

米曲霉形态对 L-苹果酸生产的影响

周洁^{1,2,3}, 罗秋玲^{1,2,3}, 丁强^{1,2,3}, 陈修来^{1,2,3}, 刘立明^{*1,2,3}

(1. 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 3. 江南大学 粮食发酵工艺与技术国家工程实验室, 江苏 无锡 214122)

摘要: L-苹果酸是一种重要的 C₄ 化合物, 广泛应用于食品、化工和医药行业。本文中以米曲霉为出发菌株, 研究氮源种类、CaCO₃ 质量浓度、搅拌转速和通气量等关键营养条件 and 环境条件对 *Aspergillus oryzae* 形态和产 L-苹果酸的影响。最优发酵条件为: 胰蛋白胨为氮源、CaCO₃ 质量浓度为 80 g/L、搅拌转速为 600 r/min、通气量为 2 vvm。进一步分析菌体形态与 L-苹果酸产量的关系, 得出当单位体积发酵液菌球总体积(*V* 值)为 76.4 mm³/mL 时, L-苹果酸产量最高达 109.9 g/L。

关键词: L-苹果酸; 米曲霉; 形态; 发酵

中图分类号: Q 815 文章编号: 1673-1689(2020)03-0024-08 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.03.004

Effect of Morphology of *Aspergillus oryzae* on L-Malate Production

ZHOU Jie^{1,2,3}, LUO Qiuling^{1,2,3}, DING Qiang^{1,2,3}, CHEN Xiulai^{1,2,3}, LIU Liming^{*1,2,3}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: L-malate is an important C₄ compound, which is widely used in food, chemical and pharmaceutical industries. In this study, the effects of nitrogen source, concentration of CaCO₃, agitation speed and aeration rate on morphology of *Aspergillus oryzae* and L-malate production were investigated. The optimum requirements for L-malate production were as follows: nitrogen source of tryptone; CaCO₃ concentration of 80 g/L; agitation speed of 600 r/min and aeration rate of 2 vvm. Furthermore, the relationship between the morphology and L-malate production was analyzed, and when the total volume of the pellet in the unit volume fermentation broth (*V* value) was 76.4 mm³/mL, L-malate had the highest production of 109.9 g/L.

Keywords: L-malate, *Aspergillus oryzae*, morphology, fermentation

收稿日期: 2018-03-07

基金项目: 国家自然科学基金项目(21676118, 21706095)。

* 通信作者: 刘立明(1976—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事代谢工程、酶工程与发酵工程的研究。

E-mail: mingll@jiangnan.edu.cn.

L-苹果酸是一种重要的从可再生能源碳水化合物转化的化学品,已被美国能源部列为12大构架化合物之一。作为生物体TCA循环的中间体,L-苹果酸广泛应用于食品、烟草、化工和医药行业^[1]。其具体用途如下:1)在食品行业:L-苹果酸可以作为一种酸性和味觉增强剂代替柠檬酸,还可以作为食品保色保鲜剂和食品抗氧化剂等;2)在烟草行业:苹果酸衍生物(如酯类)能作为烟草调味剂;3)在化工行业:是良好的络合剂、酯剂,用于牙膏配方、合成香料配方等,还可以作为除臭剂和工业洗涤剂的成分;4)在医药行业,可作为抗癌药物前体、血管吻合剂,同时还可以配合各种片剂使其具有水果味,并有助于在体内扩散、吸收。

目前,利用发酵法生产L-苹果酸时主要使用米曲霉(*Aspergillus oryzae*)、黄曲霉(*Aspergillus flavus*)^[2-4]。虽然黄曲霉能高产L-苹果酸,但其产生的黄曲霉毒素具有强致癌性,不能作为食品添加剂。而米曲霉作为食品安全菌株,广泛用于发酵工业。米曲霉作为丝状真菌,在液态深层发酵过程中生长缓慢、机械剪切力耐受性较差,易形成丝状、团状和球状等形态,形态的变化通常会引起发酵液流变性的改变,使其发酵过程变得十分复杂并且难以控制。丝状真菌在发酵过程中的形态受多个基因调控,其中包括*hypA/podA*、*swoF*和*sepA*等基因^[5]。这些基因编码的蛋白质控制细胞大小、菌丝极性或细胞间隔膜的间距来改变菌体形态。菌体形态还受到营养条件(如碳氮源种类及其浓度、金属离子的添加等)、环境条件(如温度、pH值、孢子浓度、搅拌转速、通气量、表面活性剂等外源添加物)等因素的影响^[6-9]。

