuku M, et al. Essential role of MD-2 in LPS responsiveness and TLR4 distribution[J]. Nat Immunol, 2002, 3: 667-672

[11] Talmor M. Generation or large numbers of immature and mature dendritic cells from rat bone marrow cultures [J]. Eur J Immunol, 1998, 28(3): 811-817

[12] Charbonnier LM, Van Duivenvoorde LM, Apparailly F, et a1. Immature dendritic cells suppress collagen-induced arthritis by in vivo expan~on of CD49b+ regulatory T cells[J]. Immunol, 2006, 177: 3806-3813

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net