DOI:10.12441/spyswjs.20250612003 [文章编号] 1673-1689(2026)04-0061-13

仓储和模拟储藏下稻谷中真菌群落演替的比较

王 婷 李 江 张鑫宇 罗欢腾 邱 烨 赵 艳 朱军莉*

(浙江工商大学食品与生物工程学院,浙江 杭州 310018)

摘要:【目的】比较仓储稻谷和模拟浙江高湿环境储藏稻谷表生真菌和内生真菌的群落特征,探究2种储藏条件下优势真菌和潜在产毒真菌属,以期揭示稻谷霉变风险,保障粮食安全。**【方法】**采用平板培养、形态观察和ITS测序法分离鉴定稻谷样品中的可培养霉菌,并结合高通量测序分析2种储藏稻谷的真菌群落多样性。**【结果】**与储藏初期相比,仓储稻谷和模拟储藏稻谷在储藏后期的霉菌量分别增加7.05%和12.03%,2种储藏稻谷中子囊菌门(Ascomycota)均为优势门,可培养优势霉菌分别为弯孢霉属(*Curvularia*,35.66%)和青霉属(*Penicillium*,51.13%),其中青霉属相对丰度相差高达42.7%。链格孢属(*Alternaria*)为仓储稻谷表生和内生真菌共有优势菌属,且其内生真菌相对丰度(39.85%~91.51%)高于表生真菌(14.33%~30.53%)。在模拟储藏稻谷中,初始稻谷中表生和内生真菌共有优势菌属为链格孢属(<32.32%),而曲霉属(*Aspergillus*,<15.01%)为模拟储藏3个月稻谷中优势菌属,表明模拟储藏稻谷中优势真菌群落发生演替。随着储藏时间延长,可产生脱氧雪腐镰刀烯醇(DON)的腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*),在仓储稻谷和模拟储藏稻谷中的相对丰度分别下降3.10%和2.46%。此外,肉座菌属(*Hypocrea*)、帚枝霉属(*Sarocladium*)和链格孢属可作为仓储稻谷的标志菌属,而节担菌属(*Wallemia*)和曲霉属为模拟储藏稻谷中不同阶段的标志菌属。**【结论】**稻谷储藏过程中霉菌总数显著增加,链格孢属是2种储藏稻谷的优势菌属,高湿环境下促进表生和内生真菌群落向曲霉属转变,且潜在产毒真菌链格孢属和曲霉属分别为2种储藏稻谷的标志菌属,该研究为防控稻谷霉变和毒素积累提供理论依据。

关键词:仓储稻谷;模拟储藏稻谷;表生真菌;内生真菌;真菌群落演替

Comparison of Fungal Community Succession in Rice Under Granary and Simulated Storage

*WANG Ting LI Jiang ZHANG Xinyu LUO Huanteng QIU Ye ZHAO Yan ZHU Junli**

(School of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: [**Objective**] To uncover the risk of rice mildew and ensure cereal security, this study compared the surface and endophytic fungal community characteristics in rice under granary storage and simulated storage with high humidity in Zhejiang to explore the predominant fungi and potential toxigenic fungi under the two storage conditions. [**Method**] Cultivable molds in rice samples were identified by plate culture, morphological observation, and ITS sequencing, and fungal community diversity of rice was investigated by high-throughput sequencing. [**Result**] Compared with that at the early storage stage, the mold number of samples during late stage of granary and simulated storage increased by 7.05% and 12.03%, respectively. Although Ascomycota was a dominant phylum in rice under the two storage conditions, the predominant cultivable molds were *Curvularia* (35.66%) and *Penicillium* (51.13%), respectively. The relative abundance difference of *Penicillium* reached 42.7%. *Alternaria* was a common predominant genus of surface fungi and endophytic fungi in rice under granary

基金项目:浙江省基础公益研究计划项目(LTGN23C200011);国家创新创业计划项目(GJ20250445962)。

通信作者:朱军莉(1979—),女,博士,教授,博士研究生导师,主要从事食品微生物研究。E-mail:junlizhu0305@163.com

收稿日期:2025-06-12 **修回日期:**2025-09-15

storage, and the relative abundance of endophytic *Alternaria* (39.85%~91.51%) was higher than that of surface ones (14.33%~30.53%). In the rice under simulated storage, *Alternaria* (<32.32%) was the common predominant genus of surface fungi and endophytic fungi at the early storage stage, while *Aspergillus* (<15.01%) was the predominant genus after storage for 3 months, which indicated an alteration of predominant fungi during storage. In addition, the relative abundance of *Fusarium solani* secreting deoxynivalenol (DON) decreased by 3.10% and 2.46% in rice under granary and simulated storage over time, respectively. In addition, *Hypocrea*, *Sarocladium*, and *Alternaria* were identified as marker genera in rice under granary storage, while *Wallemia* and *Aspergillus* might be used as marker genera in rice under simulated storage rice at different stages. [**Conclusion**] The mold number of rice under storage significantly increased, and *Alternaria* was identified as a predominant genus in rice under both storage conditions. The high humidity increased the relative abundance of *Aspergillus* in both surface and endophytic fungi. The potential toxin-producing fungi *Alternaria* and *Aspergillus* were the two marker genera in rice under the two storage conditions, respectively. The findings provide a theoretical basis for controlling rice mildew and toxin accumulation.

Keywords: rice under granary storage; rice under simulated storage; surface fungus; endophytic fungus; fungal community succession

稻谷是我国主要的粮食之一，其储藏安全至关重要。稻谷在种植、采收和运输的过程中，会与环境、设备等接触而受到真菌等微生物的污染[1]。污染的真菌在适宜的温湿度条件下增殖，进而引起稻谷品质的下降甚至霉变[2]。据报道，在田间受到曲霉属和镰刀菌污染的稻谷，其产品中也能检出同样的真菌[3]。真菌增殖和代谢是仓储稻谷和模拟储藏稻谷品质劣变的重要因素。研究表明，真菌的代谢活动导致稻谷发芽率、脂肪酸值等品质下降，同时真菌会产生脱氧雪腐镰刀烯醇（DON）、黄曲霉毒素、赭曲霉毒素等真菌毒素[4-6]，造成难以估计的损失。

早期分析储藏稻谷真菌群落特征主要采用传统形态学鉴定的方法，但该方法仅适用于可培养真菌[2]，难以完全反映真菌群落分布特征。近年来，高通量测序技术不断发展，可用于分析稻谷中真菌群落多样性。Qi等[7]采用高通量测序技术，发现稻谷储藏时期和仓库地理位置会影响真菌群落多样性和组成，如重庆稻谷中曲霉属相对丰度高于辽宁稻谷，尤其是黄曲霉和黑曲霉等产毒真菌。此外，高湿度会加速稻谷霉变，诱导稻谷微生物群落发生变化，特别是曲霉属在霉变过程中演替为稻谷中的优势真菌[8]。

植物内生微生物是丰富且多样的生物资源，其与植物组织具有稳定的共生关系，且部分内生微生物可以抵抗植物病原体、促进植物生长[9-10]，但也存在包括曲霉属、青霉属在内的具有产生真菌毒素潜力的微生物[11]，给粮食安全带来潜在风险。因此，研究植物内生微生物具有一定理论意义。尽管已有关于稻谷储藏过程中表生真菌群落多样性的报道[12-13]，但针对储藏稻谷内生真菌群落的研究较少。另外，仓储稻谷和模拟储藏稻谷的优势真菌群落特征是否存在异同仍未知。因此，作者旨在通过比较仓储稻谷与模拟浙江高湿环境下储藏稻谷的表生真菌和内生真菌群落多样性及差异，分析2种储藏条件下的优势霉菌和产毒真菌属，为针对性防控霉变及产毒真菌提供参考。

1 材料与方法

1.1 样品采集

稻谷样品取自浙江省粮食局直属粮油储备库，品种‘秀水121’。从2022年12月对初入库稻谷进行第一次取样，每5个月取样1次，至2024年3月结束取样，分别命名为初入库5M、10M和15M稻谷。同时，将粮仓取样稻谷置于20 ℃、相对湿度80%的恒温恒湿培养箱，模拟南方高湿环境储藏（即模拟储藏）5个月后，根据国标GB/T 20569—2006中脂肪酸值的规定，将刚取的稻谷设为宜存稻谷（脂肪酸值<25 mg/100 g）；在相对湿度80%条件下储藏1个月的稻谷为轻度不宜存稻谷（脂肪酸值>25 mg/100 g且<35 mg/100 g）；在相对湿度80%条件下储藏3个月的稻谷为重度不宜存稻谷（脂肪酸值>35 mg/100 g），分别命名为M0、M1和M3。

