

茯砖茶中金花菌群的研究进展

吕嘉莉, 杨柳青, 孟雁南

(陕西科技大学食品与生物工程学院, 陕西 西安 710021)

摘 要: 茯砖茶由多种微生物发酵而成, 属于我国特有的黑茶, 其风味独特, 长期饮用有益于人体健康。我国茯砖茶的主要产区有陕西、湖南、浙江、贵州等, 不同产区茯砖茶中均有大量金花菌群的存在, 但地域环境可影响茯砖茶金花菌群的组成, 而金花菌群及其组成又与茯砖茶品质风味和功能活性息息相关, 金花菌的数量也是茯砖茶品质检测的一项重要指标。目前对于金花菌群的分类鉴定大多是通过形态学或转录间隔区序列或18S rDNA等单一的方法, 但每种方法都有不同的种属鉴定结果, 存在较大差异, 且只通过某一种鉴定方法可能会出现偏差。因此, 茯砖茶中金花菌群的鉴定目前还存在较大争议, 从而影响茯砖茶地标性产品的评判。本文对茯砖茶中优势菌群的研究现状、金花菌的分类鉴定现状进行综述, 为茯砖茶中金花菌的鉴定、金花菌资源的开发和利用以及茯砖茶的标准化生产方面提供依据。

关键词: 茯砖茶; 金花菌; 散囊菌属; 曲霉属

Development of Golden Flower Fungus Community in Fuzhuan Brick Tea: A Review

LÜ Jiali, YANG Liuqing, MENG Yannan

(School of Food and Biological Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: Fuzhuan brick tea is fermented by a variety of microorganisms and belongs to the typical Chinese dark tea. It has a special flavor and long-term drinking is beneficial to human health. At present, the manufacturing areas of Fuzhuan brick tea in China mainly include Shaanxi, Hunan, Zhejiang and Guizhou provinces. There is a large number of "Golden Flower Fungi" in Fuzhuan brick tea from different manufacturing areas. The species composition of "Golden Flower Fungi" is closely related to the quality and functional activity of Fuzhuan brick tea, varying among different geographical regions. Meanwhile, the quantity of "Golden Flower Fungus" is also an important indicator of the quality of Fuzhuan brick tea. Currently, "Golden Flower Fungi" are identified mainly by a single method such as morphology, internal transcribed spacer or 18S rDNA, but each method gives different species identification results with a significant variance. Moreover, use of a single identification method may lead to deviation. Therefore, the identification of "Golden Flower Fungi" in Fuzhuan brick tea is still controversial, which affects the evaluation of landmark products of Fuzhuan brick tea. In this article, the current status of research on the dominant flora in Fuzhuan brick tea and the existing methods for the classification and identification of "Golden Flower Fungi" are reviewed, with the aim of providing the basis for the identification, exploitation and application of "Golden Flower Fungi" and for the standardized production of Fuzhuan brick tea.

Keywords: Fuzhuan brick tea; Golden Flower Fungi; *Eurotium*; *Aspergillus*

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190423-320

中图分类号: TS201.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2020) 09-0316-07

引文格式:

吕嘉莉, 杨柳青, 孟雁南. 茯砖茶中金花菌群的研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(9): 316-322. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190423-320. <http://www.spkx.net.cn>

LÜ Jiali, YANG Liuqing, MENG Yannan. Development of Golden Flower Fungus community in Fuzhuan brick tea: a review[J]. Food Science, 2020, 41(9): 316-322. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190423-320. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2019-04-23

基金项目: 陕西省重点研发计划项目 (2019NY-123)

第一作者简介: 吕嘉莉 (1964—) (ORCID: 0000-0002-5735-8455), 女, 教授, 硕士, 研究方向为食品微生物。

E-mail: lujl@sust.edu.cn

茯砖茶是中国传统发酵黑茶的代表,是我国独有且是真正意义上有微生物参与的全发酵茶。茯砖茶主要以黑毛茶为原料,经过汽蒸、渥堆、发花、干燥、包装等一系列复杂工艺由多种微生物发酵精制而成,其中发花是茯砖茶加工最关键的一步,决定着茯砖茶中优势菌的种类和数量^[1],也对茯砖茶的质量有重要作用。经过发花的茯砖茶内部有大量优势金花菌,可形成茯砖茶的黑茶花色和独特风味,具有多方面的促健康作用,如抗氧化、助消食、调节血脂、减肥、逆转动脉粥样硬化、促进肠道健康等^[2-5]。基于金花菌对茯砖茶的重要作用,研究者们对茯砖茶中金花菌的分类鉴定进行了大量研究,发现金花菌是一群形态结构相似、生理生化特性相近的微生物的统称,但其种属关系及命名尚无定论,目前较为认可的是冠突散囊菌为茯砖茶中的优势金花菌。此外,也有研究发现不同产地砖茶中优势金花菌的含量和种类相差较大^[6];同时,由于茯砖茶的加工较多基于传统工艺,对天然微生物的依赖性较大,导致不同批次甚至是同一批次生产的茯砖茶发花程度和品质良莠不齐,严重影响茯砖茶的品质和产量。且黑曲霉等其他霉菌的大量生长会引起茯砖茶的发花异常,金花菌数量无法达到国家规定标准,从而影响茯砖茶的品质,一些腐败微生物的生长也容易导致制茶的失败或者生产贮存过程中的霉变^[7],使得茯砖茶中有效成分降低,品质下降^[8],给消费者带来安全隐患。因此,只有茯砖茶的标准化生产才能保证并提高茯砖茶的品质及产量,这也是未来茯砖茶产业发展的必由之路,而茯砖茶标准化生产的关键点在于茯砖茶中优势金花菌的准确鉴定以及金花菌优质种质资源的筛选,这对茯砖茶品质检测、避免污染以及标准化生产有重要作用。本文将对茯砖茶中优势金花菌的分类鉴定现状进行综述。

1 茯砖茶中优势菌群的研究现状

茯砖茶加工过程中的发花工艺是形成茯砖茶独特品质的关键,研究发现茯砖茶发花过程是多种微生物共同参与的^[9-10],这些微生物有的本来存在于茶叶表面,有的是在后期加工工艺中自然生长的,而金花菌是在发花过程中逐渐成为茯砖茶中的优势菌。自19世纪40年代开始,就有学者对茯砖茶中的优势菌进行研究,但对于茯砖茶中的优势金花菌群的鉴定一直存在争议。

