

## 交链孢酚和交链孢酚单甲醚生物合成调控研究进展

李红花, 宋福行\*

(北京工商大学轻工科学技术学院 北京 100048)

**摘要** 交链孢酚和交链孢酚单甲醚是由丝状真菌链格孢属产生的次级代谢产物,广泛存在于谷物、水果和蔬菜中,是食品和饲料生产、加工、运输及储存过程中最普遍和不可避免的污染物。不仅会造成巨大的经济损失,而且威胁人类健康。测定交链孢酚和交链孢酚单甲醚的含量,对保障食品质量安全极其重要。标准物质是保证食品中毒素分析检测数据准确、可靠的基础,对毒素的监测具有重要意义。目前,交链孢酚和交链孢酚单甲醚产量低,国内外均无大量制备,进而导致标准物质缺乏,难以满足应用需求。针对这一现状,提高菌株中毒素的产量成为亟待解决的问题。随着分子生物学的发展,这 2 种毒素的生物合成途径虽已鉴定,但对毒素生物合成过程的调控机制知之甚少。本文概述了交链孢酚和交链孢酚单甲醚生物合成及其调控机制的研究进展,以期对交链孢霉菌株的改造提供借鉴,进而降低生产成本,储备交链孢毒素,为食品安全及质量控制提供物质基础。

**关键词** 交链孢酚; 交链孢酚单甲醚; 生物合成; 调控机制

**文章编号** 1009-7848(2022)07-0328-07 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.07.033

交链孢酚(Alternariol, AOH)和交链孢酚单甲醚(Alternariol monomethyl ether, AME)是由链格孢属真菌产生的有毒次级代谢产物。链格孢属广泛分布在世界各地,可使近 400 种植物致病,仅交链孢霉就可侵染 100 多种植物<sup>[1-2]</sup>。在有利的温度和湿度条件下,交链孢霉能产生 70 多种次级代谢产物<sup>[3-4]</sup>。其中,最常见、研究最多的毒素是:AOH、AME、交链孢菌酮酸(Tenuazonic acid, TeA)、交链孢烯(Altenuene, ALT)、细格菌素(Altenusin, ALN)和交链孢毒素 I、II、III(Alttoxins, ATXs)。

链格孢属真菌不仅每年给农业和食品工业造成重大的经济损失,而且 AOH 和 AME 会对细胞和动物产生不良影响。动物体内实验表明 AOH 和 AME 有致畸性和甲胎毒性;体外实验表明 AOH 和 AME 有基因毒性、致裂性、致突变性、雌激素和雄激素效应等,因而对人类和动物健康构成严重的威胁<sup>[5]</sup>。目前交链孢毒素的生物合成途径已基本清楚,然而对毒素生物合成过程的调控机制知之甚少。本文概述近年来 AOH 和 AME 的生物合成及其调控机制的研究进展,旨在从分子生物学的

角度为毒素标品的产业化提供一个新视角。

### 1 AOH 和 AME 的生物合成

#### 1.1 AOH 和 AME 生物合成基因簇的鉴定

AOH 和 AME 以及其它由链格孢产生的二苯并吡喃酮类物质,都属于聚酮类次级代谢产物。有报道显示小麦病原菌旁星孢杆菌(*Parastagonospora nodorum*)产生 AOH<sup>[6]</sup>。*SnPKS19* 编码交链孢毒素生物合成的聚酮合成酶。通过靶向基因破坏和在构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)中异源表达,鉴定了在旁星孢杆菌产生 AOH 的 *pks* 基因。旁星孢杆菌中的 *SnPKS19* 与交链孢霉中 *pksJ* 有很高的同源性。*PksJ* 是 Saha 等<sup>[7]</sup>在交链孢霉中鉴定的 10 种聚酮合成酶中的 1 种,研究认为 *PksJ* 是催化 AOH 和 AME 生物合成的第 1 步。而 Wenderoth 等<sup>[8]</sup>认为这是错误的结论,原因可能是基于 RNAi 技术和表达分析下调了几个 *pks* 基因簇。