1.2　材料与试剂

孟加拉红培养基、马铃薯葡萄糖琼脂、乳酸酚棉蓝染色液：杭州微生物试剂有限公司；乙醇、次氯酸钠：分析纯，上海麦克林生化科技有限公司；Pusion Hot start flex 2X Master Mix：上海仪涛生物仪器有限公司；AMPure XT beads回收试剂盒：上海贝克曼公司。

1.3　仪器与设备

生化培养箱：PRX-80C型，宁波赛福实验仪器有限公司；拍打均质机：LC-08型，宁波立诚仪器有限公司；PCR基因扩增仪：A200型，杭州朗基科学仪器有限公司；超低温冷冻储存箱：DW-HL388型，中科美菱低温科技有限责任公司；生物分析仪：Agilent 2100型，美国Agilent公司；恒温水浴锅：DK-8D型，上海博迅实业有限公司。

1.4　稻谷样品处理

按照Li等[14]的方法从稻谷表面收集真菌。参照赖泽萍等[15]的方法对稻谷表面消毒，选取脱壳后外观正常且饱满的稻谷，依次用无菌水清洗5次、体积分数70%乙醇浸泡3 min、体积分数5%次氯酸钠浸泡5 min、体积分数70%乙醇冲洗30 s、无菌水冲洗6次。最后一次清洗液涂布于PDA培养基上以检验稻谷表面是否已彻底消毒，后将稻谷磨碎，提取其内生真菌。

1.5　霉菌总数测定

稻谷霉菌总数参照GB 4789.15—2016测定。

1.6　菌种鉴定

对稻谷样品上生长的霉菌菌落进行分离纯化，即在无菌环境下，用镊子挑取菌丝接种到PDA琼脂上纯化培养。根据菌落培养特性、菌落颜色、显微镜下形态特性对纯化后的霉菌进行初步鉴定。挑取霉菌菌落边缘的菌丝，经乳酸酚棉蓝染色液染色，置于显微镜下观察其菌丝形态及孢子形态。刮取霉菌菌丝，提取菌体DNA进行PCR扩增，将得到的PCR产物进行测序。将测序结果在GenBank数据库中与已知菌株进行BLAST比对，选取同源性高的菌株，采用MEGA7.0软件，通过邻接法构建系统发育树。

1.7　高通量测序分析

对不同阶段仓储和模拟储藏稻谷的表生真菌和内生真菌进行高通量测序，测序工作由杭州联川生物技术股份有限公司完成。采用CTAB法提取稻谷样品中真菌的总DNA[11]。在总体积为25 μL的反应混合物中进行PCR扩增：98 ℃下初始变性30 s；98 ℃下变性10 s，54 ℃下退火30 s，72 ℃下延伸45 s，循环32次，最后在72 ℃下延伸10 min。PCR产物经AMPure XT beads纯化并通过Qubit定量，随后用Agilent 2100生物分析仪和Illumina文库定量试剂盒进行评估。使用QIIME2软件将得到的ASV特征序列和丰度表格进行Alpha多样性、Beta多样性分析及分类学组成分析，随后进行各组间的多样性分析。使用R（v3.5.2）进行线性判别分析（LEfSe），将LDA score>3且$P<0.05$的真菌物种记为生物标记物并生成图像。

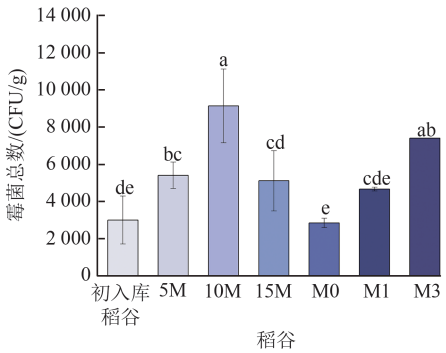
1.8　数据处理与分析

霉菌计数样品和高通量测序样品设3个重复。采用Spearman相关性方法分析稻谷表生真菌和内生真菌群落的关联。使用Origin 8.5和SPSS 26.0进行绘图和数据分析，$P<0.05$表示差异显著。

2　结果与讨论

2.1　稻谷中可培养霉菌计数

由图1可知，初入库稻谷的霉菌总数为3.0×10^3 CFU/g，随着储藏时间延长，仓储稻谷中霉菌总数先增加后降低。仓储15个月稻谷的霉菌总数为5.1×10^3 CFU/g。在20 ℃、相对湿度80%环境下，模拟储藏稻谷中霉菌总数逐渐增加（$P<0.05$），模拟储藏3个月后稻谷中霉菌总数增加160%。尽管模拟储藏时间远短于仓储时间，但其样品霉菌总数显著高于仓储稻谷，这与前者储藏湿度高有关，表明湿度是影响稻谷霉菌生长的主导因素[16]。



不同字母表示差异显著（$P<0.05$）。

图1　仓储稻谷和模拟储藏稻谷中的霉菌总数

Fig. 1　Total mold number in rice under granary and simulated storage

2.2 稻谷中可培养霉菌分离鉴定

经4次动态跟踪，分离获得菌落形态、生长特性存在差异的12种优势霉菌，分别编号为GF1~GF12。如图2所示，霉菌的菌落形态、孢子形态和颜色等表型具有明显差异。进一步测定霉菌ITS序列，并构建系统发育树，见图3。可知GF1、GF9和GF11属于弯孢霉属，命名为*Curvularia lunata*-GF1、*Curvularia rouhanii*-GF9和*Curvularia lunata*-GF11，占比分别为16.08%、9.09%和10.49%；GF2属于附球菌属，命名为*Epicoccum sorghinum*-GF2，占比0.70%；GF3和GF12属于青霉属，命名为*Penicillium daleae*-GF3和*Penicillium chrysogenum*-GF12，占比分别为2.80%和5.59%；GF4鉴定为根霉属的*Rhizopus arrhizus*-GF4，占比为0.70%；GF5属于盾壳霉属，命名为*Coniothyrium pyrinum*-GF5，占比为25.87%；GF6和GF10鉴定为曲霉属的*Aspergillus niger*-GF6和*Aspergillus niger*-GF10，占比分别为7.69%和9.79%；GF7和GF8分别鉴定为链格孢属的*Alternaria alstroemeriae*-GF7（6.29%）和镰刀菌属的*Fusarium incarnatum*-GF8（4.90%）。研究表明，北方储藏期稻谷中分离的优势种分属于链格孢属、枝孢属、镰刀菌属和曲霉属[17]，与本研究的南方仓储稻谷中的真菌组成相似度较高，这种组成特点可能与我国严格的仓储管理有关。