曲霉在液体深层发酵过程中,菌体宏观和微观形态的变化对代谢产物的合成有重要的影响,不同菌株积累代谢产物最佳形态各不相同。Aftab Ahamed^[10]等人在利用*Aspergillus niger*生产蛋白酶时发现,当菌体为球状时蛋白酶产量低于150 U/g,而当菌体为絮状时蛋白酶产量可超过350 U/g。而*Aspergillus niger*生产柠檬酸则以球状为佳,与菌球相比非菌球生产柠檬酸不仅产量低,葡萄糖吸收率、氧气吸收速率和二氧化碳释放速率都处于低水平^[11]。此外,*Aspergillus terreus*生产衣康酸和洛伐他汀、*Rhizopus oryzae*生产富马酸、*Rhizopus arrhizus*生产乳酸等最佳形态都为菌球^[12-15]。作者通过研究

营养条件 and 环境条件对米曲霉菌体形态的影响,确定最佳形态并分析得到菌体形态与L-苹果酸产量的关系,从而由此调控*A. oryzae*形态在发酵罐上获得高产L-苹果酸。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 *A. oryzae* FMME 338 (CCTCC NO:M 2016401) 保藏于中国典型培养物保藏中心。

1.1.2 试剂 L-苹果酸标准样品:Sigma公司产品;葡萄糖:山东西王生化科技有限公司产品;其他化学试剂均为分析纯:国药集团化学试剂有限公司产品。

1.1.3 培养基 斜面培养基(g/L):去皮马铃薯200,葡萄糖20,琼脂15;自然pH。

种子培养基(g/L):葡萄糖60,胰蛋白胍3, KH_2PO_4 0.75, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.98, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1, CaCl_2 0.075, 1 mL 微量元素溶液(NaCl 5, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5,去离子水1 L)。

发酵培养基(g/L):葡萄糖120, CaCO_3 (60~100), 胰蛋白胍6, KH_2PO_4 0.2, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.2, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1, CaCl_2 0.075, 1 mL 微量元素溶液(同上)。

1.2 实验方法

1.2.1 培养方法 生孢培养:从-80℃的甘油保藏管中取一环孢子悬液接种于斜面培养基,30℃恒温培养箱中培养4~6 d;

种子培养:将培养的成熟孢子用质量分数0.05%吐温80洗下,经玻璃珠打散后过滤制成孢子悬浮液,用血球计数板计数。将孢子悬浮液转接至种子培养基中,种子培养基的装液量为250 mL的三角瓶中装入50 mL培养基,培养转速200 r/min,在30℃下恒温摇床培养24 h;

发酵培养(摇瓶):按体积分数10%的接种体积分数,将液体种子接种到发酵培养基中,发酵培养基的装液量为250 mL三角瓶中装入50 mL培养基,转速200 r/min,30℃下恒温摇床培养6 d;发酵培养(发酵罐):按体积分数10%接种,将液体种子接种到发酵培养基中,发酵培养基的装液量为30 L发酵罐装入16 L培养基,转速200~600 r/min,通气量1~3 vvm,30℃下培养6 d。

1.2.2 分析方法 L-苹果酸和葡萄糖质量浓度测定:用高效液相色谱(HPLC)分析检测,色谱柱为

Aminex® HPX-87H Ion (300 mm × 250 mm), 流动相为 5 mmol/L H₂SO₄, 流速为 0.6 mL/min; 柱温为 35 ℃; 波长为 215 nm; 进样量为 10 μL; L-苹果酸质量浓度检测器为紫外检测器, 葡萄糖浓度检测器为示差检测器; 生物量测定: 采用干质量法, 用 2 N 的 HCl 除去发酵液中的 CaCO₃, 将发酵液经滤纸过滤后用蒸馏水洗涤 3 遍再抽滤, 置于干燥箱中 60 ℃ 烘干至恒重, 用称重法测定其生物量; 菌体形态测定: Canon IXUS115 数码相机拍摄, 菌球直径使用千分尺测量。