Wenderoth 等<sup>[9]</sup>通过 CRISPR/Cas9 介导的 AOH 生物合成基因的失活和米曲霉(*Aspergillus oryzae*)中基因的异源表达,鉴定了 AOH 和 AME 生物合成的基因簇(图 1)。基因簇长度为 15 kb,由聚酮合成酶 I(*PksI*)、O-甲基转移酶(*OmtI*)、黄素腺嘌呤二核苷酸依赖的单加氧酶(*MoxI*)、短链脱氢酶(*SdrI*)、推测的外二醇双加氧酶(*DoxI*)和转录因子(*AohR*)组成。*pksI* 基因全长 5 796 bp,编

收稿日期: 2021-07-27

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFC1601300)

作者简介: 李红花(1992—),女,博士,讲师

通信作者: 宋福行 E-mail: songfuhang@btbu.edu.cn

码的蛋白由 1 763 个氨基酸组成,估计分子质量为 192.06 ku。PksI 是一种典型的非还原型聚酮合成酶,它包含一个最小结构域集:一个酮酰合成酶(KS),一个酰基转移酶(AT)和一个酰基载体蛋白(ACP)。在 *pksI* 附近的 4 个基因:*omtI*、*moxI*、*sdrI* 和 *doxI*, 它们编码的酶通常参与次级代谢产物的

修饰。OmtI 由 379 个氨基酸组成, MoxI 由 385 个氨基酸组成, SdrI 由 230 个氨基酸组成, DoxI 由 325 个氨基酸组成。此外,该簇中还包含 1 个转录因子编码基因,命名为 *aohR*, 该推测的转录因子 AohR 由 588 个氨基酸组成。



图 1 AOH 和 AME 生物合成基因簇

Fig.1 The biosynthesis gene cluster of AOH and AME

链格孢属菌株中, AOH 及其衍生物的生物合成基因簇包含 1 个聚酮合成酶编码基因(*pksI*), 4 个修饰酶编码基因: O-甲基转移酶编码基因(*omtI*)、单加氧酶编码基因(*omtI*)、短链脱氢酶编码基因(*sdrI*)、雌二醇双加氧酶编码基因(*doxI*)和转录因子编码基因(*aohR*)。

在米曲霉中异源表达 *pksI*, 可以实现 AOH 的生物合成<sup>[9]</sup>。当 PksI 与不同的修饰酶在米曲霉中共表达可以得到 AME、4-羟基-交替醇单甲醚(4-OH-AME)、ALN 和 ALT。因此, 图 1 所示的生物合成基因簇负责生产至少 5 种不同的化合物。

## 1.2 AOH 和 AME 生物合成的研究

AOH、AME、4-OH-AME、ALN 和 ALT 的生物合成途径见图 2。由 PksI 开始, 将 1 个乙酰辅酶 A (acetyl-CoA, Ac-CoA) 和 6 个丙二酰辅酶 A (malonyl-CoA, Mal-CoA) 组装成庚烯酮 AOH。OmtI 催化 9-羟基形成甲基醚, 即由 AOH 转化成 AME。4-OH-AME 是 4 号位的羟基加成后的产物。内酯环的开启由 SdrI 催化。另一种途径从内酯形成前的 SdrI 还原步骤开始。在 AME 的 5 和 5' 位置甲基化和羟基化形成 ALN。ALT 的产生可能从 ALN 开始, 由 DoxI 催化<sup>[9]</sup>。