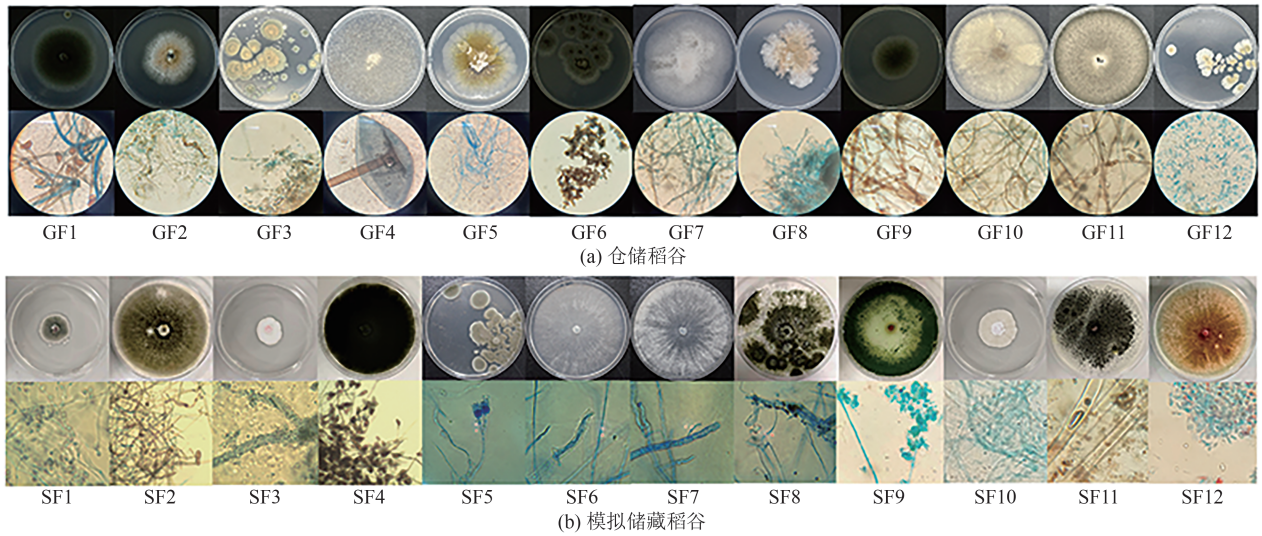
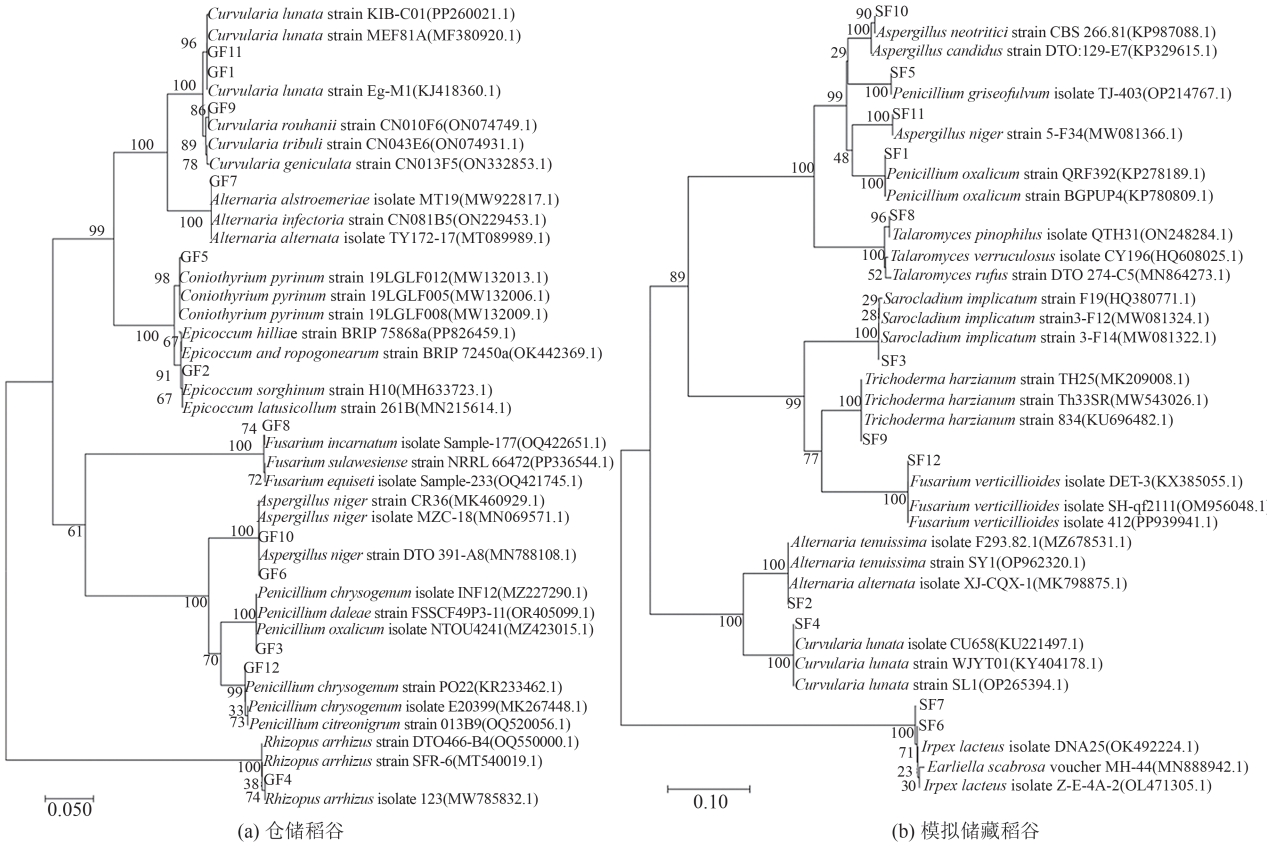


图2 仓储稻谷和模拟储藏稻谷的霉菌菌落及孢子形态

Fig. 2 Mold colony and spore morphology of rice under granary and simulated storage

模拟储藏的3种稻谷中分离得到12种优势霉菌，编号为SF1~SF12。如图3所示，经表型和ITS测序鉴定出9种霉菌属并建立系统发育树。SF1和SF5属于青霉属，鉴定为*Penicillium oxalicum*-SF1和*Penicillium griseofulvum*-SF5，占比分别为27.07%和24.06%；SF2为链格孢属的*Alternaria tenuissima*-SF2，占比6.77%；SF3为帚枝霉属的*Sarocladium implicatum*-SF3，占比21.8%；SF4鉴定为弯孢霉属*Curvularia lunata*-SF4，占比9.02%；SF6和SF7属于白囊耙齿菌属，命名为*Irpex lacteus*-SF6和*Irpex lacteus*-SF7，占比分别为0.75%和3.01%；SF10和SF11属于曲霉属，鉴定为*Aspergillus neotritici*-SF10和*Aspergillus niger*-SF11，占比分别为3.76%和0.75%；SF8鉴定为蓝状菌属的*Talaromyces pinophilus*-SF8，占比1.50%；SF9属于木霉属，鉴定为*Trichoderma harzianum*-SF9，占比0.75%；SF12为镰刀菌属，命名为*Fusarium verticillioides*-SF12，占比0.75%。

仓储稻谷和模拟储藏稻谷中可培养霉菌包括弯孢霉属、青霉属、曲霉属、链格孢属和镰刀菌，该结果与祁智慧等[17]从全国13省稻谷中分离的可培养霉菌相似。仓储稻谷中弯孢霉属（35.66%）、盾壳霉属（25.87%）和曲霉属（17.48%）为可培养优势霉菌，而模拟储藏稻谷中青霉属（51.13%）和帚枝霉属（21.8%）是可培养优势霉菌。2种储藏稻谷中弯孢霉属和青霉属相对丰度存在差异，与储藏环境中湿度不同有关[18]。



(a) 仓储稻谷　　(b) 模拟储藏稻谷

图 3　仓储稻谷和模拟储藏稻谷中可培养霉菌测序后建立的系统发育树

Fig. 3　Phylogenetic tree established based on the sequencing data of cultivable mold in rice under granary and simulated storage

2.3　仓储稻谷真菌群落多样性特征及差异分析

2.3.1　表生真菌群落多样性及差异分析

分析仓储稻谷 S0、S5、S10 和 S15 的表生真菌群落特征。α 多样性可反映不同储藏时间稻谷的表生真菌群落的物种丰富度和多样性。Chao1 指数反映真菌群落丰富度，其数值越大，表明真菌群落物种丰富度越高，S5 稻谷和 S15 稻谷的真菌群落物种丰富度显著高于 S0 和 S10（P<0.05）。Shannon 指数反映真菌群落多样性，其数值越大，表明真菌群落多样性越高。S0 稻谷真菌群落的 Shannon 指数为 3.61，储藏 15 个月后，其 Shannon 指数为 4.93，总体呈上升趋势。Chao1 指数和 Shannon 指数表明，稻谷储藏 15 个月后，表生真菌群落物种丰富度和多样性均有所增加，与李欣蔚[19]的报道一致。

根据测序结果，4 个稻谷样品表生真菌群落可分为 7 个门、19 个纲、36 个目、61 个科、90 个属和 122 个种。在门水平上，S0、S5、S10 和 S15 稻谷中都鉴定出子囊菌门和担子菌门（Basidiomycota），且子囊菌门为优势门，相对丰度分别为 84.39%、57.53%、83.62% 和 75.06%，见图 4（a）。在属水平上，4 个样品中真菌的相对丰度存在差异，其中链格孢属为优势属，相对丰度分别为 14.34%、24.33%、28.56% 和 30.53%，见图 4（b）。另外 S5 和 S10 样品中假丝酵母菌（*Pseudozyma*）的相对丰度为 13.04% 和 13.42%。可见，随着仓储时间延长，链格孢属逐渐成为优势菌属，而帚枝霉属和假丝酵母菌从稀有菌属转为常见菌属，与葛志文等[20]的结果相似。Qi 等[7]的研究也表明，仓储稻谷中链格孢属、曲霉属和枝孢属（*Cladosporium*）为优势菌属，可能是稻谷产地、储藏年限和环境不同导致[21]。

通过对比不同时期仓储稻谷真菌群落发现，S0、S5、S10 和 S15 稻谷中真菌群落 ASV 数目分别为 88、302、71、358 个，总体呈上升趋势。4 组样品中共有的 ASV 数目仅有 4 个，而 S15 稻谷中特有的 ASV 数目最多，为 206 个，与 S0 相比增加 131 个。表明随着储藏时间延长，仓储稻谷的表生真菌群落