仓道平等^[11]采用平板分离法从湖南茯砖茶中分离出的优势微生物为舍氏曲霉(*Aspergillus chevalieri*),属于曲霉属灰绿曲霉群,可形成茯砖茶表面的金花,此外还分离出了少量的黑曲霉(*A. niger*)、青曲霉(*Penicillium frequens*)、白曲霉(*Penicillium sp.*)。温琼英^[12]研究也发现曲霉属灰绿曲霉群中的*A. chevalieri*是湖南茯

砖茶中的优势微生物,占茯砖茶所有霉菌总数的90%以上。梁晓岚^[13]认为四川茯砖茶中优势金花菌为冠突曲霉(*A. cristatus*)和舍氏曲霉(*A. chevalieri*),而黑曲霉(*A. niger*)等其他霉菌仅占霉菌总数的10%左右。赵仁亮等^[14]发现陕西、湖南、浙江地区茯砖茶样品中优势菌群为金花菌,并通过形态学观察、转录间隔区序列(internal transcribed spacer, ITS)和 β -tubulin系列的系统发育分析将金花菌鉴定为曲霉属,鉴定陕西、湖南茯砖茶中优势菌群为冠突曲霉(*A. cristatus*),浙江产区茯砖茶优势金花菌为谢瓦曲霉(*A. chevalieri*)。之后又通过高通量测序技术发现了曲霉属在茯砖茶中占优势,而金花菌则是曲霉属内的主要菌群^[7],Rui Ying等^[15]也通过Illumina Miseq技术得到了相同的结果。

以上研究者认为,不同产区茯砖茶中的优势金花菌属于曲霉属内的真菌,其中茯砖茶中的优势金花菌主要有*A. cristatus*和*A. chevalieri*。而赵仁亮等^[16]则认为茯砖茶中的优势金花菌为散囊菌属内的真菌,冠突散囊菌(*Eurotium cristatum*)是金花菌中的优势菌,但还有谢瓦散囊菌(*E. chevalieri*)、间型散囊菌(*E. intermedius*)、匍匐散囊菌(*E. repens*)、阿姆斯特丹散囊菌(*E. amstelodami*)、赤散囊菌(*E. rubrum*)和蜡叶散囊菌(*E. herbariorum*)等其他散囊菌的组成。

对于茯砖茶中优势菌群的研究主要集中在湖南产区的茯砖茶,赵仁亮^[17]和张浩^[18]等采用平板分离鉴定的方法发现湖南茯砖茶中优势金花菌是散囊菌属真菌,黑曲霉和青霉是天然发花茯砖茶中出现频率较高的微生物,但含量较少。刘石泉^[19]采用平板梯度稀释法从湖南茯砖茶中分离出了蜡叶散囊菌(*E. herbariorum*)、产紫青霉(*P. purpurogenum*)、产黄青霉(*P. chrysogenum*)、青霉(*Penicillium sp.*)和酱油曲霉(*A. sojae*),其中*E. herbariorum*是优势金花菌,其余为非优势菌,含量相对少。胡治远等^[20]根据微生物经典鉴定法发现湖南产区茯砖茶样品中优势微生物为散囊菌属内的真菌,主要有冠突散囊菌(*E. cristatum*)、谢瓦散囊菌(*E. chevalieri*)、肋状散囊菌(*E. costiforme*)、阿姆斯特丹散囊菌(*E. amstelodami*)和蜡叶散囊菌(*E. herbariorum*),其次还有黑曲霉(*A. niger*)的存在。Xu Aiqing等^[21]采用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳(polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis, PCR-DGGE)技术发现湖南茯砖茶中主要微生物是散囊菌属中的冠突散囊菌(*E. cristatum*)。文杰宇^[22]结合传统分离纯化及PCR-DGGE技术发现湖南茯砖茶样品中优势微生物为金花菌,主要由冠突散囊菌(*E. cristatum*)、蜡叶散囊菌(*E. herbariorum*)、赤散囊菌(*E. rubrum*)和匍匐散囊菌(*E. repens*)等散囊菌属真菌组成。宋伟^[23]通过形态学及ITS序列比对,发现散囊菌属内的*E. cristatum*和

*E. amstelodami*是茯砖茶中的优势金花菌,还有少量塔宾曲霉(*A. tubingensi*)、斑点青霉(*P. meleagrinum*)和泡盛曲霉(*A. awamori*)。

对于其他产区茯砖茶中优势菌群的研究报道较少,丁婷^[24]通过形态学及ITS序列鉴定发现陕西茯砖茶优势金花菌为冠突散囊菌(*E. cristatum*)。吕嘉桢等^[25-26]根据陕西茯砖茶中金花菌的孢子形态、ITS及18S rDNA序列分析,认为陕西茯砖茶中优势金花菌有*E. chevalieri*、*E. cristatum*、*E. amstelodami*、*E. costiforme* 4种,但ITS序列在该属内保守。阮林浩^[27]通过平板分离法发现浙江茯砖茶主要为冠突散囊菌(*E. cristatum*)。

以上研究者通过传统平板分离鉴定、ITS序列鉴定、18S rDNA序列鉴定、 β -tubulin序列鉴定、PCR-DGGE、Illumina Miseq测序技术等多种方法对茯砖茶中的优势菌群进行了分析,其中研究最多的是湖南产区茯砖茶中的优势菌,对四川、浙江产区茯砖茶中的菌群也有研究,对陕西产区茯砖茶中的优势菌群研究较少。研究结果发现不同产区茯砖茶中的优势菌群都是金花菌,金花菌是形态学及功能性相似的特定菌群,由于研究者对该菌群的鉴定大多运用的是单一的分类鉴定方法,且每种方法的分辨率不同,所以不同的鉴定方法有不同的属名及种名鉴定结果,导致对这个菌群的种属鉴定结果尚未有定论,给金花菌的科学命名带来混乱。

2 茯砖茶中金花菌的鉴定

根据目前茯砖茶中金花菌的研究现状,分析得出茯砖茶中金花菌组成多样,且并非传统上认为的冠突散囊菌(*E. cristatum*),而是由多种目前分类归在散囊菌属和曲霉属曲霉组内的菌群组成,这些菌形态结构相近、生理生化特性相似,是茯砖茶中特定存在的微生物,且*E. cristatum*是金花菌中的主要菌种,其他散囊菌在金花菌中的占比不同,金花菌中微生物的组成和含量对茯砖茶的品质也会产生影响。所以对金花菌进行准确的鉴定是有效区分茯砖茶中优势菌群的重要环节,也可为茯砖茶产业菌种的稳定性和优良性提供依据。但目前研究者对金花菌的属名及种名的鉴定结果并不一致,对茯砖茶中金花菌的属名及种名鉴定现状如下。