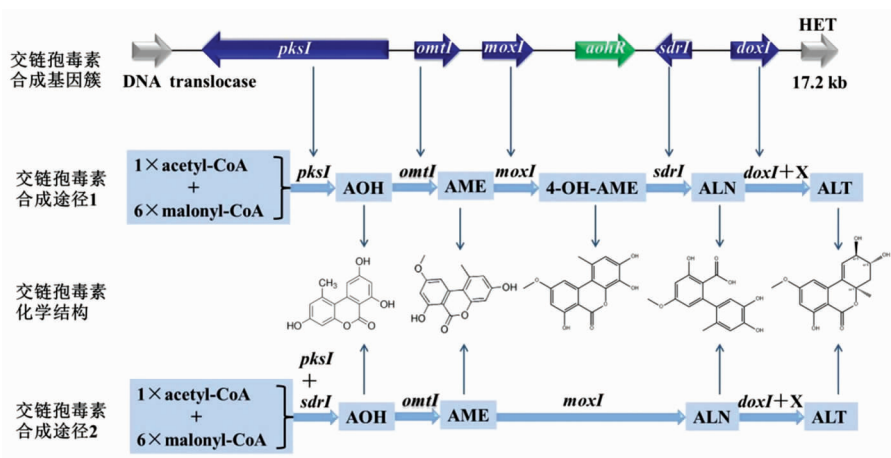


图 2 交链孢毒素生物合成途径

Fig.2 The biosynthesis pathway of altertoxins

## 2 AOH 和 AME 生物合成的调控机制

由于链格孢属真菌缺乏有性周期, 产生多细胞的无性孢子, 克隆子代的分离很困难。因此对其进行遗传操作比较困难。随着基因编辑技术的发展, 丝状真菌的基因组编辑也越来越成熟, 尤其是

CRISPR/Cas9 系统在多种丝状真菌中的应用, 使得遗传操作更简单, 这也有力地促进了丝状真菌中丰富的次级代谢产物的生物合成及其调控机制的研究<sup>[10]</sup>。在交链孢霉中已经建立了 CRISPR/Cas9 系统, 可以有效地用于基因失活<sup>[11]</sup>。Fraeyman 实验

室选择黑色素生物合成途径的2个基因 *pksA* 和 *bmr2* 作为靶点,通过原生质体再生或孢子接种纯化菌株,得到若干白色突变体。此外,将荧光蛋白融合到来自构巢曲霉 *StuA* 转录因子的核定位信号中,转化后可见亮核,证明荧光蛋白(GFP)可以应用于交链孢霉中。这也为交链孢霉中转录因子的研究提供了便利。到目前为止,对 AOH 和 AME 生物合成调控机制的研究主要集中在以下5个方面。

## 2.1 光照调控

许多真菌能够使用1种或几种光感受器对光作出反应<sup>[12-14]</sup>。这些真菌对光的感知会影响无性孢子的形成、性发育、色素沉着、生物钟和次级代谢<sup>[14]</sup>。目前研究发现,对能感应光照的真菌来说,蓝光和红光的影响非常重要。例如,粗糙脉孢菌对蓝光信号的感知与蓝光蛋白 White-Collar 1(WC-1)的分子功能有关<sup>[15-16]</sup>。WC-1与另一个蓝光蛋白 White-Collar 2(WC-2)形成复合物 WCC, WCC 可以作为光适应蛋白的正调节器。WCC 是光激活的,并直接与光调控基因的启动子结合<sup>[17]</sup>。最近人们发现在构巢曲霉中,蓝光和红光感应色素蛋白以及一些额外的蛋白质也可以形成一种光调节复合体<sup>[18]</sup>。

Pruss 等<sup>[19]</sup>发现交链孢霉中毒素的产生和孢子的形成是由光以相反的方式调控的。在光照条件下,孢子的形成明显减少,而 AOH 的产量则可提高2~3倍。ATX 的生产甚至严格依赖于光。所有观察到的光效应都可以由蓝光触发,而红光只有很小的影响。光照对孢子形成的抑制作用在黑暗培养1d后是可逆的。在交链孢霉基因组中发现了与编码脉孢菌 WC-1 相关的同源基因,命名为 *lreA*。由于 *lreA* 基因缺失,无论有无光照均抑制了孢子的形成。在蓝光照射下,*lreA* 突变体在黑暗条件下强烈诱导了 ATX 的形成。此外,将交链孢霉在 mCDB 琼脂培养基上,28℃持续暗光、白光、蓝光和红光条件下培养7d,AME 和 ATX-I 只在白光和蓝光条件下可检测到。AOH 在白光和蓝光下产量增加。这些研究表明,交链孢霉能够感知和响应光线,光照对 AOH 的形成具有激活功能,并将 *LreA* 作为主要光受体。