2 结果与讨论

2.1 氮源对米曲霉菌体形态和产酸的影响

采用单因素实验在摇瓶中研究有机氮源和无机氮源对 *A. oryzae* 发酵过程中形态和产酸的影响 (表 1)。结果发现, 当以胰蛋白胨和大豆蛋白胨为氮源时, 产酸和菌体生长均好于其余氮源。研究发现, 氮源种类对 *A. oryzae* 菌体形态有显著的影响, 除尿素以外, 其他所有氮源都能使 *A. oryzae* 在培养基中形成数量、大小都不同的菌球。氮源对 *A. oryzae* 形态和 L-苹果酸生产的影响如表 1 所示。当黄豆粉为氮源时, 菌球浓度、菌球直径、单位体积发酵液菌球总体积 (*V* 值) 比胰蛋白胨时分别提高 490%、4.22% 和 18.9%; 比大豆蛋白胨时分别提高 114.0%、28.0% 和 347.1%。当氮源为黄豆粉和胰蛋白胨时, 菌体质量浓度 (以干质量计算) 在 15~16 g/L 左右。当大豆蛋白胨作为氮源时菌体质量浓度达到最高 (23.7 ± 0.74) g/L。当氮源为胰蛋白胨时, L-苹果酸产量和得率比大豆蛋白胨时分别提高 22.3% 和 36.6%; 比黄豆粉为氮源时分别提高 58.8% 和 19.1%。但是, 以大豆蛋白胨为氮源时, 葡萄糖消耗比胰蛋白胨和黄豆粉时分别

高出 10.7% 和 49.2%。因此, 胰蛋白胨是最佳有机氮源。此外, 无机氮源的添加不利于 *A. oryzae* 的生长和 L-苹果酸的积累。当氮源为尿素时, *A. oryzae* 在发酵液中以大量菌丝和少量菌球状呈现 (图 1)。以 (NH₄)₂SO₄ 和 NH₄Cl 为氮源时, 菌球浓度分别为 (110 ± 6) 个/mL 和 (86 ± 4) 个/mL, 菌球直径分别为 (0.625 ± 0.01) mm 和 (0.652 ± 0.01) mm, *V* 值均不超过 15.0 mm³/mL。以 (NH₄)₂SO₄ 为氮源时, 菌体质量浓度比尿素和 NH₄Cl 时分别提高 125.0% 和 4.85%。以 NH₄Cl 为氮源时 L-苹果酸产量比尿素和 (NH₄)₂SO₄ 时分别提高 13.8% 和 5.60%。尿素为氮源时葡萄糖消耗比 (NH₄)₂SO₄ 和 NH₄Cl 为氮源时分别高出 36.7% 和 27.1%。然而, 当 NH₄Cl 和 (NH₄)₂SO₄ 为氮源时得率比尿素时均提高 47.4%。所以, NH₄Cl 为最佳无机氮源。结果表明, 以胰蛋白胨为氮源时, 菌球浓度、菌球直径、*V* 值、菌体质量浓度、L-苹果酸产量、葡萄糖消耗和产率比 NH₄Cl 为氮源时分别提高 137.2%、81.7%、1329.0%、158.9%、303.0%、101.5% 和 100.0%。表明有机氮源促进菌体生长、L-苹果酸积累和葡萄糖消耗并提高产率。因此, 胰蛋白胨是最佳氮源。