2.1 茯砖茶中金花菌的属名鉴定

茯砖茶中金花菌的属名有其发展历程,且在鉴定时存在属一级的分歧,主要分歧为曲霉属(*Aspergillus*)和散囊菌属(*Eurotium*)两种。传统上金花菌的鉴定是以形态学为依据的,金花菌兼具有性型和无性型两种繁殖特征,且金花菌的有性和无性繁殖特征需要通过不同条件诱导才可出现,最早徐国桢由于未观察到有性形态,仅根据分生孢子梗有隔膜初步将茯砖茶中的金花菌归为曲

霉属灰绿曲霉群(*Aspergillus glaucus* Group),并将其称为黄霉菌^[28]。

胡建程等^[29]认为茯砖茶中的黄霉菌可能是灰绿曲霉黄色粉末状的有性孢子,但也有可能是米曲霉的黄色粉末状孢子,故而仅将茯砖茶中分离到的黄霉菌鉴定为曲霉属(*Aspergillus*),并未鉴定到种。之后,胡建程等^[30]确定了茯砖茶中的优势菌为曲霉属灰绿曲霉群。在之后的几年中,研究者均参考Powell等^[31]的*The Genus Aspergillus*,将分离得到的金花菌归为曲霉属灰绿曲霉群。齐祖同等^[32]认为金花菌既可产生有性型,也可产生无性型,按国际植物命名法规,真菌分类的主要依据是有性繁殖的方式,所以它的正确名称应当是以有性型来命名,而该专著违反了当时的国际植物命名法规,从而将金花菌归为散囊菌属(*Eurotium*)。刘作易^[33]在其金花菌研究进展综述中,认同了齐祖同等将茯砖茶中金花菌归为散囊菌属,尹旭敏^[34]采用形态学方法分离出了茯砖茶中的优势金花菌,根据其有性繁殖特征和无性繁殖特征,将无性型鉴定为曲霉属,有性型鉴定为冠突散囊菌,分类学归属为真菌界-子囊菌门-不整子囊菌纲-散囊菌目-散囊菌科-散囊菌属。自此,散囊菌这一属名逐渐被大家认可。2015年,王磊等^[35]以Hubka对曲霉属曲霉组的最新分类系统,将茯砖茶中金花菌归为曲霉属曲霉组。之后,有些学者将茯砖茶中金花菌归为曲霉属,而有些则仍然沿用散囊菌属,至今并未有定论。

2.2 茯砖茶中金花菌的种名鉴定

对于金花菌的种名,大多数学者认为金花菌即冠突散囊菌,但也有学者研究发现茯砖茶中金花菌的组成具有多样性,不同产区、不同发花季节茯砖茶金花菌中的散囊菌种类和组成有所差异^[36]。有些学者将金花菌归属在散囊菌属,茯砖茶中常见的有*E. cristatum*、*E. amstelodami*、*E. chevalieri*、*E. intermedius*、*E. repens*、*E. herbariorum*、*E. costiforme*、*E. rubrum*;有些学者则将同种的金花菌归在曲霉属,相对应的分别为*A. cristatus*、*A. amstelodami*、*A. chevalieri*、*A. intermedius*、*A. pseudoglaucus*、*A. glaucus*、*A. costiformis*、*A. ruber*,可以看出有的菌虽然种名一致,但属名存在争议,如*E. amstelodami*和*A. amstelodami*,有的菌其种名和属名都不一致,如*E. cristatum*和*A. cristatus*等。这些金花菌的培养特征为金黄色或近似黄色,均可产生黄色闭囊壳,子囊孢子表面光滑或具不同纹饰;其无性型大多为灰绿色的分生孢子头,肉眼观察差异较小,高分辨率电子显微镜可观察到差异。

金花菌种名的鉴定与其属名的命名历程有关,胡建程等^[29-30]对茯砖茶中霉菌进行研究时,根据显微镜下子囊果的形态将其鉴定为灰绿曲霉(*A. glaucus*),并确定了与茯砖茶品质息息相关的金花菌是*A. glaucus*的

有性繁殖特征。1981年, 仓道平等^[11]主要根据金花菌子囊果和子囊孢子光学显微特征将其鉴定为灰绿曲霉群的舍氏曲霉 (*A. chevalieri*)。1986年, 温琼英^[12]在扫描电子显微镜下观察到金花菌的有性孢子表面粗糙, 而谢瓦氏曲霉有性孢子表面光滑, 之后与齐祖同等^[32]对湖南茯砖茶优势菌的鉴定结果进行对比后, 认为金花菌种名应为冠突曲霉 (*A. cristatus*)。齐祖同^[32]和温琼英^[37]等研究认为金花菌是产生有性型 (子囊孢子阶段) 和无性型 (分生孢子阶段) 的全型真菌, 此菌的主要特征是具冠状突起及表面明显粗糙具小疣的子囊孢子和具小刺的分生孢子。根据冠突曲霉的有性型将其更名为冠突散囊菌 (*E. cristatum*), 而根据无性型命名为针刺曲霉 (*A. spiculosus*), 异名为小冠曲霉 (*A. cristatus*)。刘作易等^[38]在电子显微镜下观察到的金花菌分生孢子表面呈瘤状突起, 无刺, 这与齐祖同^[32]、温琼英^[37]等描述的分生孢子表面粗糙、具小刺的特征有所不同, 他根据 *The Genus Aspergillus* 中对灰绿曲霉群的描述, 将金花菌鉴定为谢瓦氏曲霉间型变种 (*A. chevalieri* var. *intermedius* Thom and Raper)。随后刘作易^[33]在其金花菌研究进展综述中, 认同了齐祖同将金花菌归为散囊菌属, 并将谢瓦氏曲霉间型变种 (*A. chevalieri* var. *intermedius* Thom and Raper) 的鉴定结果更名为间型散囊菌 (*E. intermedium* Blaser)。之后冠突散囊菌这一命名被人们所接受。2011年, 彭晓赞等^[39]根据湖南地区茯砖茶上金花菌的菌落以及子囊孢子、分生孢子的形态特征将其鉴定为冠突散囊菌 (*E. cristatum*), 他认为, 冠突散囊菌分生孢子是否光滑不是一个稳定的特征, 可能与放大倍数有关, 而分生孢子有无刺则与孢子发育程度有关。