物种丰富度逐渐增加。利用LEfSe差异分析比较仓储15个月稻谷的表生真菌群落，LDA score>3的物种见图4(c)~(d)。S0稻谷中肉座菌属和长孢被孢霉(*Mortierella elongata*)的相对丰度显著高于S15稻谷(P<0.05)，可作为初入库稻谷的标志菌属。S15稻谷中稻帚枝霉(*Sarocladium oryzae*)、环状镰刀菌(*Fusarium annulatum*)、链格孢(*Alternaria* sp.)、基利恩帚枝霉(*Sarocladium kiliense*)等真菌相对丰度显著高于S0稻谷(P<0.05)，为仓储稻谷的标志菌属。可见，随着储藏时间延长，仓储稻谷中真菌群落标志菌属逐渐从肉座菌属和长孢被孢霉转变为帚枝霉属、链格孢属和镰刀菌属。

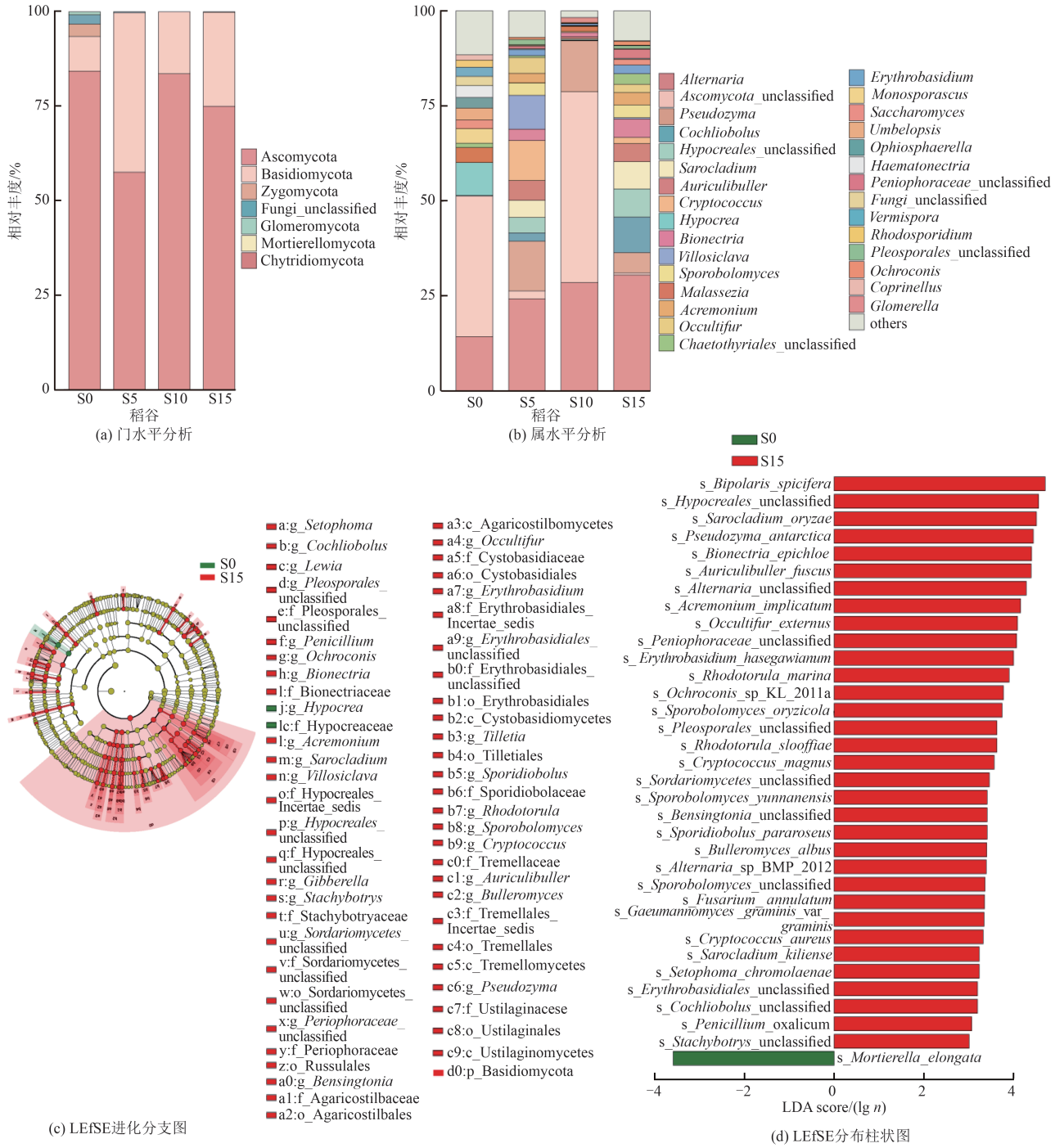


图4　仓储稻谷表生真菌群落多样性分析

Fig. 4　Analysis of surface fungal diversity in rice under granary storage

2.3.2　内生真菌群落多样性及差异分析

分析不同储藏时间仓储稻谷的内生真菌群落特征，命名为E0、E5、E10和E15。E0真菌群落的Chao1指数（32.71）最大，E15稻谷的Chao1指数最小，而4个阶段稻谷的Shannon指数分别为1.56、1.25、1.80和1.07。结果显示，随着储藏时间延长，仓储稻谷内生真菌的生长受到抑制，进而导致丰富度下降，真菌群落物种多样性总体下降。同时，仓储稻谷内生真菌群落可分为4个门、12个纲、16个目、22个科和23个属。在门水平上，E0、E5、E10和E15组样品均鉴定出子囊菌门和担子菌门，且子囊菌门为优势菌门，相对丰度分别为93.50%、96.22%、92.46%和99.93%，见图5（a）。在属水平上，4个稻谷样品内生真菌群落的相对丰度也有所差异，其中链格孢属相对丰度分别为39.85%、79.77%、52.24%和91.51%，为优势菌属。与E0稻谷相比，E15稻谷中链格孢属和毛球腔菌属（*Setosphaeria*）的相对丰度分别增加51.66%和4.65%，而帚枝霉属相对丰度下降26.99%，见图5（b）。内生真菌群落中链格孢属相对丰度与表生真菌变化一致，而帚枝霉属变化趋势与表生真菌相反。

E0、E5、E10和E15样品中真菌群落ASV数目分别为80、63、56、50个，各组样品共有的ASV数目为4个，E0稻谷中特有的ASV数目为48个，而E5、E10和E15稻谷中特有的ASV数目依次为42、31、35个。随着储藏时间延长，仓储稻谷中内生真菌群落丰富度总体呈下降趋势。利用LEfSe差异分析鉴定仓储稻谷内生真菌群落的标志菌属，结果见图5（c）~（d）。比较E0和E15稻谷可知，E0稻谷中差异显著标志菌属为粪壳菌纲（Sordariomycetes），属水平上标志菌属为帚枝霉属，种水平上标志菌属为稻帚枝霉；E15稻谷中差异显著标志菌属为座囊菌纲（Dothideomycetes），属水平上标志菌属为链格孢属。因此，可根据稻谷内生真菌帚枝霉属和链格孢属的相对丰度来区分初入库稻谷和仓储稻谷。此外，链格孢属可以产生具有强毒性的交链格孢酚等多种链格孢毒素，危害粮食质量安全和人类健康[22]，故应将其作为稻谷储藏中的重点防控对象。

