食品及其生产环境和包装材料中分离霉菌的形态与分子鉴定

王双霞[1]，唐晓阳[2]，范艳红[2]，丁艳杰[2]，谭洋岚[3]，
胡东强[3]，田 野[3]，赵 勇[1]，武爱波[*3]

（1. 上海海洋大学 食品学院，上海 201306；2. 康师傅控股中央研究所食品安全研究中心检验科学部，上海 201103；3. 中国科学院上海生命科学研究院 营养科学研究所，上海 200031）

摘要：为了明确食品及食品包装材料、食品的生产环境中污染霉菌菌株种类，本文对收集、单孢分离的55株霉菌菌株同时采用形态学和分子生物学方法鉴定，并相互验证。实验结果表明：55株污染霉菌主要包括有曲霉属（*Aspergillus* sp.）、镰刀菌属（*Fusarium* sp.）、青霉属（*Penicillium* sp.）、枝孢菌属（*Cladosporium* sp.）、链格孢属（*Alternaria* sp.）等，这为食品中霉菌污染的安全控制和菌株溯源提供了有价值的参考信息。

关键词：霉菌；鉴定；形态学；分子鉴定；食品

中图分类号：TS 201.3　**文章编号：**1673-1689(2019)06-0049-07　**DOI：**10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.06.007

Morphological and Molecular Identification of Molds Isolated from Food and Their Production Environments and Packaging Materials

WANG Shuangxia[1]，*TANG Xiaoyang*[2]，*FAN Yanhong*[2]，*DING Yanjie*[2]，*TAN Yanglan*[3]，
HU Dongqiang[3]，*TIAN Ye*[3]，*ZHAO Yong*[1]，*WU Aibo*[*3]

（1. College of Food Sciences & Technology，Shanghai Ocean University，Shanghai 201306，China；2. Analysis Science Department，Food Safety Research Center，Central Research Institute，MASTERKONG，Shanghai 201103，China；3. Institute for Nutritional Sciences，Shanghai Institutes for Biological Sciences，Chinese Academy of Sciences，Shanghai 200031，China）

Abstract： In order to unveil the population structure of the mold strains which may cause contamination in food and their production environments and packing materials，the 55 isolates were first collected and mono-spore purified from the collected samples，and then the morphological and molecular characterization means were both conducted to identify the mold strains to the species level. The experimental results have indicated that the 55 isolates of mold species identified mainly include *Aspergillus*，*Fusarium*，*Penicillium*，*Cladosporium* and *Alternaria species*，etc. These achieved

收稿日期：2016-11-18

基金项目：国家自然科学基金项目（3161101358）；上海市技术标准项目（15DZ0503800）。

***通信作者：**武爱波（1977—），男，博士，研究员，博士研究生导师，主要从事真菌毒素检测，安全评价与控制工作。
E-mail：abwu@sibs.ac.cn

引用本文：王双霞，唐晓阳，范艳红，等. 食品及其生产环境和包装材料中分离霉菌的形态与分子鉴定[J]. 食品与生物技术学报，2019，38（06）：49-55.

data would be valuable references for safety control and monitoring of contamination of mold species.

Keywords: molds, identification, morphology, molecular characterization, food

霉菌是各类食品中常见的污染微生物,自然栖息于食品产地环境中的不同土壤、水体、大气和植物基质上,种类繁多,代谢功能各异。真菌毒素(Mycotoxin)是一些丝状真菌在适宜条件下产生的具有生物毒性的次级代谢产物,这些产毒真菌主要是霉菌,如青霉(*Penicillium* sp.)、曲霉(*Aspergillus* sp.)、链格胞霉菌(*Alternaria* sp.)等。霉菌污染食品后,会给企业造成一定的经济损失[1],而且在生长过程中会产生多种霉菌毒素等次级代谢产物,并以毒素原型、衍生型与隐蔽型[2]等不同形式存在于食物链中,带来严重安全隐患[3]。大多数霉菌对人类无危害,但少数霉菌如黄曲霉、寄生曲霉及其产生的黄曲霉毒素、脱氧雪服镰刀菌烯醇、玉米赤霉烯酮、赭曲霉毒素 A 等对人类健康有较大威胁,已有相应国家食品安全标准(GB)对食品中这些真菌毒素的限量进行了严格规定[4]。因此,将这些污染霉菌菌株鉴定到种对食品中污染霉菌的溯源、预警与安全控制意义重大。