2.2 CaCO₃ 质量浓度对米曲霉菌体形态和产酸的影响

在培养基中添加 CaCO₃ 不仅能控制发酵过程的 pH, 中和苹果酸形成钙盐沉淀, 以固体颗粒存在的 CaCO₃ 对菌球形态也有明显的影响。研究表明, 随着 CaCO₃ 质量浓度从 60 g/L 增加到 100 g/L, *A. oryzae* 菌球浓度从 208 个/mL 增加到 250 个/mL, 同时, 菌球直径从 1.173 mm 降低到 0.810 mm, *V* 值由 (175.4 ± 8.77) mm³/mL 降低到 (69.4 ± 1.70) mm³/mL。培养基中 CaCO₃ 质量浓度越高, 固形物越多, 对菌

表 1 氮源对米曲霉形态和 L-苹果酸生产的影响

Table 1 Effect of nitrogen source on the morphology of *Aspergillus oryzae* and the production of L-malate

氮源	形态	菌体质量浓度/ (g/L)	L-苹果酸产量/ (g/L)	菌球浓度/ (个/mL)	菌球直径/ mm	糖耗/ (g/L)	<i>V</i> / (mm ³ /mL)	对葡萄糖得率/ (g/g)
胰蛋白胨	菌球	16.0 ± 0.35	53.2 ± 0.73	204 ± 6	1.185 ± 0.02	95.1	177.2 ± 3.98	0.56
大豆蛋白胨	菌球	23.7 ± 0.34	43.5 ± 3.54	100 ± 1	0.965 ± 0.04	105.3	47.1 ± 4.51	0.41
尿素	菌丝+菌球	2.88 ± 0.23	11.6 ± 1.20	—	—	60.0	—	0.19
黄豆粉	菌球	15.0 ± 0.62	33.5 ± 3.85	214 ± 2	1.235 ± 0.01	70.6	210.6 ± 5.71	0.47
(NH ₄) ₂ SO ₄	菌球	6.48 ± 0.42	12.5 ± 0.93	110 ± 6	0.625 ± 0.01	43.9	14.1 ± 0.25	0.28
NH ₄ Cl	菌球	6.18 ± 0.28	13.2 ± 1.58	86 ± 4	0.652 ± 0.01	47.2	12.4 ± 1.08	0.28