以上研究对金花菌分种主要是根据子囊孢子和分生孢子的形态和大小, 且对于金花菌的分类鉴定主要集中在冠突散囊菌 (*E. cristatum*)、谢瓦氏曲霉 (*A. chevalieri*)、谢瓦氏曲霉间型变种 (*A. chevalieri* var. *intermedius*) 3 个种名, 冠突散囊菌与谢瓦氏曲霉间型变种的区别主要在于子囊孢子的大小, 而谢瓦氏曲霉与其他两者的区别在于分生孢子是否光滑, 但这有可能与孢子的成熟程度、培养方法和检测方法有关, 所以以形态学为依据进行鉴定具有很大的不确定性。近年来, 随着研究手段和研究方法的发展, 研究者们开始将生理生化及分子生物学应用于金花菌的分类鉴定中, 对“金花菌”有了更深入的认识。

王文涛^[40]以形态学方法、18S rDNA和ITS序列分析、酯酶同工酶分析对全国茯砖茶中金花菌进行了系统的分类研究, 他认为茯砖茶中优势菌群为冠突散囊菌, 且由于地域和环境的不同, 冠突散囊菌在形态上存在差异, 可能是其亚种或变种。黄浩等^[41-42]根据菌落菌体形态特征、ITS序列分析及18S rDNA序列分析将金花菌

鉴定为冠突散囊菌 (*E. cristatum*), 无性型为针刺曲霉 (*A. spiculosus* Blaser)。王磊等^[35]从广西和湖南产区的黑砖茶中分离出两株金花菌, 根据菌落形态和菌体形态特征, 结合 β -微管蛋白基因, 钙调节蛋白基因及RNA聚合酶II基因的多基因系统发育分析, 以Hubka对曲霉属曲霉组的最新分类系统, 将2株菌分别鉴定为假灰绿曲霉属 (*A. pseudoglaucus*)、冠突曲霉 (*A. cristatus*), 并认为应将之前报道的“金花菌”修订为冠突曲霉, 异名冠突散囊菌。谭玉梅等^[43]同样采用形态学和多基因系统发育分析将贵州地区茯砖茶中金花菌鉴定为冠突曲霉 (*A. cristatus*)。孟令缘等^[44]根据菌落菌体形态, 参考真菌鉴定手册, 将泾阳茯砖茶中分离得到的26株金花菌初步鉴定为子囊菌纲-真子囊菌亚纲-球壳菌目-冠囊菌科-冠散囊菌属, 之后根据26株菌株的ITS及28S rRNA序列的分析鉴定结果, 最终将26株金花菌确定为冠突散囊菌 (*E. cristatum*)。

近年来对茯砖茶中金花菌的鉴定结果见表1, 可以看出对茯砖茶中优势菌种的鉴定还存在诸多分歧, 首先是鉴定为同一种的菌应该使用其有性名称还是无性名称的分歧, 其次是金花菌是哪一种的分歧。这两种分歧与属名的鉴定不一致有关, 而研究者对金花菌的形态学观察也是基于不同培养基, 可能也导致了茯砖茶中金花菌鉴定的不同结果。此外, 这些分歧与金花菌的形态学多样性也有关系, 胡治远等^[45]研究发现鉴定为冠突散囊菌的7种金花菌其形态学及生理特征表现出较为明显的分化。另外, 也有研究发现, 金花菌的ITS序列^[25,46]及18S rDNA^[47]序列是相对保守的, 这也可能导致茯砖茶中金花菌的鉴定结果存在差异。

表1 历年学者对茯砖茶中优势微生物的鉴定结果
Table 1 Dominant microbes in Fuzhuan brick tea identified by previous researchers

时间	鉴定方法	鉴定依据	优势菌鉴定结果	参考文献
1941	光学显微镜	分生孢子梗有隔膜	<i>Aspergillus glaucus</i> group	[28]
1981	光学显微镜	CZ培养基上菌落形态, 子囊果、子囊孢子的大小及颜色	<i>A. chevalieri</i>	[11]
1986	扫描电子显微镜	马丁氏培养基上菌落形态, 子囊孢子表面粗糙	<i>A. cristatus</i>	[12]
1990	扫描电子显微镜	CZ、CZ20、M40Y培养基上菌落形态, 分生孢子表面呈瘤状突起, 无刺	<i>A. chevalieri</i> var. <i>intermedius</i>	[36]
1990	扫描电子显微镜	CZ、CZ20培养基上菌落形态, 具冠状突起、表面明显粗糙, 子囊孢子具有小疣, 分生孢子具有小刺	<i>E. cristatum</i>	[32]
2014	形态学、ITS、18S rDNA、酯酶同工酶	CZ20培养基上形态学特征及序列比对结果	<i>E. cristatum</i>	[40]
2010	形态学、ITS、18S rDNA	CZG、CZ20培养基菌落上菌体形态特征和序列分析	<i>E. cristatum</i>	[41-42]
2015	形态学、CaM、BenA及RPB2	CZ、CZ20、CYA、MEA、M40Y培养基上菌落菌体形态及系统发育分析	<i>A. cristatus</i> <i>A. pseudoglaucus</i>	[35]
2016	形态学、ITS、 β -微管蛋白基因	CZ、CZ20、CYA、MEA、M40Y培养基上形态特征及ITS和 β -tubulin同源序列比对	<i>A. cristatus</i> <i>A. chevalieri</i>	[6]
2019	形态学、28S rDNA、ITS	PDA培养基上菌株的形态学特征及序列比对	<i>E. cristatum</i>	[44]
2019	ITS	ITS序列的系统发育分析	<i>E. rubrum</i>	[48]

2.3 曲霉属和散囊菌属的分类现状

通过分析茯砖茶中优势菌群的研究现状及种属名鉴定，可以看出茯砖茶中优势金花菌主要集中在曲霉属和散囊菌属，属名及种名上存在不一致现象，这个现象与曲霉属和散囊菌属的分类现状及命名历程有关。

散囊菌属*Eurotium* Link由Link^[49]命名，该属内的物种是兼具有性型和无性型的全型真菌，通常产生黄色子囊果、凸透镜状子囊孢子、灰绿色的单列分生孢子头以及黄色、橙色或红色的菌丝。Powell等^[31]认为产生有性阶段的曲霉占少数，大部分曲霉是以无性阶段存在的，而目前只有无性繁殖特征的曲霉可能也存在有性繁殖特征，研究者也已经接受了曲霉属内无性繁殖物种的数量优势，所以应将曲霉属（*Aspergillus*）的名称应用于所有曲霉属的真菌，并将散囊菌属作为单独的一个群（灰绿曲霉群*A. glaucus* Group）划分至曲霉属。Malloch等^[50]对散囊菌属重新定义，并将曲霉属曲霉组（又称作灰绿曲霉群（*A. glaucus* Group））作为散囊菌属对应的无性型。