由于霉菌种类多,形态多样,形态学鉴定特征有时较难形成,目前通常采用形态学和分子生物学技术共同鉴定、相互验证的方法对霉菌进行鉴定[5]。目前霉菌形态学鉴定采用的方法为:将分离纯化得到的菌株接种到马铃薯琼脂培养基(Potato Dextrose Agar,PDA)上 25 ℃黑暗培养 3—5 d,观察菌落形态、生长速度、颜色、大小等,并结合菌丝的形态和分身孢子的有无及其特点等特征进行属的鉴定[6,7];分子鉴定通常采用真菌的通用型引物 Internal Transcribed Spacer(ITS)[8],对其保守区序列进行特异性 PCR,并通过对产物的测序精确鉴定出霉菌的种类,部分霉菌采用特异性引物 Elongation factor 1-α(EF- 1α)[9]对部分霉菌进行水平鉴定、验证。

本研究作者对食品包装材料、食品的生产环境和部分食品中污染的霉菌菌株进行分离纯化,获得单孢菌株后,进行形态与分子鉴定,明确食品中主要污染霉菌种类,对食品中霉菌安全控制和污染源头的确定提供基础数据参考。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

本实验的 55 株菌株由康师傅控股中央研究所食品安全研究中心检验科学部分离提供。其中食品生产环境中分离的菌株 32 株,编号分别为:A 3、A 15、A 19、A 22、B 5-1、B 5-2、B 13-1、B 13-2、C 21-1、C 21-2、E 4-1、E 4-2、E 7-1、E 7-2、E 8-1、E 8-2、E 9-1、E 9-2、E 10、E 11、E 12-1、E 12-2、E 14-1、E 14-2、F 1-1、F 1-2、F 2、F 16、G 17、G 18、G 20、H 6;包装材料中分离菌株 11 株,编号分别为:A 25、D 41、G 28、H 27、I 26、I 43、J 29、J 42-1、J 42-2、K 23、K 24;食品中分离菌株 12 株,编号分别为:A 30、A 33、A 36、A 38、A 39、B 34、B 35-1、B 35-2、C 37-1、C 37-2、D 31、F 32。

1.2 培养基

马铃薯琼脂培养基(PDA):马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 15 g,加去离子水定容至 1 000 mL,121 ℃灭菌 20 min。

马铃薯培养基(PDB):马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,加去离子水定容至 1 000 mL,121 ℃灭菌 20 min。

水琼脂培养基(WA):琼脂粉 20 g,去离子水 1 000 mL,121 ℃灭菌 20 min。

1.3 霉菌的形态学鉴定

把实验的霉菌接种到 PDA 培养基上活化,生化培养箱种 25 ℃黑暗培养 4~6 d,观察霉菌菌丝的生长速度,菌落基地的颜色,有无分生孢子的形成。借助显微镜观察霉菌的菌丝及孢子形态。

1.4 霉菌的分子鉴定

在形态学鉴定的基础上,采用真菌 rDNA 的 ITS 和 EF- 1α 的通用引物进行 PCR 扩增。具体步骤如下。

1.4.1 霉菌基因组 DNA 的提取 霉菌的培养和参照滕巍等[10-11]的方法,收集培养 3~5 d 的新鲜菌丝在液氮中研磨,参照 Kumar 等[12]的方法,使用改良的 CTAB 法提取实验霉菌的基因组,电泳检测合格后置于-20 ℃保存。