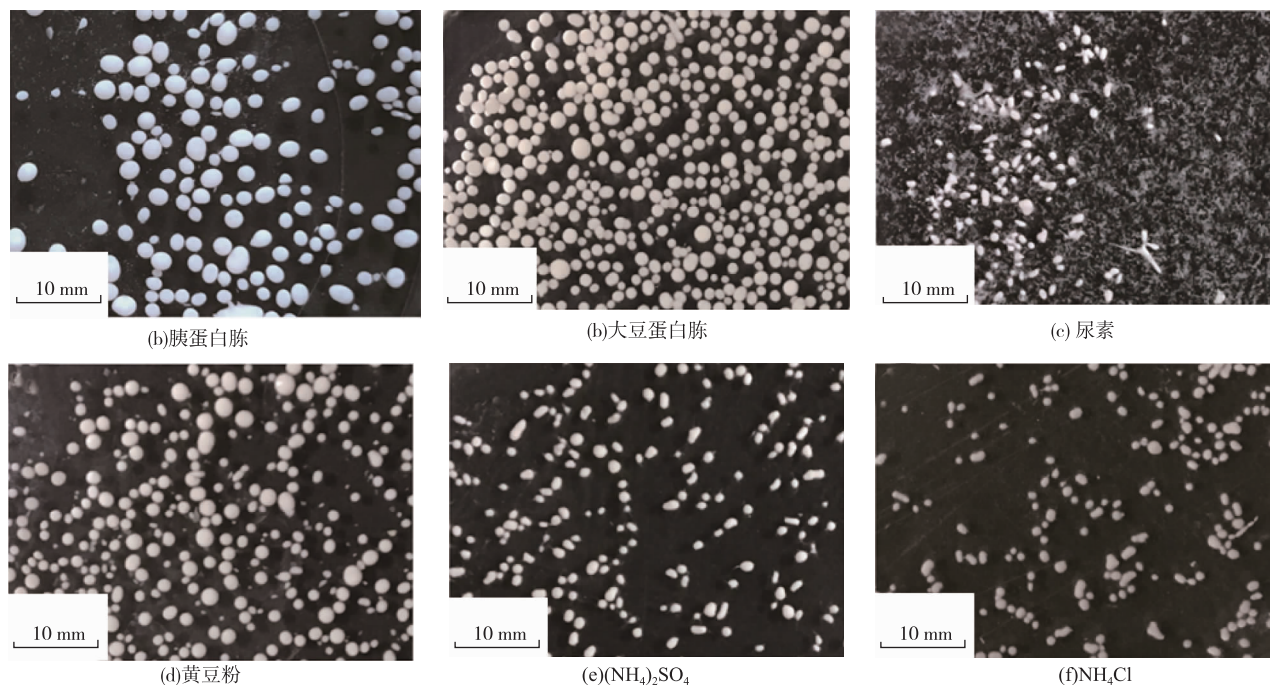


图 1 氮源对米曲霉形态的影响

Fig. 1 Effect of nitrogen source on morphology of *Aspergillus oryzae*

体的磨损程度就越高,菌球直径逐渐减小。此外,孢子在萌发过程中包裹一定量的 CaCO_3 更有利于形成菌球。 CaCO_3 质量浓度对产酸和菌体浓度影响见图 2(a) (b)。当 CaCO_3 质量浓度为 80 g/L 时,菌体

浓度比当 CaCO_3 质量浓度为 60 g/L 和 100 g/L 时分别高出 13.7%和 5.75%。向培养基中添加 80 g/L 的 CaCO_3 时,最高在发酵 144 h 后积累 (59.7 ± 1.71) g/L 的 L-苹果酸,比 CaCO_3 质量浓度为 60 g/L 和 100 g/L