Igbalajobi 等<sup>[20]</sup>进一步研究了光感受器 FphA

和 *LreA* 的作用以及与高渗透压甘油(HOG)丝裂原活化蛋白(MAP)激酶途径的相互作用。研究表明,在交链孢霉中,蓝、红2种光感受器的作用明显且相互重叠。对许多模式生物的研究揭示了光调节的复杂性。光感受器控制着交链孢霉的形态发生途径、活性氧的稳态和次级代谢产物的产生。另一方面,高渗透压传感需要 FphA 和 *LreA*,这表明在光和压力信号之间存在复杂的交叉调控过程。

## 2.2 温度调控

AOH 和 AME 的生物合成受温度影响,然而没有过多的文献介绍温度对毒素生物合成的影响。Pruss 等<sup>[19]</sup>对交链孢霉发酵过程中的温度进行检测,将交链孢霉在 mCDB 琼脂培养基上,不同温度下黑暗培养7d,试验表明 AOH 和 AME 在 22, 25, 28℃时产量相同,然而在 30℃时两者产量都大幅下降<sup>[19]</sup>。

## 2.3 pH 调控

在摇瓶培养和生物反应器培养条件下,生长培养基的 pH 值对交链孢霉 AOH 和 AME 的产量有影响<sup>[21]</sup>。pH 值在 4.0~4.5 时, AOH 和 AME 的产生最适宜。pH 值在 4.0 时,检测到最高的 AOH 质量浓度,达到 5.7 mg/L,与 pH 值为 5.5 相比,提高了 63%。pH 值在 4.5 时, AME 质量浓度也达到最高,而产量仅为 1.73 mg/L。当 pH 值高于 5.5 时,交链孢霉毒素的产量显著降低。pH 值是 6.5 时, AOH 产量降低到 0.73 mg/L, pH 值是 7.5 时,仅能检测到 AOH,产量仅 0.61 mg/L, pH 值是 8.0 时,完全抑制交链孢霉毒素的产生。即当 pH 值高于 5.5 时, AOH 和 AME 的产生会减少或完全抑制。

## 2.4 碳源、氮源调控

碳源、氮源作为重要的营养因子可以调控真菌中毒素的合成。赭曲霉毒素<sup>[22-23]</sup>、黄曲霉毒素<sup>[24]</sup>和交链孢毒素<sup>[25]</sup>等真菌毒素的生物合成依赖于碳、氮源。研究表明不同种类的碳、氮源对不同真菌毒素生物合成的影响不同<sup>[26]</sup>。对几种培养基进行试验,霉菌毒素的产生在所有测试的复合或不确定的培养基(如大米)中,明显高于测试的确定成分的培养基,如 Czapek-Dox 培养基和 Vogel's 培养基<sup>[27]</sup>。然而,为了阐明碳源或氮源的影响,需要一种更明确的培养基,以便培养基成分可以交



换,并尽可能排除含有不明确的培养基成分的组合效应。半合成改良的 Czapek-Dox 培养基中交链孢霉生长状态良好,且霉菌毒素产量较高,AOH 产量达 3.5~3.6 mg/L,AME 产量达 1.4~1.5 mg/L。于是 Brzonkalik<sup>[28]</sup>实验室就使用改良后的 Czapek-Dox 半合成培养基,补充碳、氮源,检测不同碳、氮源对毒素合成的影响。此外,还考察了振荡和静态培养对 AOH 和 AME 合成的影响。最初的试验结果表明氮源的消耗和霉菌毒素的产生之间有明显的相关性。试验测试了各种氮源,包括几种铵盐、硝酸盐和氨基酸。在静态培养条件下,使用单一的铵盐或硝酸盐似乎都能抑制毒素的产生。苯丙氨酸能显著提高 AOH 和 AME 的产量。摇瓶培养中 AOH 和 AME 的总产量低于静态培养。不同氮源的 AOH 和 AME 产量对不同发酵方式(摇培与静培)的响应不同。添加硝酸铵和天冬氨酸,在振动培养基中,AOH 和 AME 的产量与静态培养基几乎相同,而添加苯丙氨酸,产量却大大降低。与静态培养相比,在氯化铵和硝酸钠组合的基础培养基中,交链孢毒素水平升高,然而仍低于生物反应器控制的发酵。使用硝酸铵或天冬氨酸可使产量提高 3 倍左右。