1.4.2 聚合酶链式反应(PCR) 采用真菌 ITS 通用引物 ITS1 和 ITS4 和 EF-1α(表 1)进行 PCR 扩增反应,引物为上海生工合成。

反应体系为:2×TransDirect™ PCR SuperMix(+dye)25 μL,引物对 3 μL,DNA 模板 5~8 μL 补 ddH_2O 至 50 μL。PCR 反应条件:95 ℃预变性 5 min,95 ℃变性 30 s,55 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 45 s,共 35 个循环,最后 72 ℃延伸 7 min。

1.4.3 PCR 产物纯化与测序 霉菌 PCR 扩增产物经 1 g/dL 琼脂糖凝胶电泳,切取胶块,使用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒纯化回收扩增片段,对回收后的 PCR 产物重新进行电泳检测后送上海生工测序。

1.4.4 测序结果的比对分析 将菌株的测序结果输入 National Center for Biotechnology Information (NCBI http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)核酸序列数据库中进行 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)分析,依据比对结果判断菌株所属种,一般认为提交序列与数据库中参照序列的同源性大于或等于 99%,则可视二者为同一种[13]。借助 Clustx 软件对不同菌株的同源序列进行比对,分析其种属差异。

表 1 PCR 所用的引物

Table 1 Primers used in PCR

序列	引物名称	引物序列(5′-3′)	片段长度/bp
Internal Transcribed (ITS)	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	~700
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	

1.4.5 系统发育树的构建 代表菌种的 ITS 基因序列,使用 MEGA6.0 软件构系统发育树。系统发育树采用 Neighbor-Joining[14]方法进行构建,运算 1 000 次,利用 p-distance 模型计算进化距离,通过 bootstrap 对运算结果进行评价[15],构建霉菌的发育树。

2 结果与讨论

2.1 菌株形态学鉴定结果

用霉菌形态学鉴定的培养方法对菌株进行培养并观察,并按照 Deacon[5]中描述的霉菌特征进行鉴定。发现其中大部分菌株为曲霉(*Aspergillu* sp.)、青霉(*Penicillium* sp.)、镰刀菌属(*Fusarium* sp.)、枝孢菌属 (*Cladosporium* sp.)、链格孢属(*Alternaria* sp.)。从分离的菌株中对每一种霉菌分别取出一株典型菌株进行形态学观察,为霉菌的鉴定提供参考。

2.2 主要霉菌的形态特征

黑曲霉在 PDA 上 25 ℃黑暗培养 4 d,菌落直径为 21~39 mm;生长速度中等;菌落初生时为白色,后变为黄色最后为黑色,背面无色或为深黄色。菌落厚绒毛状,成熟时黑色;有分生孢子梗;分生孢子顶端不膨大,分生孢子为黑色、球状,孢子直径 2.5~4.0 μm。

顶青霉在 PDA 培养基上 25 ℃黑暗培养 4 d,菌落直径为 17~23 mm,菌落生长速度中等;菌落凸起,紧实,初为白色,后期为青色或青灰色,背面无色或浅黄色;气生菌丝上产生分生孢子梗,分生孢子梗光滑,帚状枝形状不一,分生孢子椭圆形至球形,分生孢子端膨大,这是微生物形态学上区分青霉和曲霉的重要依据[16]。