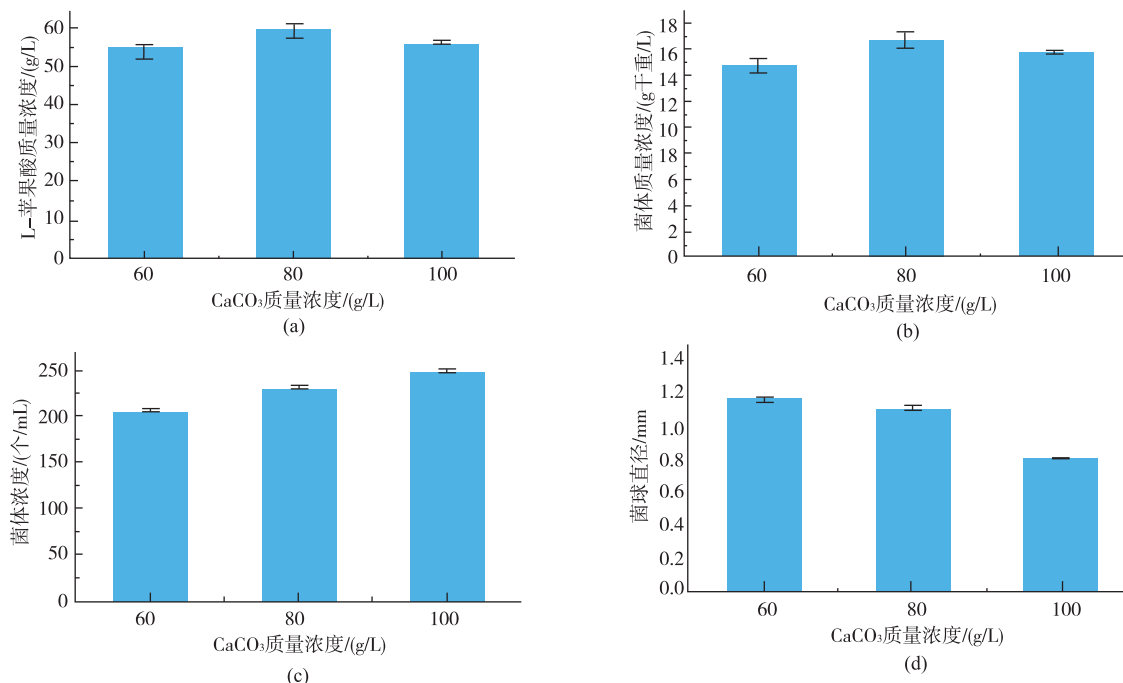


图 2 CaCO_3 质量浓度对 L-苹果酸产量、菌体质量浓度、菌球浓度、菌球直径和葡萄糖消耗的影响

Fig. 2 Effect of concentration of CaCO_3 on L-malate production, dry cell weight, pellet number, pellet size diameter and consumption of glucose

时分别高出 9.69% 和 5.87%。在 CaCO_3 质量浓度为 80 g/L 时, 葡萄糖消耗比 60 g/L 和 100 g/L 时分别高出 8.53% 和 1.38%。但是, CaCO_3 质量浓度为 80 g/L 时产率最高, 比 60 g/L 和 100 g/L 时分别提高 1.79% 和 3.64%。表明 CaCO_3 最优质量浓度为 80 g/L。

2.3 搅拌转速对米曲霉菌体形态和产酸的影响

以摇瓶发酵优化结果为基础, 本工作研究了 30 L 发酵罐中搅拌转速对 *A. oryzae* 菌体形态和 L-苹果酸积累的影响。当搅拌转速为 200 r/min 时, 菌体在发酵罐中呈菌丝状, 当搅拌转速在 400~600 r/min 范围内, *A. oryzae* 主要形成菌球, 随着搅拌转速的提高, 单位体积发酵液中菌球浓度不断增加, 菌球直径不断减小 (表 2)。搅拌转速从 400 r/min 提高到 600 r/min 时, 菌球浓度增加而菌球直径减小。搅拌转速为 600 r/min 时 V 值为 $(99.3 \pm 5.06) \text{ mm}^3/\text{mL}$, 比搅拌转速是 400 r/min 时降低了 35.0%。不同转速搅拌带来的流体流动与剪切力会显著影响菌体的形态, 搅拌转速越大, 液体流动速度越快, 剪切力越大, 更利于形成数量多的小直径菌球。Park J P 等^[16] 考察了搅拌强度对蛹虫草 (*Cordyceps militaris*) 菌体形态的影响, 研究表明搅拌转速为 300 r/min 时, 菌球直径小并且表面光滑, 但当搅拌转速为 50 r/min 时, 菌球大而松散。菌体质量浓度也随着搅拌转速的提高而增加, 当搅拌转速从 200 r/min 增加到 400 r/min 时, 菌体质量浓度提高了 14.4%。原因可能是随着搅拌转速增加发酵液溶氧也不断增加, 从而利于菌体生长导致菌体质量浓度增加。然而, 当搅拌转速继续增加到 600 r/min 时, 菌体质量浓度并没有大幅度增加 (约 19.8 g/L)。结果如图 3 所示, 随着搅拌转速的提高, L-苹果酸的产量也随之增加, 当搅拌转速是 600 r/min 时, 最高积累 83.0 g/L 的 L-苹果酸, 比搅拌转速是 200 r/min 和 400 r/min 时分别提高了 63.4% 和 31.5%; 葡萄糖消耗比搅拌转速是 200 r/min 和 400 r/min 时分别提高了 24.1% 和 17.0%, 产率比搅拌转速是 200 r/min 和 400 r/min 时分别提高了 31.4% 和 12.2%。结果表明高搅拌转速促进