此外,对多种碳源进行测试,包括单糖、双糖、淀粉等复合糖以及甘油和乙酸。在摇培中,葡萄糖、果糖、蔗糖、乙酸或葡萄糖/蔗糖和葡萄糖/乙酸的混合物作为碳源产生 AOH 和 AME。Brzonkalik 等<sup>[28]</sup>进一步利用不同碳、氮源的组合进行发酵,检测 AOH 和 AME 产量的变化情况。结果显示铵态氮和硝态氮替换天冬氨酸,AOH 最大质量浓度提高了 2.2 倍,达到 7.75 mg/L,AME 产量提高到 4.81 mg/L。葡萄糖与乙酸替换铵和硝酸盐的结合抑制了 AME 的形成,仅检出 AOH,其最大质量浓度提高 1.9 倍,达到 6.64 mg/L。与葡萄糖和铵/硝酸盐组合相比,乙酸和天冬氨酸组合没有进一步提高 AOH 的质量浓度,也没有检测到 AME。

Brzonkalik 等<sup>[25,28]</sup>系统研究了碳、氮源对 AOH 和 AME 生物合成的影响。综合所有数据,可以认为霉菌毒素的产生不仅受碳、氮源等营养因素的调节,也受培养条件的调节。

## 2.5 分子调控

LaeA 和 VeA 属于 Velvet 家族的调节蛋白。

Velvet 家族的调节蛋白属于全局性调控因子,参与许多真菌的多种功能,包括次级代谢<sup>[29-31]</sup>。在交链孢霉中 LaeA 和 VeA 参与交链孢霉的生长形态、无性发育和霉菌毒素的生产<sup>[32]</sup>。缺失 *laeA* 和 *veA* 基因,会显著降低交链孢霉毒素的产生。*veA* 基因的缺失对 2 株菌株的霉菌毒素产生均有明显的抑制作用,而 *laeA* 基因的缺失使 1 株菌株的霉菌毒素产生量增加,而另 1 株菌株的霉菌毒素产生量减少。链格孢属内的遗传变异可能是导致这些差异的原因。综上所述,交链孢霉 Velvet 家族复合体对 AOH 和 AME 生物合成调控的分子机制尚不清楚,需要进一步研究。

王刘庆和王蒙<sup>[26]</sup>克隆了交链孢霉中氮源调控基因 *AaAreA*。*AreA* 不仅能够调节真菌氮代谢利用,而且能够参与次生代谢、生长产孢、侵染致病等生命过程,包括真菌毒素的合成。敲除 *AaAreA* 后,AOH 产量明显降低,表明 *AaAreA* 通过调控氮源利用,影响 AOH 的生物合成。对 *AaAreA* 蛋白功能进行分析,发现其响应不同的氮源信号,*AaAreA* 可能直接作用于 AOH 生物合成基因簇内的转录因子 *AaAohR*,即 *AaAreA* 可能与 *AaAohR* 启动子区的核苷酸序列特异性结合,激活 *AaAohR* 转录,进而 *AaAohR* 蛋白调控 AOH 合成酶,最终调控 AOH 的生物合成。

厚朴酚是在中草药中提取的具有抗真菌活性的物质,对厚朴酚处理和未处理的交链孢霉进行转录组学分析,发现厚朴酚通过下调全局性调控因子 *CreA* 和 *NmrA*,进而影响 *pksI* 和 *omtI* 基因的表达,抑制 AOH 和 AME 的生物合成<sup>[33]</sup>。