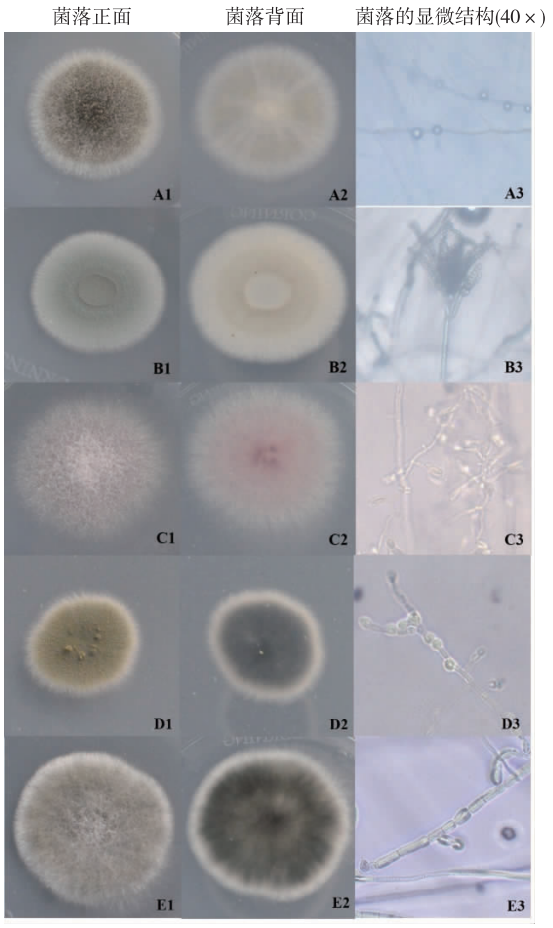
串珠镰刀菌在 PDA 培养基上 25 ℃黑暗培养 4 d,菌落直径为 40~60 mm,菌落生长速度中等。菌落初为白色,后期紫色或紫红色,背面为红色。分生孢子梗单生或简单分枝。在 PDA 培养基上可产生大量卵形至棒状的小型分生孢子。小型分生孢子 0—1 隔,绝大多数为 0 隔。气生菌丝表面的小型分生孢子串生成较长的分生孢子链或呈假头状生。大型分生孢子镰刀型,壁薄,3—5 隔,分隔明显,形态较直,顶细胞为锥形,基细胞为足形。不产生厚垣孢子。

枝孢菌在 PDA 培养基上 25 ℃黑暗培养 4 d,菌落直径为 10~13 mm,菌落生长速度缓慢。菌落凸起,紧实,中央为灰绿色,边缘白色,背面为灰褐色。分生孢子梗侧生,平滑无分支,产孢后不膨大;分生孢子顶生或侧生,椭圆形、圆柱形或球形,淡褐色。

链格胞菌在 PDA 培养基上 25 ℃黑暗培养 4 d,菌落直径为 19~25 mm,菌落生长速度中等。菌落为黑色或墨绿色,菌丝茂盛,厚绒状,边缘整齐。有分生孢子梗,散生,不分枝,直立或弯曲,分隔,暗色。分生孢子为黑色,单生,近椭圆形,孢子底部钝圆,顶部狭隘。

2.3 菌株的分子鉴定结果

55 株霉菌的 ITS 区 PCR 产物经凝胶电泳分离,长度都在 500~700 bp。如图 2 所示。将测序结果进行 BLAST 分析,构建系统发育树,并结合形态学结果鉴定菌株。



注 A:I 26 号菌株(黑曲霉);B:A36 号菌株(顶青霉);C:D31 号菌株 (串珠镰刀菌);D:E11 号菌株(枝孢菌);E:G20 号菌株(链格胞菌);1:菌落正面;2:菌落背面;3:菌落的显微结构(40×)

图 1 菌株在 PDA 上培养 4 d 的培养特征和显微的形态

Fig. 1 Cultural characteristics and microscopic shape of molds cultured post 4 d on PDA media

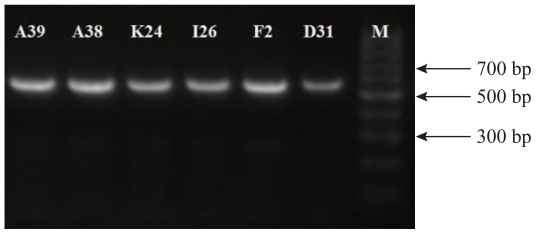


图 2 霉菌 PCR 扩增产物凝胶电泳检测

Fig. 2 PCR amplification result gel electrophoresis of several typical molds

形态学和分子生物学结果表明:食品中分离的菌株 12 株,表明 12 株菌中 A 30、A 33、A 36、A 38、A 39 属于顶青霉(*Penicillium corylophilum*),B 34、B 35-1 属于爪甲曲霉 (*Aspergillus unguis*),B 35-2、C 37 -2、D 31、F 32 属于串珠镰刀菌 (*Fusarium verticillioides*),C 37-1 属于肉座菌(*Hypocreales* sp.)。