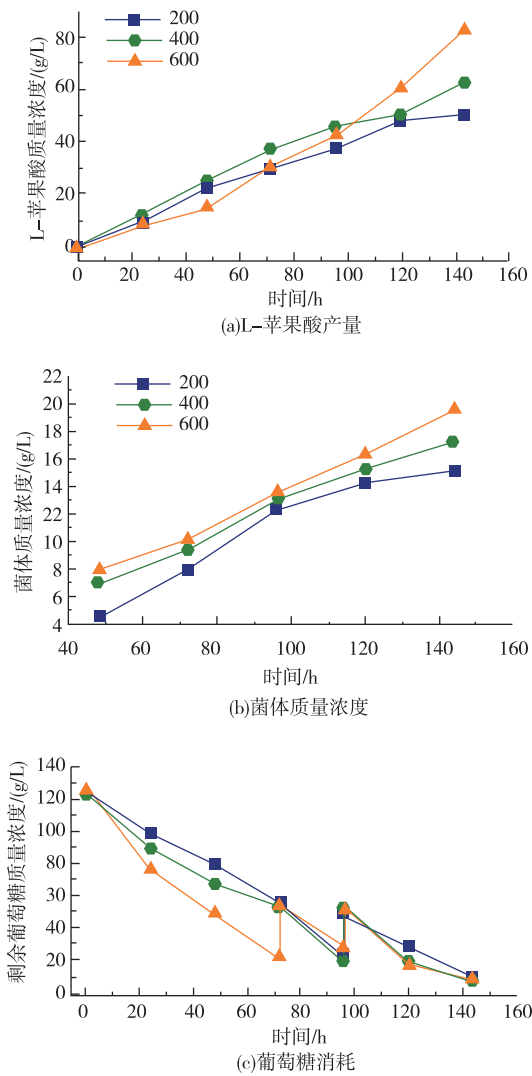


图 3 搅拌转速对 L-苹果酸产量, 菌体质量浓度和葡萄糖消耗的影响

Fig. 3 Effect of agitation speed on L-malate production, dry cell weight and consumption of glucose

A. oryzae 生长, 增加葡萄糖消耗和 L-苹果酸积累, 最佳搅拌转速是 600 r/min。在丝状真菌发酵过程中, 在菌体形态和搅拌转速之间有一种最优的状态, 在这种情况下, 搅拌可能也会对细胞的氧气供应进行调节^[17]。

表 2 搅拌转速对菌体形态的影响

Table 2 Effect of agitation speed on the morphology of *Aspergillus oryzae*

搅拌转速/(r/min)	形态	菌球浓度/(个/mL)	菌球直径/mm
200	菌丝	—	—
400	菌球	174±4	1.187±0.017
600	菌球	187±2	0.997±0.016

2.4 通气对米曲霉菌体形态和产酸的影响

通气条件同样是影响发酵罐中溶氧水平的一个重要因素,因此进一步研究了通气条件对 *A. oryzae* 菌体形态和产酸的影响。如图4所示,随着通气量增加,单位体积发酵液菌球数量不断增加,通气量为3 vvm 时单位体积发酵液菌球浓度为 (273 ± 6) 个/mL,比通气量为1 vvm 和2 vvm 时分别高出46.0%和8.76%。通气从1 vvm 提高到2 vvm 时菌球直径从0.997 mm 降低为0.834 mm。当通气量为3 vvm 时,菌球直径没有进一步缩小(约0.832 mm)。此外,通气量为2 vvm 时, V 值比1 vvm 和3 vvm 时分别降低23.1%和10.2%。菌体质量浓度随着通气量的提高也不断增加,结果见图4(b), 通气量为3 vvm 最大菌体质量浓度为33.6 g/L,比通气量为1 vvm 和2 vvm 分别高出69.8%和14.7%。通气量为2 vvm 时,L-苹果酸产量比1 vvm 和3 vvm 时分别提高32.5%和21.9%。但是,葡萄糖消耗并没有随着通气量的改变而发生明显变化(~ 180 g/L),这表明增加通气并不能促进葡萄糖消耗。当通气量为2 vvm 时,产率比1 vvm 和3 vvm 时分别提高34.8%和26.5%。因此,最适通气量为2 vvm。结果表明氧气的传递是影响L-苹果酸在发酵罐中积累的一个重要因素,同样的现象也存在于葡萄糖酸发酵过程中^[9]。