齐祖同^[51]则认为，虽然将有性型归为曲霉属有其方便之处，但该方法违反了《国际植物命名法规》，且“群”并不是一个分类学单位，并认为全型真菌（即包括有性型和无性型的全部阶段）的正确名称是以有性型来命名，承认了散囊菌属的分类地位，并将无性型作为曲霉组转移至散囊菌属。Pitt^[52]重新评价了*Eurotium*（*Aspergillus*）的命名和分类，并根据其子囊孢子的独特性质接受了*E. amstelodami* Mangin、*E. chevalieri* Mangin、*E. cristatum* (Raper and Fennell) Malloch & Cain、*E. echinulatum* Delacroix、*E. herbariorum* (Wiggers) Link、*E. repens* (Corda) De Bary和*E. rubrum* Konig 7个种名。Peterson^[53]通过多基因系统发育分析，证明了散囊菌属是曲霉属曲霉组的有性型，两者具有对应关系。

Hubka等^[54]利用ITS区、 β -微管蛋白基因（*BenA*）、钙调蛋白基因（*CaM*）及RNA聚合酶II基因（*RPB2*）序列，从微观和宏观形态以及生理学特征角度对曲霉属曲霉组的分类做了全面的修订，并根据最新国际植物命名法规，将散囊菌属各种作为曲霉组移入曲霉属，最终确认接受的种名减少到16种。Chen等^[55]应用形态学特征、生化特征和系统发育的多相方法来对曲霉属曲霉组（散囊菌属）的物种进行研究，只承认了无性型曲霉属的名称，并确认了31种，包括7个新种。将研究者们对该属分类的研究结论的比较进行了整理，具体见表2。

表2 不同文献对曲霉属曲霉组的物种分类
Table 2 Overview of species belonging to *Aspergillus* reported by different authors

<i>Aspergillus</i> ^[30]	<i>Eurotium</i> ^[51]	<i>Aspergillus</i> ^[54]	<i>Aspergillus</i> ^[55]
—	—	<i>A. appendiculatus</i>	<i>A. appendiculatus</i>
<i>A. echinulatus</i>	<i>E. echinulatum</i> / <i>A. brunneus</i>	<i>A. brunneus</i>	<i>A. brunneus</i>
<i>A. chevalieri</i>	<i>E. chevalieri</i> / <i>A. chevalieri</i>	<i>A. chevalieri</i>	<i>A. chevalieri</i>
—	—	<i>A. cibarius</i>	<i>A. cibarius</i>
—	<i>E. costiforme</i> / <i>A. costiformis</i>	<i>A. costiformis</i>	<i>A. costiformis</i>
<i>A. cristatus</i>	<i>E. cristatum</i> / <i>A. cristatellus</i>	<i>A. cristatus</i>	<i>A. cristatus</i>
<i>A. mangini</i>	<i>E. herbariorum</i> / <i>A. glaucus</i>	<i>A. glaucus</i>	<i>A. glaucus</i>
<i>A. chevalieri</i> var. <i>intermedius</i>	—	<i>A. intermedius</i>	<i>A. intermedius</i>
—	—	<i>A. leucocarpus</i>	<i>A. leucocarpus</i>
<i>A. montevicensis</i>	—	<i>A. montevicensis</i>	<i>A. montevicensis</i>
<i>A. niveo-glaucus</i>	—	<i>A. neocarnoyi</i>	<i>A. niveo-glaucus</i>
<i>A. proliferans</i>	—	<i>A. proliferans</i>	<i>A. proliferans</i>
<i>A. pseudoglaucus</i>	<i>E. repens</i> / <i>A. reptans</i>	<i>A. pseudoglaucus</i>	<i>A. pseudoglaucus</i>
<i>A. ruber</i>	<i>E. rubrum</i> / <i>A. rubrobrunneus</i>	<i>A. ruber</i>	<i>A. ruber</i>
<i>A. tonophilus</i>	<i>E. tonopholum</i> / <i>A. tonophilus</i>	<i>A. tonophilus</i>	<i>A. tonophilus</i>
—	—	<i>A. xerophilus</i>	<i>A. xerophilus</i>
<i>A. amstelodami</i>	<i>E. amstelodami</i> / <i>A. vitis</i>	—	—
<i>A. athecus</i>	—	—	—
<i>A. medius</i>	—	—	—
<i>A. repens</i>	—	—	—
<i>A. umbrosus</i>	—	—	—
—	<i>E. repens</i> var. <i>pseudoglaucus</i> / <i>A. reptans</i> var. <i>glaucoaffinis</i>	—	—
—	—	—	<i>A. neocarnoyi</i>
—	—	—	<i>A. cumulates</i>
—	—	—	<i>A. endophyticus</i>
—	—	—	<i>A. mallochii</i>
—	—	—	<i>A. aërius</i>
—	—	—	<i>A. megasporus</i>
—	—	—	<i>A. osmophilus</i>
—	—	—	<i>A. sloanii</i>
—	—	—	<i>A. caperatus</i> sp. nov.
—	—	—	<i>A. aurantiocofflavus</i> sp. nov.
—	—	—	<i>A. levisporus</i> sp. nov.
—	—	—	<i>A. porosus</i> sp. nov.
—	—	—	<i>A. tamarindosoli</i> sp. nov.
—	—	—	<i>A. teporis</i> sp. nov.
—	<i>E. tuberculatum</i> / <i>A. tuberculatus</i>	—	<i>A. zutongqii</i> sp. nov.