具体来讲,从包装材料中分离的菌株种类比食品中复杂, 从表 2 可以看出,11 株真菌包括 6 株曲霉(*Aspergillus*)、2 株链格胞菌(*Alternaria*)、1 株青霉(*Penicillium*)、1 株拟青霉(*Paecilomyces*)、1 株镰刀菌 (*Fusarium*)。6 株曲霉中有 3 株黑曲霉(*Aspergillus niger*), 分别为 I26、I43、K24,2 株聚多曲霉(*Aspergillus sydowii*),为 J29、J42-1,1 株溜曲霉 (*Aspergillus tamarii*) 为 K23;2 株极细链格胞菌(*Alternaria tenuissima*) 为 G28 和 H27;A25 为绳状青霉 (*Penicillium funiculosum*);D41 为多变拟青霉(*Paecilomyces variotii*);J42 -2 为串珠镰刀菌(*Fusarium verticillioides*)。

由表 2 可以看出,食品生产环境中分离的菌株种类最为复杂,32 株真菌中有 12 株镰刀菌(*Fusarium* sp.), 其中 10 株串珠镰刀菌(*Fusarium verticillioides*),2 株茄腐镰刀菌(*Fusarium solani*);7 株曲霉 (*Aspergillus* sp.), 其中 3 株爪甲曲霉(*Aspergillus unguis*),1 株烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*),2 株黄曲霉 (*Aspergillus flavus*),1 株杂色曲霉(*Aspergillus versicolor*);3 株青霉(*Penicillium* sp.);7 株枝孢菌(*Cladosporium* sp.),其中有 3 株球孢枝孢菌(*Cladosporium sphaerospermum*),4 株草木枝孢菌 (*Cladosporium halotolerans*);2 株链格胞菌(*Alternaria* sp.);1 株肉座菌(*Hypocreales* sp.)。

表 2 霉菌菌株的 16SDNA 序列结果分析

Table 2 16S rDNA sequences analysis of molds strains

菌株编号	样品来源	相似度	分子鉴定(BLAST)
A 3	环境	99%	*Penicillium ramusculum NRRL 3459*
A 15	环境	99%	*Aspergillus versicolor F4-3-29*
A 19	环境	99%	*Penicillium corylophilum isolate TBG1-8*
A 22	环境	96%	*Penicillium pinophilum strain TFRh4*
A 25	包装材料	99%	*Penicillium funiculosum strain C2-20*
A 30	食品	99%	*Penicillium corylophilum strain DHMJ09*
A 33	食品	99%	*Penicillium corylophilum strain DHMJ01*
A 36	食品	99%	*Penicillium corylophilum isolate ACT1-2*