*aohR* 是交链孢霉生物合成的簇内转录因子,*aohR* 的缺失导致 *pksI* 表达减少,AOH 产生延迟,而 *aohR* 过表达导致 *pksI* 表达增加,AOH 产量增加。即簇内转录因子 *aohR* 参与 AOH 生物合成的调控<sup>[8]</sup>。

## 3 展望

本文总结了光照、pH 值、温度、碳源、氮源和全局性调控因子对 AOH 和 AME 生物合成的调控。这可能有助于提供更多有关真菌毒素产生的生理和代谢途径的信息,并为提高 AOH 和 AME 的产量提供参考。随着人们对真菌聚酮合酶的基

因工程和外源表达,以及合理生产新化合物的途径越来越感兴趣<sup>[34]</sup>。了解这些化合物生物合成的分子遗传基础是实现这一目标的关键。许多真菌聚酮类化合物的合成与它们的 *pks* 基因有关<sup>[35]</sup>。

由于链格孢霉毒素在食品和水源中频繁出现,对人和动物健康可能产生有害影响<sup>[36]</sup>。2011年,欧洲食品安全局(EFSA)应欧盟的请求,审查食品和饲料中链格孢霉毒素的安全性<sup>[37]</sup>。我国尚未制定相关的限量标准,鉴于其毒性、污染范围及对人体的潜在危害,将链格孢霉毒素确定为“新兴霉菌毒素”<sup>[38]</sup>。成为可能引起关注的化合物,中国与世界各国未来应加快速度建立链格孢霉毒素的限量标准,从而更好地为食品安全保驾护航。

此外,随着现代分子生物学技术的快速发展,以及交链孢霉中遗传操作系统的逐渐成熟,为从全局水平研究 AOH 和 AME 生物合成的调控机制提供了条件,为全面改造交链孢霉奠定了技术基础。

### 参 考 文 献

- [1] KUSABA M, TSUGE T. Phylogeny of *Alternaria fungi* known to produce host specific toxins on the basis of variation in internal transcribed spacers of ribosomal DNA[J]. *Current Genetics*, 1995, 28(5): 491-498.
- [2] SÖDERHÄLL K, SVENSSON E, UNESTAM T. Light inhibits the production of alternariol and alternariol monomethyl ether in *Alternaria alternata*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1978, 36(5): 655-657.
- [3] SCHRENK D, BODIN L, CHIPMAN J K, et al. Scientific opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food[J]. *EFSA Journal*, 2011, 9(10): 2407-2504.
- [4] OSTRY V. *Alternaria* mycotoxins: An overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs[J]. *World Mycotoxin Journal*, 2008, 1(2): 175-188.
- [5] CRUDO F, AICHINGER G, MIHAJLOVIC J, et al. Gut microbiota and undigested food constituents modify toxin composition and suppress the genotoxicity of a naturally occurring mixture of *Alternaria* toxins *in vitro*[J]. *Archives of Toxicology*, 2020, 94(10): 3541-3552.
- [6] CHOOI Y H, GONZALEZ M J M, MEAD O L, et al. SnPKS19 encodes the polyketide synthase for alternariol mycotoxin biosynthesis in the wheat pathogen *Parastagonospora nodorum*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(16): 5309-5317.
- [7] SAHA D, FETZNER R, URKHARDT B, et al. Identification of a polyketide synthase required for alternariol (AOH) and alternariol-9-methyl ether (AME) formation in *Alternaria alternata*[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40564.
- [8] WENDEROTH M, GARGANESE F, SCHMIDT-HEYDT M, et al. Alternariol as virulence and colonization factor of *Alternaria alternata* during plant infection[J]. *Molecular Microbiology*, 2019, 112(1): 131-146.
- [9] WENDEROTH M, PINECKER C, VOB B, et al. Establishment of CRISPR/Cas9 in *Alternaria alternata*[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2017, 101: 55-60.
- [10] LI H H, LIU G. The application of CRISPR/Cas9 in genome editing of filamentous Fungi[J]. *Hereditas*, 2017, 39(5): 355-367.
- [11] FRAEYMAN S, CROUBELS S, DEVREESE M, et al. Emerging fusarium and alternaria mycotoxins: Occurrence, toxicity and toxicokinetics[J]. *Toxins*, 2017, 9(7): 228.
- [12] RODRIGUEZ R J, HEDTKE M, KASTNER C, et al. Fungi, hidden in soil or up in the air: Light makes a difference[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2010, 64: 585-610.
- [13] IDNURM A, VERMA S, CORROCHANO L M. A glimpse into the basis of vision in the kingdom Mycota[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2010, 47(11): 881-892.
- [14] PURSCHWITZ J, MÜLLER S, KASTNER C, et al. Seeing the rainbow: Light sensing in fungi[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2006, 9(6): 566-571.
- [15] MALZAHN E, CIPRIANIDIS S, KÁLDI K, et al. Photoadaptation in *Neurospora* by competitive interaction of activating and inhibitory LOV domains[J]. *Cell*, 2010, 142(5): 762-772.
- [16] SCHAFMEIER T, KÁLDI K, DIERNFELLNER A, et al. Phosphorylation-dependent maturation of *Neurospora* circadian clock protein from a nuclear re-