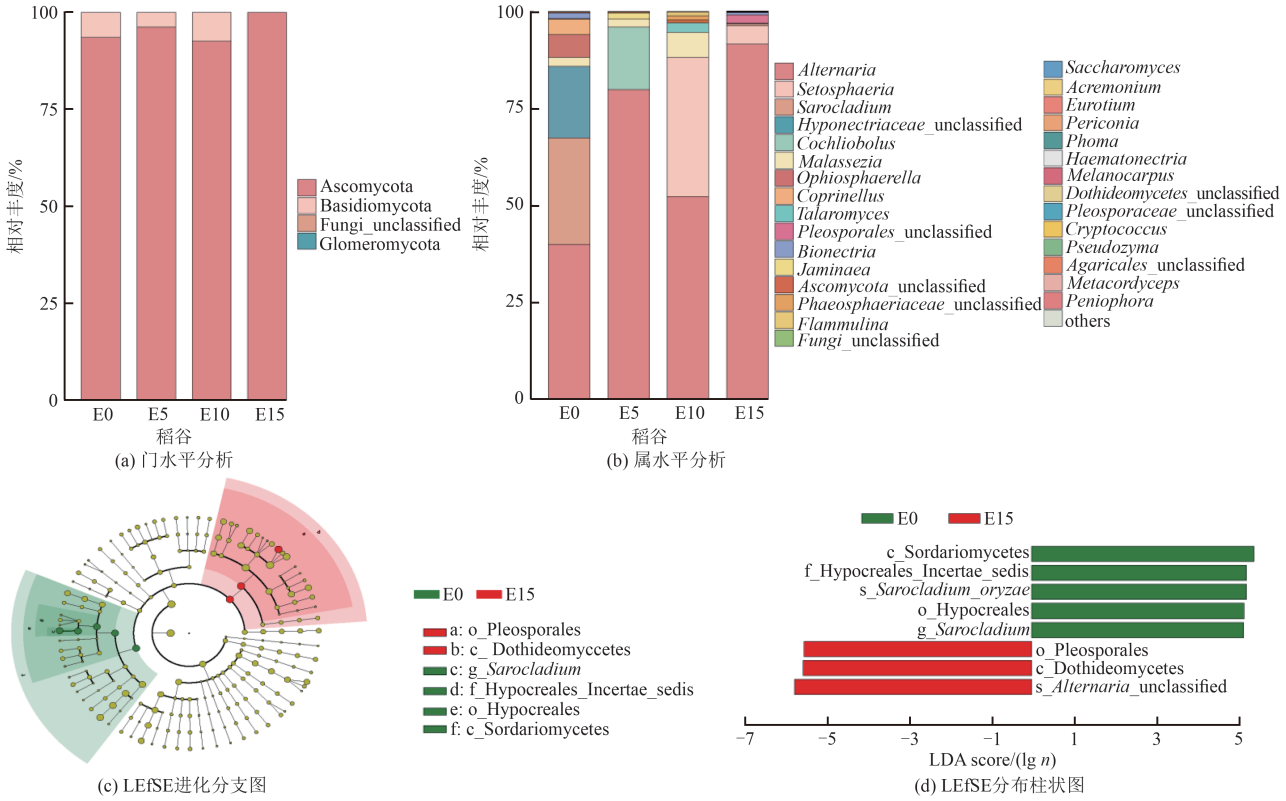


图5　仓储稻谷内生真菌群落多样性分析

Fig. 5　Analysis of endophytic fungal diversity in rice under granary storage

2.4　模拟储藏稻谷真菌群落多样性特征及差异分析

2.4.1　模拟储藏稻谷的表生真菌分析

作者所在课题组前期根据储藏时间和脂肪酸值将模拟储藏稻谷分为宜存稻谷（初始稻谷，M0），轻度不宜存稻谷（相对湿度 80% 条件下储藏 1 个月，M1）和重度不宜存稻谷（相对湿度 80% 条件下储藏 3 个月，M3）[23]。对模拟储藏稻谷表生真菌多样性进行分析，并将其分别命名为 SM0、SM1 和 SM3。SM0 稻谷优势表生真菌为链格孢属（14.32%），SM1 稻谷优势表生真菌为单胞菌属（*Monosporascus*，13.69%），SM3 稻谷优势表生真菌为节担菌属（30.2%）、嗜热子囊菌属（*Thermoascus*，28.28%）和曲霉属（15.01%），见图 6（a）~（b）。

SM0、SM1 和 SM3 稻谷表生真菌 ASV 数目分别为 91、89、154 个。3 种稻谷共有的 ASV 数目仅有 11 个，SM3 稻谷特有的 ASV 数目最多，为 125 个；SM0 和 SM1 稻谷特有的 ASV 数目分别为 71、65 个。经 LEfSe 差异分析，SM0 中无差异显著标志菌属，SM1 中仅有变黑轮枝菌（*Gibellulopsis nigrescens*）为标志菌属，即该菌株在 SM1 中相对丰度显著高于 SM0 和 SM3（$P<0.05$）。SM3 样品中差异显著标志菌属包括节担菌属、匍匐曲霉（*Aspergillus reptans*）和帚状曲霉（*Aspergillus penicillioides*），与 SM3 稻谷中表生真菌的优势菌属一致，见图 6（c）~（d）。另外，曲霉属真菌能够合成具有高毒性和致畸、致癌的黄曲霉毒素，是导致粮食腐败的主要真菌[24-25]，而节担菌属是对化学防腐剂具有抗性的腐败菌[26]，表明 SM3 稻谷中表生真菌以腐败菌为主。

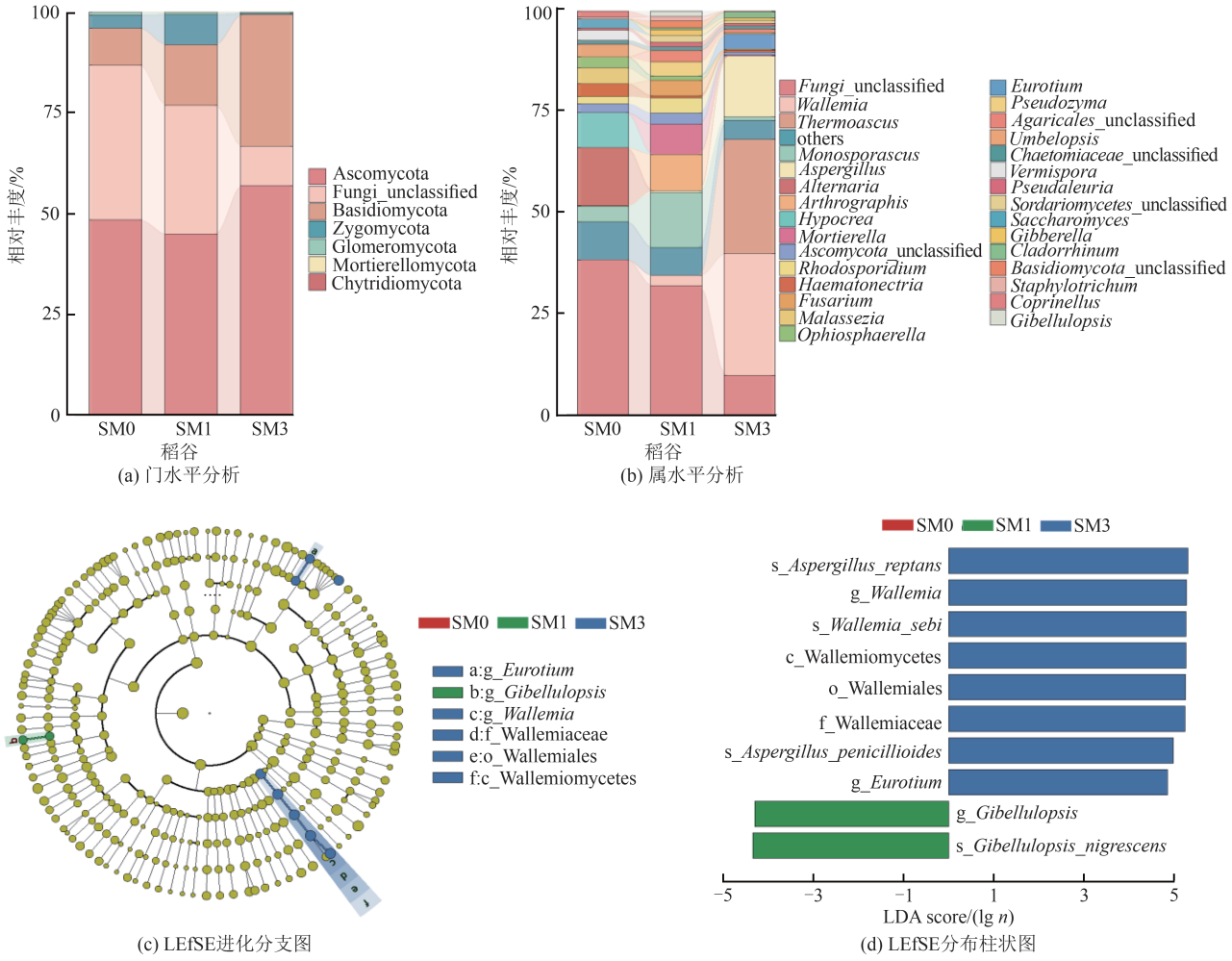


图 6　模拟储藏稻谷表生真菌群落差异分析

Fig. 6　Analysis of surface fungal community differences in rice under simulated storage

2.4.2　模拟储藏稻谷的内生真菌分析

分析3种模拟储藏稻谷EM0、EM1和EM3的内生真菌群落多样性特征发现，3种稻谷Chao1指数分别为50.90、55.83和38.67，表明随着储藏时间延长，稻谷内生真菌丰富度先略微增长后下降。不同储藏时间样品的Shannon指数分别为2.44、2.08和2.58，但各组之间无显著差异（P>0.05）。通过PCoA测定的Beta多样性发现，EM0、EM1和EM3稻谷离散程度较高，说明不同模拟储藏时间稻谷的内生真菌群落特征存在差异。