续表 2

菌株编号	样品来源	相似度	分子鉴定(BLAST)
A 38	食品	99%	*Penicillium corylophilum strain Cs/12/1*
A 39	食品	99%	*Penicillium corylophilum strain Cs/12/1*
B 5–1	环境	99%	*Aspergillus unguis isolate RSPG_199*
B 5–2	环境	99%	*Fusarium verticillioides isolate ZS102*
B 13–1	环境	99%	*Aspergillus unguis isolate NRRL 216*
B 13–2	环境	99%	*Fusarium verticillioides isolate TVD_137*
B 34	食品	99%	*Aspergillus unguis isolate BP321*
B 35–1	食品	99%	*Aspergillus unguis isolate RSPG_199*
B 35–2	食品	99%	*Fusarium verticillioides isolate ASU1*
C 21–1	环境	99%	*Hypocreales* sp. *SL–45*
C 21–2	环境	99%	*Fusarium verticillioides isolate TVD_137*
C 37–1	食品	99%	*Hypocreales* sp. *SL–45*
C 37–2	食品	99%	*Fusarium verticillioides isolate ZS112*
D 31	食品	99%	*Fusarium verticillioides isolate ASU1*
D 41	包装材料	99%	*Paecilomyces variotii strain SCSAAF0011*
E 4–1	环境	99%	*Fungal endophyte isolate 4074*
E 4–2	环境	99%	*Fusarium verticillioides isolate ZS108*
E 7–1	环境	99%	*Cladosporium sphaerospermum strain EIODSF008*
E 7–2	环境	99%	*Fusarium verticillioides isolate ZS108*
E 8–1	环境	99%	*Aspergillus flavus strain meijun7*
E 8–2	环境	99%	*Fusarium verticillioides isolate ZS108*
E 9–1	环境	99%	*Cladosporium* sp. *MBC003*
E 9–2	环境	99%	*Fusarium* sp. *CC2*
E 10	环境	99%	*Cladosporium sphaerospermum strain PANIT1*
E 11	环境	99%	*Cladosporium halotolerans strain DTO 161–D6*
E 12–1	环境	99%	*Cladosporium halotolerans strain DTO 161–D6*
E 12–2	环境	99%	*Fusarium verticillioides isolate ASU1*
E 14–1	环境	99%	*Cladosporium* sp. *EF–41*
E 14–2	环境	99%	*Fusarium solani strain GL09415*
F 1–1	环境	99%	*Aspergillus unguis isolate BP321*
F 1–2	环境	99%	*Fusarium verticillioides isolate ASU1*
F 2	环境	99%	*Fusarium verticillioides isolate ZS108*
F 16	环境	99%	*Epicoccum nigrum isolate HLJ_9*
F 32	食品	93%	*Fusarium verticillioides isolate ZS108*

续表 2

菌株编号	样品来源	相似度	分子鉴定(BLAST)
G 17	环境	93%	*Aspergillus flavus strain meijun5*
G 18	环境	99%	*Fusarium solani isolate MZ02*
G 20	环境	90%	*Alternaria alternata voucher HETIAO–03*
G 28	包装材料	99%	*Alternaria alternata voucher HETIAO–03*
H 6–1	环境	99%	*Aspergillus fumigatus strain Z1*
H 27	包装材料	99%	*Alternaria tenuissima strain EGS34–015*
I 26	包装材料	99%	*Aspergillus niger isolate NJDL–12*
I 43	包装材料	99%	*Aspergillus niger isolate BPb6*
J 29	包装材料	99%	*Aspergillus sydowii isolate H2Pb*
J 42–1	包装材料	99%	*Aspergillus sydowii strain DTO: 268–C2*
J 42–2	包装材料	99%	*Fusarium verticillioides isolate ZS112*
K 23	包装材料	99%	*Aspergillus tamarii strain KUFS12*
K 24	包装材料	99%	*Aspergillus niger isolate BPb2*