- pressor toward a cytoplasmic activator[J]. *Genes and Development*, 2006, 20(3): 297–306.
- [17] SMITH K M, SANCAR G, DEKHANG R, et al. Transcription factors in light and circadian clock signaling networks revealed by genomewide mapping of direct targets for *Neurospora* white collar complex [J]. *Eukaryotic Cell*, 2010, 9(10): 1549–1556.
- [18] PURSCHWITZ J, MÜLLER S, FISCHER R. Mapping the interaction sites of *Aspergillus nidulans* phytochrome FphA with the global regulator VeA and the white collar protein LreB[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2009, 281(1): 35–42.
- [19] PRUSS S, FETZNER R, SEITHER K, et al. Role of the *Alternaria alternata* blue–light receptor LreA (White–Collar 1) in spore formation and secondary metabolism[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(8): 2582–2591.
- [20] IGBALAJOBI O, YU Z Z, FISCHERA R. Red and blue–light sensing in the plant pathogen *Alternaria alternata* depends on phytochrome and the white–collar protein LreA [J]. *Applied and Environmental Science*, 2019, 10(2): 371–319.
- [21] BRZONKALIK K, HÜMMER D, SYLDATK C, et al. Influence of pH and carbon to nitrogen ratio on mycotoxin production by *Alternaria alternata* in submerged cultivation[J]. *AMB Express*, 2012, 2(1): 28.
- [22] ABBAS A, VALEZ H, DOBSON A D. Analysis of the effect of nutritional factors on OTA and OTB biosynthesis and polyketide synthase gene expression in *Aspergillus ochraceus*[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, 135(1): 22–27.
- [23] MEDINA A, MATEO E M, ALGARRA F M, et al. Influence of nitrogen and carbon sources on the production of ochratoxin A by ochratoxigenic strains of *Aspergillus* spp. isolated from grapes[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, 122(1/2): 93–99.
- [24] BUCHANAN R L, STAHL H G. Ability of various carbon sources to induce and support aflatoxin biosynthesis by *Aspergillus parasiticus*[J]. *Journal of Food Safety*, 1984, 6(4): 271–279.
- [25] BRZONKALIK K, HERRLING T, SYLDATK C, et al. The influence of different nitrogen and carbon sources on mycotoxin production in *Alternaria alternata*[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 147(2): 120–126.
- [26] 王刘庆, 王蒙. 氮源调控交链孢毒素生物合成研究 [C]. 中国菌物学会 2018 年学术年会论文汇编. WANG L Q, WANG M. The regulation of nitrogen and carbon sources on mycotoxin production in *Alternaria alternata* [C]. *Papers Compilation on Annual Conference, Mycological Society of China in 2018*.
- [27] MISRA R S, SINHA K K. Rice–flour liquid medium—a new medium to study the aflatoxin producing potential of *Aspergillus flavus*[J]. *Science Letters*, 1979, 2(3): 87–88.
- [28] BRZONKALIK K, HERRLING T, SYLDATK C, et al. Process development for the elucidation of mycotoxin formation in *Alternaria alternata*[J]. *AMB Express*, 2011, 1: 27.
- [29] BAYRAM Ö, BRAUS G H. Coordination of secondary metabolism and development in fungi: The velvet family of regulatory proteins[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2012, 36(1): 1–24.
- [30] CALVO A M. The VeA regulatory system and its role in morphological and chemical development in fungi[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2008, 45(7): 1053–1061.
- [31] BOK J W, BALAJEE S A, MARR K A, et al. LaeA, a regulator of morphogenetic fungal virulence factors[J]. *Eukaryotic Cell*, 2005, 4(9): 1574–1582.
- [32] ESTIARTE N, LAWRENCE C B, SANCHIS V, et al. LaeA and VeA are involved in growth morphology, asexual development, and mycotoxin production in *Alternaria alternata*[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2016, 238: 153–164.
- [33] WANG L Q, WANG D, YUAN S Z, et al. Transcriptomic insights into the antifungal effects of magnolol on the growth and mycotoxin production of *Alternaria alternata*[J]. *Toxins*, 2020, 12(10): 665.
- [34] SCHÜMANN J, HERTWECK C. Advances in cloning, functional analysis and heterologous expression of fungal polyketide synthase genes[J]. *Journal of Biotechnology*, 2006, 124(4): 690–703.
- [35] HOFFMEISTER D, KELLER N. Natural products of filamentous fungi: Enzymes, genes, and their regulation [J]. *Natural Product Reports*, 2007, 24(2): 393–416.
- [36] SCHEPERS A W, THIBAUT J, LACROIX C. Comparison of simple neural networks and nonlinear regression models for descriptive modeling of *Lacto-*