测序结果见图7。3种稻谷内生真菌群落可分为3个门、12个纲、18个目、26个科、32个属、34个种。在门水平上，3种稻谷样品中共鉴定出3个真菌门，主要以子囊菌门为主，在EM0、EM1和EM3稻谷中相对丰度分别为96.80%、99.94%和99.86%。在属水平上，3种稻谷优势菌属有所区别，其中EM0样品中链格孢属、暗球腔菌属（*Phaeosphaeriopsis*）、帚枝霉属和赤霉属（*Gibberella*）为优势菌属，其相对丰度分别为23.85%、17.85%、15.94%和15.35%。EM1样品中优势菌属赤霉属、球腔菌属（*Phaeosphaeria*）和异旋孢腔菌属的相对丰度分别为50.94%、15.98%和14.97%。EM3样品中链格孢属、毛球腔菌属和曲霉属为优势菌属，相对丰度分别为32.32%、17.29%和8.70%。随着模拟储藏时间的延长，链格孢属、毛球腔菌属和曲霉属的相对丰度增加，而帚枝霉属相对丰度显著下降。结果表明，内生真菌丰富度随稻谷储藏品质下降而显著变化，与Zhong等[27]报道的荞麦中内生真菌差异相似。

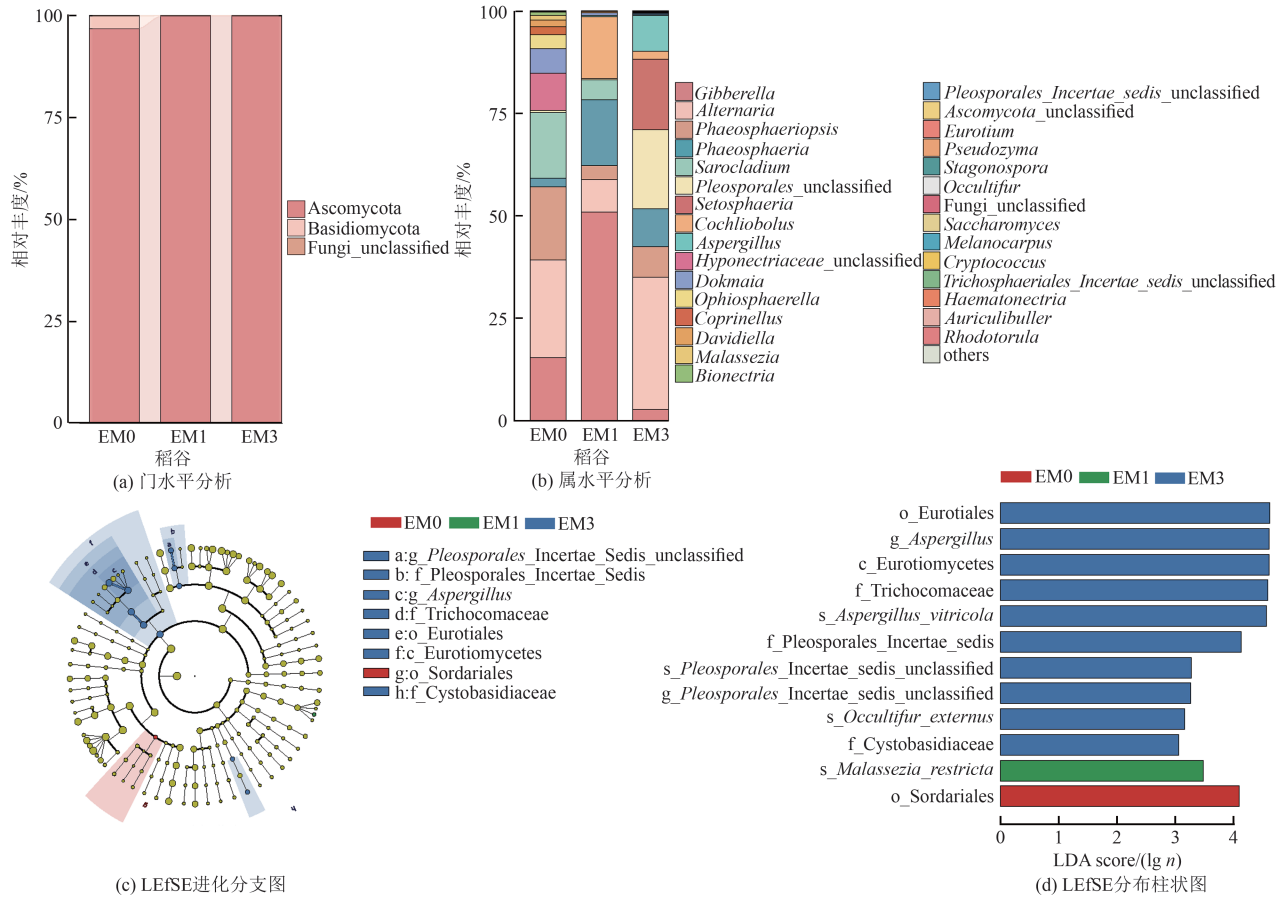


图7　模拟储藏稻谷内生真菌群落多样性分析

Fig. 7　Analysis of endophytic fungal diversity in rice under simulated storage

EM0、EM1和EM3中ASV数目分别为116、121、53个，各组样品共有的ASV数目为13个，EM0、EM1和EM3中特有的ASV数目分别为85、91、27个。利用LEfSe差异分析发现，EM0稻谷中粪壳菌目为标志菌属，在属水平上无差异显著标志菌属。EM1样品中限制性马拉色菌（*Malassezia restricta*）相对丰度显著高于其他2种稻谷（P<0.05）。EM3中*Occultifur externus*和曲霉

属中 *Aspergillus vitricola* 的相对丰度显著高于EM0和EM1样品（$P<0.05$），鉴定为EM3稻谷的标志菌属。可见，模拟储藏稻谷中内生真菌群落丰富度总体呈先上升后下降趋势，同表生真菌群落特征一致，模拟储藏3个月稻谷中显著富集了具有产毒能力的曲霉属。

2.5 稻谷表生真菌和内生真菌群落特征的比较

在15个月储藏期间，仓储稻谷表生真菌和内生真菌中子囊菌门均为优势菌门。比较初入库稻谷表生真菌类群和内生真菌类群的属水平差异，发现相对丰度前30的真菌属中都有链格孢属、马拉色菌属（*Malassezia*）、鬼伞属（*Coprinellus*）、赤壳属（*Haematonectria*）和酵母菌属（*Saccharomyces*），其中链格孢属表生和内生真菌的相对丰度分别为14.34%和39.85%。分析储藏15个月仓储稻谷中2类真菌群落发现，相对丰度前30的真菌属中都有链格孢属、马拉色菌属、异旋孢腔菌属和帚枝霉属。2类真菌群落中链格孢属相对丰度分别为30.53%和91.51%，而S15的特有菌属为假丝酵母菌（5.30%），E15的特有菌属为毛球腔菌属（4.76%）。Spearman相关性分析显示，仓储稻谷中表生链格孢属与内生假酵母属（*Pseudozyma*）呈负相关，而表生掷孢酵母属（*Sporobolomyces*）与内生稻绿核菌属（*Villoslclava*）呈正相关（$P<0.05$），见图8。