注：—，该文献中未命名。

由表1、2可以看出，研究者们除了对曲霉属和散囊菌属的属名存在争议以外，对该属下的物种分类也存在分歧。尤其是茯砖茶中较常出现的*A. cristatus*、*A. montevicensis*、*A. pseudoglaucus*、*A. ruber*和*A. glaucus*等的分类。混乱存在的原因主要是因为大多数种的分生孢子形态基本一致，子囊孢子虽然可以用来区分不同的物种，但必须在电子显微镜下才可观察到不同种的子囊孢子的差异性。造成了一些研究者将*A. ruber*与*A. glaucus*或者将*A. pseudoglaucus*与*A. glaucus*视为同一种名的同义词。此外，Pitt^[52]还将*A. intermedius*作为*A. cristatus*的同义词，齐祖同^[51]将*A. cristatus*更名为*E. cristatum*，无性型为*A. cristatellus*，而*A. intermedius*和*A. cristatus*又容易被

误认为是*A. montevidensis*。Powell等^[31]将*A. montevidensis*和*A. amstelodami*视为不同种, 齐祖同将这两种归为*E. amstelodami*, 无性型为*A. vitis*, 而Hubka^[54]和Chen^[55]等却认为*A. amstelodami*、*E. amstelodami*两个种的有效名应为*A. montevidensis*。

以上分类观点的差异性也导致了该属内种名的差异性, 表3陈列了目前散囊菌属(曲霉属曲霉组)内的物种及其同义词, 可以看出该属内的物种存在着严重的一菌多名的问题, 有的种, 如*A. montevidensis*最多有7个同义种名, 而最少的也有两个种名, 说明该属内真菌不止在属名上鉴定有分歧, 在种名的鉴定上也有较大差异。此外, 菌株具有多个同义词使得研究者在对茯砖茶中金花菌进行鉴定时, 极有可能将相同的种鉴定为不同种, 而不同研究者鉴定为不同种的菌, 可能是同一种, 例如针刺曲霉*A. spiculosus*, 一直以来, 分类学家把*A. spiculosus*作为*E. cristatum*的异名^[32,37,41-42,51], 但Hubka等^[54]研究发现*A. spiculosus*实为*A. intermedius*的异名。

表3 目前曲霉属曲霉组常见物种及其异名^[31,51,54-56]
Table 3 List of common *Aspergillus* species and their synonyms^[31,51,54-56]

有性型名称	无性型名称	最新分类系统种名 ^[51]
<i>Eurotium amstelodami</i> 、 <i>Eurotium montevidense</i> 、 <i>Eurotium heterocaryoticum</i>	<i>Aspergillus montevidensis</i> 、 <i>Aspergillus vitis</i> 、 <i>Aspergillus amstelodami</i> 、 <i>Aspergillus heterocaryoticus</i>	<i>Aspergillus montevidensis</i>
<i>Eurotium chevalieri</i>	<i>Aspergillus chevalieri</i> 、 <i>Aspergillus allocotus</i> 、 <i>Aspergillus equitis</i>	<i>Aspergillus chevalieri</i>
<i>Eurotium cristatum</i>	<i>Aspergillus cristatellus</i> 、 <i>Aspergillus cristatus</i>	<i>Aspergillus cristatus</i>
<i>Eurotium herbariorum</i> 、 <i>Eurotium minus</i>	<i>Aspergillus glaucus</i> 、 <i>Aspergillus minor</i> 、 <i>Aspergillus mangini</i>	<i>Aspergillus glaucus</i>
<i>Eurotium intermedium</i> 、 <i>Eurotium spiculosum</i>	<i>Aspergillus intermedius</i> 、 <i>Aspergillus spiculosus</i>	<i>Aspergillus intermedius</i>
<i>Eurotium leucocarpum</i>	<i>Aspergillus leucocarpus</i>	<i>Aspergillus leucocarpus</i>
<i>Eurotium medium</i> 、 <i>Eurotium echinulatum</i> 、 <i>Eurotium verruculosum</i>	<i>Aspergillus medius</i> 、 <i>Aspergillus echinulatus</i> 、 <i>Aspergillus brunneus</i>	<i>Aspergillus brunneus</i>
<i>Eurotium niveoglaucum</i> 、 <i>Eurotium parviverruculosum</i> 、 <i>Eurotium carnoyi</i>	<i>Aspergillus niveoglaucus</i> 、 <i>Aspergillus glauconiveus</i> 、 <i>Aspergillus neocarnoyi</i>	<i>Aspergillus niveoglaucus</i>
<i>Eurotium repens</i> 、 <i>Eurotium pseudoglaucum</i>	<i>Aspergillus pseudoglaucus</i> 、 <i>Aspergillus reptans</i> 、 <i>Aspergillus glaucoaffinis</i>	<i>Aspergillus pseudoglaucus</i>
<i>Eurotium rubrum</i> 、 <i>Eurotium athecium</i>	<i>Aspergillus ruber</i> 、 <i>Aspergillus rubrobrunneus</i> 、 <i>Aspergillus athecius</i>	<i>Aspergillus ruber</i>
<i>Eurotium tonophilum</i>	<i>Aspergillus tonophilus</i>	<i>Aspergillus tonophilus</i>
<i>Eurotium xerophilum</i>	<i>Aspergillus xerophilus</i>	<i>Aspergillus xerophilus</i>
<i>Eurotium costiforme</i>	<i>Aspergillus costiformis</i>	<i>Aspergillus costiformis</i>
<i>Eurotium acutum</i>	<i>Aspergillus acutus</i> 、 <i>Aspergillus proliferans</i>	<i>Aspergillus proliferans</i>
<i>Eurotium tuberculatum</i>	<i>Aspergillus tuberculatus</i> 、 <i>Aspergillus zutonggii</i>	<i>Aspergillus zutonggii</i>
<i>Eurotium appendiculatum</i> 、 <i>Eurotium aridicola</i>	<i>Aspergillus appendiculatus</i> 、 <i>Aspergillus aridicola</i>	<i>Aspergillus appendiculatus</i>

通过以上分析可以得出, 国际上一些法规及专著对曲霉属和散囊菌属的分类观点不一致, 导致了研究者们对茯砖茶中金花菌属名的最终命名存在争议, 包括美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information)、UNITE等菌种鉴定常用数据库中上传的属名也有不一致现象。此外, 由于该属内真菌一种多名现象的存在、金花菌中真菌组成的多样性、金花菌中的菌株形态学的高度相似性以及菌株培养基选择的差异性、基因序列的高度保守性等多种原因, 导致了不同研究者在对茯砖茶中真菌进行种名鉴定时, 可能将不同金花菌鉴定为同一种, 或将同一种金花菌鉴定为不同种。所以对茯砖茶中金花菌继续进行分离及鉴定是很有必要的。

3 结 语

茯砖茶中的金花菌数量是评价茯砖茶品质优劣的重要指标, 所以对茯砖茶中金花菌种群的分类鉴定具有重要意义。早在19世纪40年代就有学者对茯砖茶中金花菌的种属鉴定进行分析研究, 但由于技术有限, 且金花菌的形态具有多样性, 金花菌的种名确定一直存在争议, 之后研究者将生理生化及分子生物学方法与形态学方法相结合对金花菌进行分类鉴定, 使得金花菌的鉴定结果也更趋于客观性和准确性。