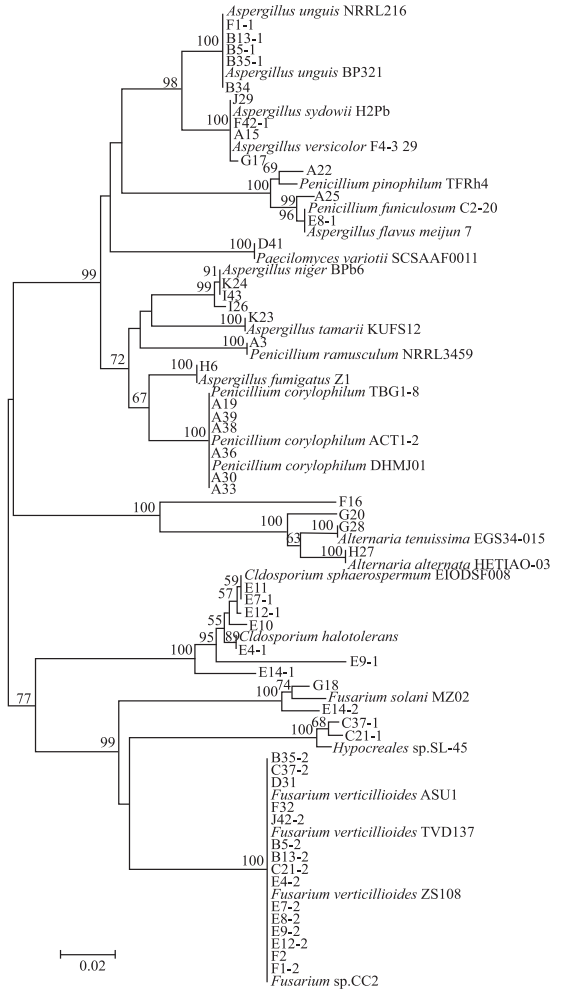


图 3 ITS 区 rDNA 构建的系统发育树

Fig. 3 System development tree constituted on the base of rDNA in ITS region

3 结 语

依靠形态学的方法对真菌进行分类,所需时间较长,而且实验结果不稳定,因为实验过程中需要实时对菌落的生长速度、颜色、孢子和菌落的形态特征进行观察,并且真菌的形态特征复杂,随着培养条件改变而变化,一般仅运用形态学很难将真菌鉴定到种[17]。利用分子生物学 ITS 区 rDNA 序列分析法具有灵敏度高、快速、简便等优点,但在真菌的鉴定中对于一些近缘的种无法区分[18-19]。因此,本研究采用形态学和分子生物学相结合的的方法鉴定所采集真菌。

为了明确食品生产环境、包装材料、部分食品中污染霉菌的种类,本实验通过霉菌在 PDA 上 25 ℃黑暗培养 4 d 菌落形态特征、微观形态学和分子生物学的方法对实验霉菌进行了鉴定,初步得出了食品加工过程中可能感染的霉菌的种类,主要有顶青霉、拟青霉、黑曲霉、爪甲曲霉、串珠镰刀菌、草木枝孢菌等。其中食品中的霉菌菌株种类单一,青霉属均为顶青霉,镰刀菌属都为串珠镰刀菌,曲霉属都是爪甲曲霉;包装材料中的霉菌种类比食品中复杂,菌株以曲霉为主,还包括青霉、拟青霉、串珠镰刀菌等;环境中的菌株种类比较繁多,其中镰刀菌占得比例最大。

本实验 55 株被分离的菌株中有 17 株镰刀菌(*Fusarium*),占总菌株的 30.91%;15 株曲霉(*Aspergillus*),占总菌株的 27.27%;9 株青霉(*Penicillium*),占总菌株的 16.36%;7 株枝孢菌(*Cladosporium*),占总菌株的 12.73%;4 株链格胞菌(*Alternaria*),占总菌株的 7.27%;2 株肉座菌(*Hypocreales*),占总菌株的 3.64%;1 株拟青霉(*Paecilomyces*),占总菌株的 1.82%。镰刀菌、青霉、曲霉在食品生产环境、包装材料和食品中都存在,为优势菌株。本实验的结果显示在食品加工过程中,食品的生产环境中霉菌种类多且杂,应当重点预防。

菌株的鉴定为后续霉菌污染的安全控制和菌株溯源提供了有价值的参考信息。霉菌在生长过程中会产生多种霉菌毒素等次级代谢产物,存在一定安全隐患。例如,串珠镰刀菌在一定条件下会产伏马毒素,杂色曲霉在特定情况下会产生杂色曲霉素。后续我们将对这些霉菌在不同生物基质培养条件下产生真菌毒素的类型和水平进行深入研究,以对食品及产地环境中霉菌毒素污染的防控提供更有价值的参考。

参考文献:

[1] PITT J I,TANIWAKI M H,COLE M B. Mycotoxin production in major crops as influenced by growing,harvesting,storage and processing,with emphasis on the achievement of food safety objectives[J]. **Food Control**,2013,32(1):205-215.

[2] TAN Yanglan,LIU Na,ZHU Runyue,et al. Major types of masked mycotoxins and state-of-the-art methodological advance for their detection[J]. **Sci Sin Chem**,2016,46:251-256.(in Chinese)

[3] WANG J,XIE G,WANG S. 10 chemistry and safety of mycotoxins in food[J]. **Food Safety Chemistry:Toxicant Occurrence, Analysis and Mitigation**,2014:189.