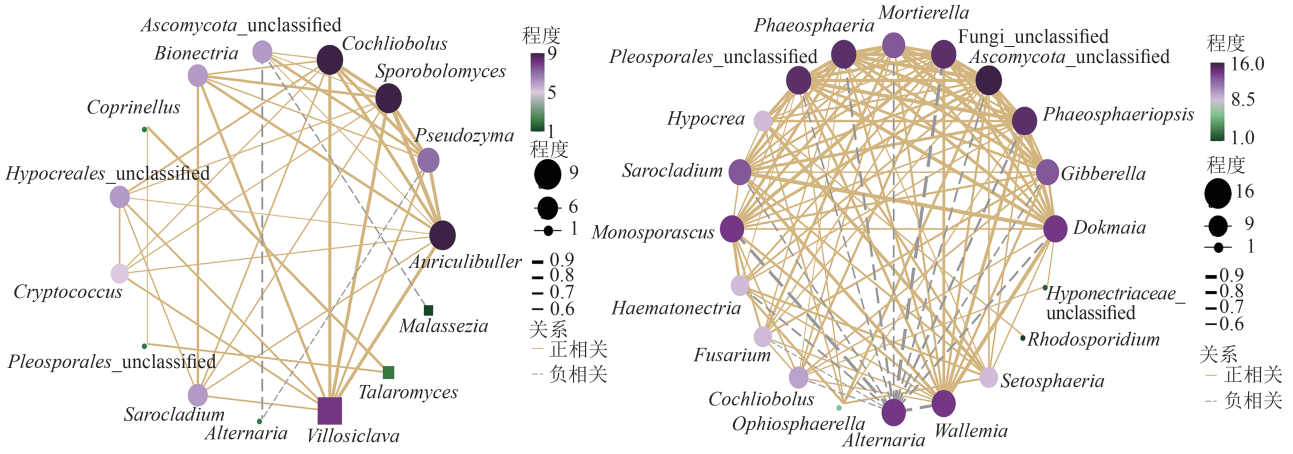
比较不同时期模拟储藏稻谷中2类真菌的多样性。SM0和EM0中都存在链格孢属、曲霉属、鬼伞属、赤壳属、马拉色菌属和酵母菌属。其中，链格孢属为优势菌属，在表生和内生真菌中相对丰度分别为14.32%和23.85%。初始稻谷中相对丰度较高的表生真菌还包括肉座菌属（8.67%）、马拉色菌属（3.99%）、单胞菌属（3.87%），而相对丰度较高的内生真菌则为暗球腔菌属（17.85%）、帚枝霉属（15.94%）、赤霉属（15.35%）。模拟储藏3个月的样品，表生和内生真菌相对丰度前30的真菌属中均存在链格孢属、曲霉属、散囊菌属（*Eurotium*）、*Ophiosphaerella* 和假酵母属。曲霉属在表生真菌中相对丰度为15.01%，而在内生真菌中为8.70%。SM3稻谷的特有优势菌属包括节担菌属（30.20%）、嗜热子囊菌属（28.28%），而EM3样品的特有优势菌属有链格孢属（32.32%）、毛球腔菌属（17.29%）。如图8所示，两者相关性分析表明，表生真菌帚枝霉属与内生真菌节担菌属和球腔菌属呈正相关（$P<0.05$），表生链格孢属与内生单胞菌属和节坦菌属呈负相关（$P<0.05$）。

可见，2种储藏方式下稻谷表生真菌和内生真菌共有优势菌属为链格孢属，且在内生真菌中比例更高。表明稻谷在储粮环境压力下生理状态的变化为该菌属创造了有利生态位，除了与稻谷在储藏过程中养分持续分解和结构性屏障削弱有关，也与病原真菌通过特殊的生物学特性侵入和定植有关，如形成内生孢子、产生植酸酶和真菌毒素以及在细胞间移动[27-29]。高通量测序结果显示，在属水平上仓储稻谷菌属中帚枝霉属、毛球腔菌属等比可培养霉菌的多样性更高，可能与部分霉菌难以培养有关[30]。另外，模拟储藏3个月稻谷的优势菌群转变为曲霉属，且可培养链格孢霉和曲霉的相对丰度明显低于高通量测序结果，且未分离到节担菌属、肉座菌属等霉菌，表明传统培养法结合培养非依赖法能更客观地评价实际真菌群落的组成[31]。

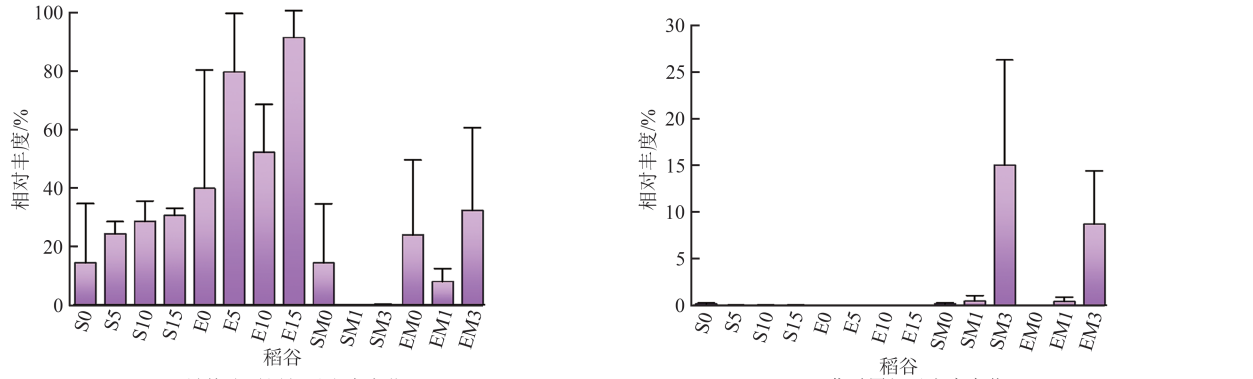
2.6 仓储稻谷和模拟储藏稻谷关键真菌相对丰度比较

2种储藏稻谷样品中主要霉菌的相对丰度存在明显差异，见图8。链格孢属是仓储稻谷表生和内生真菌中相对丰度最高的菌属，分别为14.33%~30.53%和39.85%~91.51%，且随着储藏时间延长而增加。仓储稻谷样品中曲霉属较为少见（<1%），与粮仓中环境湿度较低有关。在20 ℃、相对湿度80%环境下，模拟储藏稻谷受到链格孢霉和曲霉的共同污染，这是2种真菌孢子附着于稻谷上并在适宜储藏环境下萌发造成的[32]，且这2种真菌属均会产生具有致畸、致癌性的交链孢酚和黄曲霉毒素，危害人体健康。其中，链格孢属（<32.32%）为模拟储藏稻谷中表生真菌和内生真菌共有优势菌属，曲霉属相对丰度则随着模拟储藏时间延长而逐步上升，模拟储藏3个月稻谷表生真菌和内生真菌中曲霉属相对丰度均最高，表明高湿环境可促进曲霉属生长[33]。另外，腐皮镰刀菌主要富集在所有稻谷样品的表生真菌中，且在2种储藏样品中均随储藏时间延长而逐渐减少，相对丰度分别下降至3.10%和2.46%。该菌已被证实与稻谷中DON毒素的积累有关[34]。此外，仓储稻谷和模拟储藏稻谷真菌群落特征存在差异，可能是模拟稻谷储藏在高温

高湿环境所致。通过模拟试验已证实，高湿水稻受高温影响后，稻谷籽粒在24~48 h内温度上升，当粮堆的高湿度区域受到高温影响时，在72 h内周围湿度会显著增加。在相对湿度97%的模拟储藏条件下，会造成38.98%细菌群落和15.74%真菌群落发生改变[8]。



(a) 仓储稻谷相关性分析　　(b) 模拟储藏稻谷相关性分析



(c) 链格孢霉属相对丰度变化　　(d) 曲霉属相对丰度变化

图8　稻谷样品中表生真菌和内生真菌相关性分析及关键霉菌相对丰度

Fig. 8　Correlations between surface and endophytic fungal communities and relative abundance of key mold in rice samples

3　结论

随着储藏时间的延长，仓储稻谷和模拟浙江高湿环境储藏稻谷的霉菌总数均呈上升趋势，2种储藏稻谷中可培养的优势霉菌种类存在差异，主要优势霉菌分别为弯孢霉属和青霉属。高通量测序结果显示，仓储稻谷表生真菌和内生真菌优势菌属均以链格孢属为主，其相对丰度随时间延长而上升；而在模拟储藏条件下，初始稻谷中同样以链格孢属为主，在模拟储藏3个月稻谷中优势菌属转变为曲霉属，这表明储藏湿度是影响真菌群落演替的关键因素，并且高湿度条件下稻谷受到产毒真菌污染的风险更高。因此，控制储藏环境的湿度对保证稻谷质量和减少霉变及毒素积累至关重要。此外，虽然传统认为仓储稻谷中青霉属和曲霉属为主要污染菌，但本研究表明，在常规仓储条件下链格孢属可能成为优势菌群；同时补充了高湿环境下促进真菌群落向曲霉属等产毒真菌转变的实证数据。然而，本研究仍存在一定局限性，未来可进一步探讨不同地理区域的仓储真菌分布特征、真菌群落演替与毒素积累的关联机制。

参考文献

[1] ALHENDI A S, ALI A M, MOHAMMED A K. Microbial quality of paddy fields at alfurat alawsat area, Iraq and the effect of milling process on the rice contamination level[J]. Baghdad Science Journal, 2023,20(6):2106-2113.

[2] 祁智慧，张海洋，田琳，等. 粮食真菌群落组成及多样性研究进展[J]. 中国粮油学报，2022，37(5)：24-31.
QI Z H，ZHANG H Y，TIAN L，et al. Research progress in community composition and diversity of fungi from the grain [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association，2022，37(5)：24-31.(in Chinese)

[3] KATSURAYAMA A M，MARTINS L M，IAMANAKA B T，et al. Fungal communities in rice cultivated in different Brazilian agroclimatic zones：from field to market [J]. Food Microbiology，2020，87：103378.