- bacillus helveticus* growth in pH-controlled batch cultures[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2000, 26(5/6): 431-445.
- [37] AGRIOPOULOU S, STAMATELOPOULOU E, VARZAKAS T. Advances in occurrence, importance, and mycotoxin control strategies: Prevention and detoxification in foods[J]. *Foods*, 2020, 9(2): 137.
- [38] HAJNAL E J, MASTILOVIĆ J, BAGI F, et al. Effect of wheat milling process on the distribution of *Alternaria* toxins[J]. *Toxins*, 2019, 11(3): 139.

### Research Progress on the Regulatory of Alternariol and Alternariol Monomethyl Ether Biosynthesis

Li Honghua, Song Fuhang\*

(School of Light Industry, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048)

**Abstract** Alternariol (AOH) and alternariol monomethyl ether (AME) were the secondary metabolites produced by filamentous fungi *Alternaria* species. AOH and AME were widely found in cereals, fruits and vegetables. They were the most common and unavoidable contaminants during the production, processing, transportation and storage of food and feed. It not only caused huge economic losses, but also threatened human health. Therefore, it was very important to determine the content of AOH and AME to ensure food quality and safety. The standard substance was the basis to ensure the accuracy and reliability of the toxin analysis and detection in food. And it was of great significance to the monitoring of toxin. However, at present, the production of AOH and AME was low. It was impossible to achieve industrial production which resulting in the lack of standard substances. It was also difficult to meet the application requirements. In view of this situation, it was urgent to improve the yield of toxin. With the development of molecular biology, the biosynthesis pathway of these two toxins had been identified, but the regulation mechanism of toxin biosynthesis was poorly understood. This review focused on the research progress of biosynthesis and regulatory mechanism of AOH and AME, hoping to provide some reference for increasing the production of AOH and AME. It was important to reserve AOH/AME and provide material basis for food safety and quality control.

**Keywords** alternariol; alternariol monomethyl ether; biosynthesis; regulatory mechanism