但由于曲霉属及散囊菌属分类观点的不同、分类鉴定手段的局限以及茯砖茶产区及加工方法的不同, 茯砖茶中金花菌的组成至今并未有定论, 且并没有一种单一的方法可以将茯砖茶中的金花菌准确鉴定至种。笔者也采用菌落形态、有性产孢构造和无性产孢构造的形态学鉴定、ITS鉴定及18S rDNA鉴定等方法对陕西茯砖茶中的优势金花菌群进行了鉴定, 将鉴定结果与目前散囊菌属和曲霉属的分类进行综合对比分析, 发现可根据金花菌的无性产孢构造和ITS、18S rDNA序列鉴定至属水平, 而有性产孢构造可作为金花菌分种鉴定的主要依据, 当有性产孢构造难以区分时, 再以无性产孢构造的形态差异进行鉴定, 如果有性和无性产孢构造均无明显差异时, 以菌落形态的差异作为鉴定依据。而目前也有研究发现金花菌在生长过程中产生的一些次级代谢物, 如吡啶生物碱类、聚酮类化合物以及引起金花菌子囊果黄色的蒽醌类化合物等有所差异, 可作为金花菌鉴定的依据。后期或许可以对有形态学差异的金花菌产生的一些化学物质进行生理生化方面的研究, 以期探讨出不同金花菌之间的差异性。此外, 还需继续探索需求更加准确、分辨率更高的分子生物学方法, 为金花菌的鉴定、金花菌优质种质资源的筛选以及茯砖茶生产工艺的优化方面提供依据。

参考文献:

- [1] 文杰宇, 李宗军, 王远亮, 等. 黑茶中微生物及其相关保健功能研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(9): 329-332. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201009073.
- [2] 王茹茹, 肖孟超, 李大祥, 等. 黑茶品质特征及其健康功效研究进展[J]. 茶叶科学, 2018, 38(2): 113-124. DOI:10.13305/j.cnki.jts.2018.02.001.
- [3] 刘婷, 李颂, 张康, 等. 冠突散囊菌和茯砖茶的健康功效[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(5): 208-212. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2016.05.049.
- [4] CHEN G J, WANG M J, XIE M H, et al. Evaluation of chemical property, cytotoxicity and antioxidant activity *in vitro* and *in vivo* of polysaccharides from Fuzhuan brick teas[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 116: 120-127. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.04.184.
- [5] CHEN G J, XIE M H, WAN P, et al. Digestion under saliva, simulated gastric and small intestinal conditions and fermentation *in vitro* by human intestinal microbiota of polysaccharides from Fuzhuan brick tea[J]. Food Chemistry, 2018, 244: 331-339. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.10.074.
- [6] 赵仁亮, 吴丹, 姜依何, 等. 不同产区加工的茯砖茶中“金花”菌的分离及分子鉴定[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2016, 42(6): 592-600. DOI:10.13331/j.cnki.jhau.2016.06.003.
- [7] 胥伟, 姜依何, 田双红, 等. 基于色谱-质谱技术分析高湿条件下霉变黑毛茶品质成分变化及真菌毒素残留[J]. 食品科学, 2019, 40(20): 293-298. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20181106-064.
- [8] 胥伟, 姜依何, 吴丹, 等. 高通量测序研究霉变黑毛茶的真菌多样性[J]. 茶叶科学, 2017, 37(5): 483-492. DOI:10.13331/j.cnki.jhau.2016.06.003.
- [9] 胡治远, 刘素纯, 赵运林, 等. 茯砖茶生产过程中微生物动态变化及优势菌鉴定[J]. 食品科学, 2012, 33(19): 244-248.
- [10] 徐正刚, 吴良, 刘石泉, 等. 黑茶发酵过程中微生物多样性研究进展[J]. 生物学杂志, 2019, 36(3): 92-95.
- [11] 仓道平, 温琼英. 茯砖茶发酵中优势菌与有害菌类的分离鉴定[J]. 茶叶通讯, 1981, 8(3): 12-14.
- [12] 温琼英. 茯砖茶中主要微生物的研究[J]. 茶叶通讯, 1986, 13(4): 19-21.
- [13] 梁晓岚. 四川茯砖茶主要霉菌的分离鉴定及其优势菌种的筛选[J]. 广东茶业, 1996(4): 13-15.
- [14] 赵仁亮, 胥伟, 吴丹, 等. 基于Illumina MiSeq技术分析不同地域加工的茯砖茶中微生物群落多样性[J]. 生态学杂志, 2017, 36(7): 1865-1876. DOI:10.13292/j.1000-4890.201707.012.
- [15] RUI Ying, WAN Peng, CHEN Guijie, et al. Analysis of bacterial and fungal communities by Illumina MiSeq platforms and characterization of *Aspergillus cristatus* in Fuzhuan brick tea[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 110: 168-174. DOI:10.1016/j.lwt.2019.04.092.
- [16] 王志刚, 童哲, 程苏云. 茯砖茶中霉菌含量和散囊菌鉴定及利弊分析[J]. 食品科学, 1992, 13(5): 1-5.
- [17] 赵仁亮. 茯砖茶加工中微生物演变及对品质形成影响的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2012: 8-26.
- [18] 张浩, 李华, 莫海珍. 天然发酵茯砖茶微生物菌群及抗菌特性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(21): 293-297. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201012066.
- [19] 刘石泉. 茯砖茶金花菌及其相关微生物多样性研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2014: 13-21.
- [20] 胡治远, 赵运林, 刘素纯, 等. 不同品种茯砖茶中优势微生物的分离鉴定[J]. 江西农业学报, 2011, 23(12): 60-64. DOI:10.19386/j.cnki.jxnyxb.2011.12.018.
- [21] XU Aiqing, WANG Yuanliang, WEN Jieyu, et al. Fungal community associated with fermentation and storage of Fuzhuan brick-tea[J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 146(1): 14-22. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.024.
- [22] 文杰宇. 茯砖茶“发花”过程中微生物多样性研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2011: 32-40.
- [23] 宋伟. 黑砖茶真菌的分离鉴定及功能研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2011: 25-44.
- [24] 丁婷. 茯砖茶中“金花菌”的生物学特性及其产消化酶活性的研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2012: 22-25.
- [25] 吕嘉彬, 孟雁南, 史朝辉, 等. 陕西茯茶中“金花菌”的ITS序列特性分析[J]. 陕西科技大学学报, 2018, 36(4): 47-51. DOI:10.19481/j.cnki.issn2096-398x.2018.04.009.
- [26] 吕嘉彬, 雷晟, 孟雁南. 陕西茯砖茶中优势 *Euotium* 属孢子形态学分析及分子鉴定[J]. 陕西科技大学学报, 2019, 37(2): 45-51. DOI:10.19481/j.cnki.issn2096-398x.2019.02.008.
- [27] 阮林浩. 不同地域季节茯砖茶发花优势微生物及其对品质影响的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2015: 7-15.
- [28] 徐国桢. 砖黄霉菌之发酵作用[J]. 中华农学会报, 1945(180): 29-46.
- [29] 胡建程, 胡月龄. 四种砖茶中霉菌的分离和鉴定[J]. 茶叶, 1957(2): 18-19.
- [30] 胡建程, 胡月龄, 钱泽树. 茶叶中霉菌的研究(第二报)[J]. 茶叶, 1979(1): 25-30.
- [31] POWELL K A, RENWICK A, PEBERDY J F. The genus *Aspergillus*[M]. USA: Krieger Publishing, 1965: 147-156.
- [32] 齐祖同, 孙曾美. 茯砖茶中优势菌种的鉴定[J]. 真菌学报, 1990(3): 176-179.
- [33] 刘作易. 一种决定茯砖茶品质的重要真菌: “金花”菌的研究进展[J]. 贵州茶叶, 1993, 11(7): 33-35.
- [34] 尹旭敏. 四川“金花”菌生物学特性及其发酵液态茶工艺的初步研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2006: 8-13.
- [35] 王磊, 谭国慧, 潘清灵, 等. 黑茶砖茶中两种产生“金花”的曲霉菌[J]. 菌物学报, 2015, 34(2): 186-195. DOI:10.13346/j.mycosystema.130275.
- [36] 阮林浩, 卢秦华, 谭吉慧, 等. 茯砖茶发花过程中冠突散囊菌的变化及差异性初报[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(4): 1271-1278.
- [37] 温琼英. 茯砖茶中优势菌的种名鉴定[J]. 中国茶叶, 1990(6): 2-3.
- [38] 刘作易, 秦京, 王迺亮. 茯砖茶“金花”菌分离及鉴定[J]. 贵州农学院学报, 1990(1): 69-74.
- [39] 彭晓赞, 章卫民, 刘淑云, 等. 湖南地区茯砖茶中金花菌的分离鉴定[J]. 菌物研究, 2011, 9(3): 157-161. DOI:10.13341/j.jfr.2011.03.007.
- [40] 王文涛. 茯砖茶中冠突散囊菌分类学研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2014: 10-32.
- [41] 黄浩, 刘仲华, 黄建安, 等. “发花”散茶中“金花”菌的分离鉴定[J]. 茶叶科学, 2010, 30(5): 350-354. DOI:10.13305/j.cnki.jts.2010.05.002.
- [42] 黄浩, 郑红发, 赵熙, 等. 不同茶类发花茯茶中“金花”菌的分离、鉴定及产黄曲霉毒素分析[J]. 食品科学, 2017, 38(8): 49-55. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201708009.
- [43] 谭玉梅, 王亚萍, 葛永怡, 等. 贵州地区茯砖茶“金花菌”的分离和分子鉴定[J]. 菌物学报, 2017, 36(2): 154-163. DOI:10.13346/j.mycosystema.160125.
- [44] 孟令缘, 施东妮, 盛焕精, 等. 泾阳茯茶生产环境中冠突散囊菌多样性检测[J]. 西北农业学报, 2019, 28(1): 139-145. DOI:10.7606/j.issn.1004-1389.2019.01.017.
- [45] 胡治远, 赵运林, 刘石泉, 等. 茯砖茶冠突散囊菌多样性初步研究[J]. 茶叶, 2012, 38(2): 82-88. DOI:10.3969/j.issn.0577-8921.2012.02.007.
- [46] PETERSON S W. *Aspergillus* and *Penicillium* identification using DNA sequences: barcode or MLST?[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, 95(2): 339-344. DOI:10.1007/s00253-012-4165-2.
- [47] 刘石泉, 赵运林, 雷存喜, 等. “湘益”牌茯砖茶真菌的分离及鉴定研究[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(9): 1765-1769. DOI:10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2011.09.008.
- [48] 唐万达, 黄振东, 杨琳, 等. 泾阳茯砖茶中“金花菌”的分离、鉴定及抗氧化酶活性[J]. 中国微生态学杂志, 2019, 31(1): 12-16. DOI:10.13381/j.cnki.cjm.201901003.
- [49] LINK H F. Der gesellschaft naturforschender freunde zu berlin magazin für die neuesten entdeckungen in der gesamten naturkunde: observationes in ordiens plantarum naturales dissertatio[M]. Berlin: Niedersächsische Staats und Universitätsbibliothek Göttingen, 1809: 3-42.
- [50] MALLOCH D, CAIN R F. The Trichocomataceae: ascomycetes with *Aspergillus*, *Paecilomyces* and *Penicillium* imperfect states[J]. Canadian Journal of Botany, 1972, 50(12): 2613-2628. DOI:10.1139/b72-335.
- [51] 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: 132-149.
- [52] PITT J I. Nomenclatorial and taxonomic problems in the genus *Euotium*[J]. Advances in *Penicillium* and *Aspergillus* systematics, 1986, 102: 383-396. DOI:10.1007/978-1-4757-1856-0_30.
- [53] PETERSON S W. Phylogenetic analysis of *Aspergillus* species using DNA sequences from four loci[J]. Mycologia, 2008, 100(2): 205-226. DOI:10.1080/155752536.2008.11832477.
- [54] HUBKA V, KOLARIK M, KUBATOVA A, et al. Taxonomic revision of *Euotium* and transfer of species to *Aspergillus*[J]. Mycologia, 2013, 105(4): 912-937. DOI:10.3852/12-151.
- [55] CHEN A J, HUBKA V, FRISVAD J C, et al. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Aspergillus* (formerly *Euotium*), and its occurrence in indoor environments and food[J]. Studies in Mycology, 2017, 88: 37-135. DOI:10.1016/j.simyo.2017.07.001.
- [56] SAMSON R A, PITT J I. Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification[M]. British: Harwood Academic Publishers, 2000: 50-63.