[4] QIU Z Z，WU F H，HU H，et al. Deciphering the microbiological mechanisms underlying the impact of different storage conditions on rice grain quality [J]. Foods，2024，13(2)：266.

[5] HE P H，HASSAN M M，TANG F，et al. Total fungi counts and metabolic dynamics of volatile organic compounds in paddy contaminated by *Aspergillus niger* during storage employing gas chromatography-ion mobility spectrometry[J]. Food Analytical Methods，2022，15(6)：1638-1651.

[6] 牛灿杰，叶素丹，胡玉霞，等. 谷物及制品中真菌毒素前处理及检测技术研究进展[J]. 食品与机械，2023，39(5)：203-210，240.
NIU C J，YE S D，HU Y X，et al. Research progress in detection technologies of mycotoxins in cereals and cereal-based products[J]. Food & Machinery，2023，39(5)：203-210，240.(in Chinese)

[7] QI Z H，ZHOU X，TIAN L，et al. Temporal and spatial variation of microbial communities in stored rice grains from two major depots in China [J]. Food Research International，2022，152：110876.

[8] CHAI Q Q，LI Y，LI X L，et al. Assessment of variation in paddy microbial communities under different storage temperatures and relative humidity by Illumina sequencing analysis [J]. Food Research International，2019，126：108581.

[9] AYILARA M S，ADELEKE B S，BABALOLA O O. Bioprospecting and challenges of plant microbiome research for sustainable agriculture，a review on soybean endophytic bacteria[J]. Microbial Ecology，2023，85(3)：1113-1135.

[10] CHEN F，WANG X J，QIU G P，et al. Establishment and validation of a new analysis strategy for the study of plant endophytic microorganisms[J]. International Journal of Molecular Sciences，2022，23(22)：14223.

[11] STRANSKA M，DZUMAN Z，PRUSOVA N，et al. Fungal endophytes of *Vitis vinifera*：plant growth promoters or potentially toxinogenic agents?[J]. Toxins，2022，14(2)：66.

[12] HUANG T，GUO S Q，LI W T，et al. Temporal and spatial variation of bacterial and fungal communities in rice grains during depot storage[J]. LWT-Food Science and Technology，2024，196：115842.

[13] 和肖营，吕冲，都立辉，等. 稻谷原粮中真菌多样性研究[J]. 粮食储藏，2020，49(1)：33-40.
HE X Y，LYU C，DU L H，et al. Research on the fungal diversity in raw rice[J]. Grain Storage，2020，49(1)：33-40.(in Chinese)

[14] LI W T，CUI J，LI J F，et al. Analysis of the fungi community variation during rice storage through high throughput sequencing[J]. Processes，2022，10(4)：754.

[15] 赖泽萍，王婷，朱军莉，等. GM稻米镰刀菌毒素安全性评估及内生真菌类群成因分析[J]. 中国粮油学报，2024，39(5)：46-53.
LAI Z P，WANG T，ZHU J L，et al. Safety evaluation of *Fusarium* toxin in GM rice and analysis of endophytic fungus [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association，2024，39(5)：46-53.(in Chinese)

[16] DU J，LIN Y X，GAO Y，et al. Nutritional changes and early warning of moldy rice under different relative humidity and storage temperature[J]. Foods，2022，11(2)：185.

[17] 祁智慧，周欣，张海洋，等. 中国稻谷可培养真菌群落组成及多样性[J]. 菌物学报，2020，39(4)：683-694.
QI Z H，ZHOU X，ZHANG H Y，et al. Community composition and diversity of culturable fungi from the rice grains in China[J]. Mycosystema，2020，39(4)：683-694.(in Chinese)

[18] ZHAO W C，HONG S Y，KIM J Y，et al. Effects of temperature，pH，and relative humidity on the growth of *Penicillium paneum* OM1 isolated from pears and its patulin production[J]. Fungal Biology，2024，128(4)：1885-1897.

[19] 李欣蔚. 基于高通量测序探究东北粳稻储藏期间真菌群落的演替[J]. 现代食品科技，2022，38(7)：98-106.
LI X W. High-throughput sequencing-based analysis of the succession of fungal communities during the storage of northeast Japonica rice[J]. Modern Food Science and Technology，2022，38(7)：98-106.(in Chinese)

[20] 葛志文，周建新，方勇，等. 不同储藏年限稻谷真菌群落多样性与优势菌属探究[J]. 中国粮油学报，2021，36(3)：129-134.

GE Z W，ZHOU J X，FANG Y，et al. Diversity and dominant genera of rice fungal communities with different storage periods[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association，2021，36(3)：129-134.(in Chinese)

[21] 曾育聪，黄昌兴，肖丽慧，等. 仓储稻谷真菌及其群落变化的研究进展[J]. 粮油仓储科技通讯，2023，39(6)：45-48.
ZENG Y C，HUANG C X，XIAO L H，et al. Research progress on fungi and their community changes in stored rice[J]. 1，2023，39(6)：45-48.(in Chinese)

[22] 陈新悦，孟佳佳，郭文博，等. 继代培养对链格孢菌生长及产毒的影响[J]. 食品安全质量检测学报，2024，15(1)：92-101.
CHEN X Y，MENG J J，GUO W B，et al. Influences of subculture on the growth and *Alternaria* toxins production of *Alternaria alternata*[J]. Journal of Food Safety & Quality，2024，15(1)：92-101.(in Chinese)

[23] WANG T，CHANG G L，SHI H H，et al. Lipidomics reveals quality deterioration and fungal succession of rice under different humidity and brown rice rates[J]. LWT-Food Science and Technology，2024，206：116618.

[24] AKBAR Q U A，ARIF S，SAHAR N，et al. Investigating the effects of grain quality，processing and environmental conditions on aflatoxin contamination in rice[J]. Journal of Food Composition and Analysis，2024，127：105982.

[25] 倪正，张黎黎. 暹罗芽孢杆菌DY3123的分离、鉴定及其降解黄曲霉毒素B1的效果研究[J]. 食品与生物技术学报，2024，43(12)：71-80.
NI Z，ZHANG L L. Isolation，identification of *Bacillus siamensis* DY3123 and its degradation effect on aflatoxin B1[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43(12)：71-80.(in Chinese)

[26] KANJ A N，GUIANCE I R，KOTTOM T J，et al. The intestinal commensal fungus *Wallemia mellicola* enhances asthma in mice through Dectin-2[J]. Medical Mycology，2024，62(2)：myae004.

[27] ZHONG L Y，NIU B，XIANG D B，et al. Endophytic fungi in buckwheat seeds：exploring links with flavonoid accumulation[J]. Frontiers in Microbiology，2024，15：1353763.

[28] CHEN Y Q，SU K Q，LI C J，et al. Interactive effects of *Epichloë* endophyte，dormancy-breaking treatments and geographic origin on seed germination of *Achnatherum inebrians*[J]. Microorganisms，2021，9(11)：2183.

[29] MURAWSKA-WLODARCZYK K，KORZENIAK U，CHLEBICKI A，et al. Metalliferous habitats and seed microbes affect the seed morphology and reproductive strategy of *Arabidopsis halleri*[J]. Plant and Soil，2022，472(1)：175-192.

[30] LI X L，LI Y J，WANG Y Y，et al. Methodology comparison of environmental sediment fungal community analysis[J]. Environmental Research，2024，263：120260.

[31] 李文芝，段维军，周欣，等. 小麦种子内携真菌多样性研究[J]. 菌物学报，2021，40(3)：487-501.
LI W Z，DUAN W J，ZHOU X，et al. Diversity of fungi in wheat seeds[J]. Mycosystema，2021，40(3)：487-501.(in Chinese)

[32] 岳晓禹，张华，陈威凤，等. 应用高通量测序技术检测小麦储藏过程中真菌群落的变化[J]. 食品科学，2020，41(14)：109-115.
YUE X Y，ZHANG H，CHEN W F，et al. Using high-throughput sequencing to study the development of fungal community in stored wheat[J]. Food Science，2020，41(14)：109-115.(in Chinese)

[33] ZHANG X J，XIAO Q Q，WANG X，et al. Seasonal variations in physicochemical properties，volatile compounds，and microbial community structure of Dajiang fermented using a semi-controlled method[J]. Food Bioscience，2025，63：105791.

[34] SHI Q，LI Q Q，WU C L，et al. Deoxynivalenol damages corneal epithelial cells and exacerbates inflammatory response in fungal keratitis[J]. Mycopathologia，2024，189(2)：28.