[4] SUN Ruoyu,REN Yani,ZHANG Bin. A effect of biological pollution on food safety[J]. **Food Research And Development**,2015,36(11):146-149.(in Chinese)

[5] SCHEEL C M,HURST S F,BARREIROS G ,et al. Molecular analyses of *Fusarium* isolates recovered from a cluster of invasive mold infections in a Brazilian hospital[J]. **BMC Infectious Diseases**,2013,13(1):1.

[6] DEACON J W. Fungal biology[M]. John Wiley & Sons,2013.

[7] CAMPBELL C K,JOHNSON E M. Identification of pathogenic fungi[M]. John Wiley & Sons,2013.

[8] JAMALI S. Molecular phylogeny of endophytic isolates of *Ampelomyces* from Iran based on rDNA ITS sequences[J]. **Molecular Biology Reports**,2015,42(1):149-157.

[9] POUCKE K V,MONBALIU S,MUNAUT F,et al. Genetic diversity and mycotoxin production of *Fusarium* lactis species complex isolates from sweet pepper[J]. **International Journal of Food Microbiology**,2012,153(1):28-37.

[10] TENG Wei,LI Guoying,LIU Xiaobo,et al. Isolation and identification of ethyl caproate esterifying enzyme in Daqu and its

fermentative technology optimization[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2016,35(9):971-977.(in Chinese)
[11] LI Yan,NIU Shuaike. Separation and identification of mold in two rice Qu[J]. **Journal of ShangDong University**,2013(3):32-36.(in Chinese)
[12] KUMAR M S,KAUR G,SANDHU A K. Genomic DNA isolation from fungi,algae,plant,bacteria and human blood using CTAB[J]. **Int J Sci Res**,2014,3(9):617-618.
[13] LANDEWEERT R,LEEFLANG P,KUYPER T W,et al. Molecular identification of ectomycorrhizal mycelium in soil horizons [J]. **Applied and Environmental Microbiology**,2003,69(1):327-333.
[14] PARK Y,AHN S J,VOGEL H,et al. Integrin β subunit and its RNA interference in immune and developmental processes of the Oriental tobacco budworm,*Helicoverpa assulta*[J]. **Developmental & Comparative Immunology**,2014,47(1):59-67.
[15] CHEN N,WU S H,FU J L,et al. Overexpression of the eggplant(Solanum melongena) NAC family transcription factor SmNAC suppresses resistance to bacterial wilt[J]. **Scientific Reports**,2016,6:31568.
[16] JAYASIRI S C,HYDE K D,ARIYAWANSA H A,et al. The faces of fungi database:fungal names linked with morphology,phylogeny and human impacts[J]. **Fungal Diversity**,2015,74(1):3-18.
[17] BALAJEE S A,SIGLER L,BRANDT M E. DNA and the classical way:identification of medically important molds in the 21st century[J]. **Medical Mycology**,2007,45(6):475-490.
[18] LI Hui,LIU Guangquan,CHENG Chi. Studies on the isolation and identification of contaminating molds from plum juice drink [J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**,2009,9(6):182-186.(in Chinese)
[19] ZHU Hongqing,WANG Panpan,ZHANG Meng,Application of rDNA-ITS sequence analysis and traditional classification method in the identification of fungi[J]. **Journal of China West Normal University(Natural Sciences)**,2016,37(3):264-269.(in Chinese)

会　议　消　息

会议名称：第九届环境与生物科学国际会议(ICEBS 2019)

会议时间：2019-09-25 至 2019-09-27

会议地点：泰国曼谷

主办单位：ICEBS 2019

联系人：蔺女士

电话：+86-28-86528465

Email：icebs@cbees.org

官方网址：http://www.icebs.org/

会议简介：(ICEBS 2019)第九届环境与生物科学国际会议将于 2019 年 9 月 25-27 日在泰国曼谷隆重召开。

会议亮点：

ICEBS 2019 被接收的文章会被发表在论文集上并被 EI Compendex, Scopus, Thomson Reuters (WoS), Inspec,et al 等数据库检索。

投稿方式：http://confsys.iconf.org/submission/icebs2019