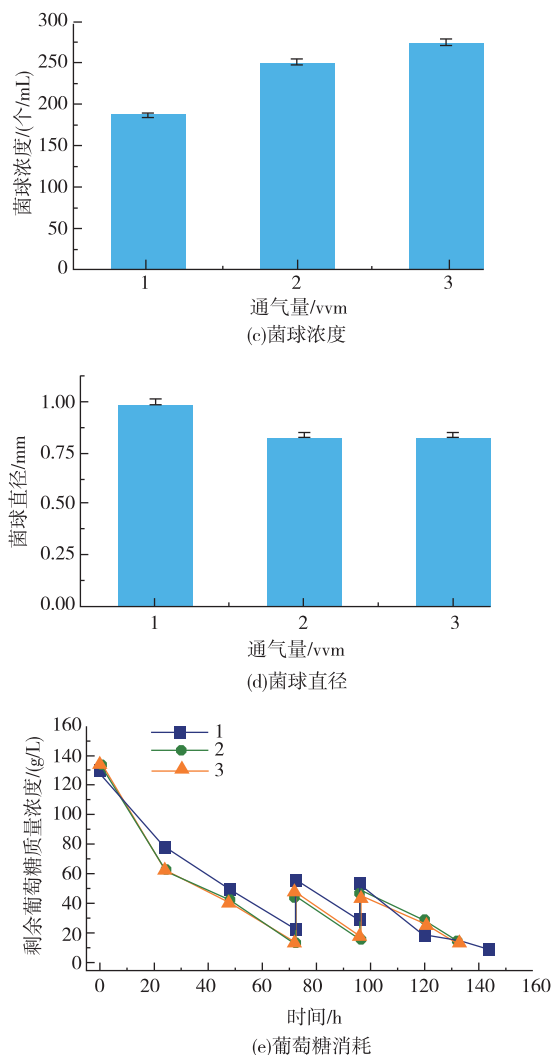
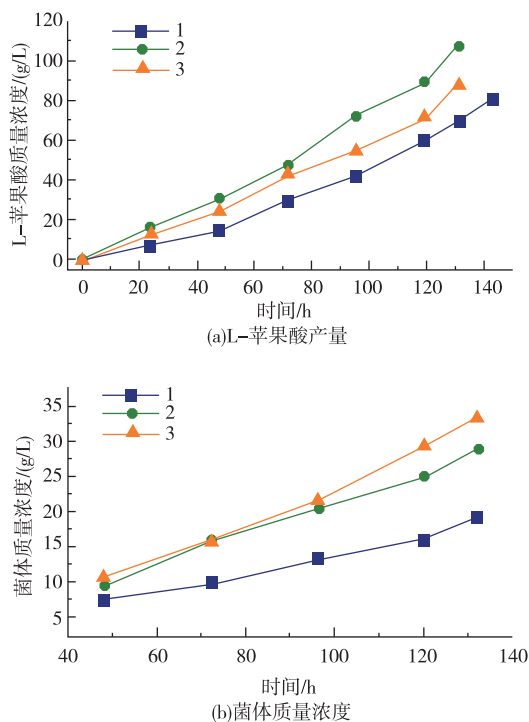


图4 通气量对L-苹果酸产量、菌体质量浓度、菌球浓度、菌球直径和葡萄糖消耗的影响

Fig. 4 Effect of aeration rate on L-malic acid production, dry cell weight, pellet number, pellet size diameter and consumption of glucose

2.5 米曲霉形态对L-苹果酸产量的影响

菌球形态与细胞代谢关系紧密,单位体积发酵液菌球总体积(V 值)与L-苹果酸产量的关系如图5所示。摇瓶上 V 值与L-苹果酸产量的关系是: $y=-0.0046x^2+1.1307x-0.6498$, $R^2=0.9897$;发酵罐上 V 值与L-苹果酸产量的关系是: $y=0.0091x^2-2.6346x+253.53$, $R^2=0.9684$ 。结果表明,在摇瓶水平,L-苹果酸产量随着 V 值增加先上升后降低;当 V 值在122.9 mm³/mL左右时,L-苹果酸产量达到最高(约68.8 g/L)。原因可能是当 V 值低时,菌球个数和菌球直径的值处于低水平,菌球内部结构疏松

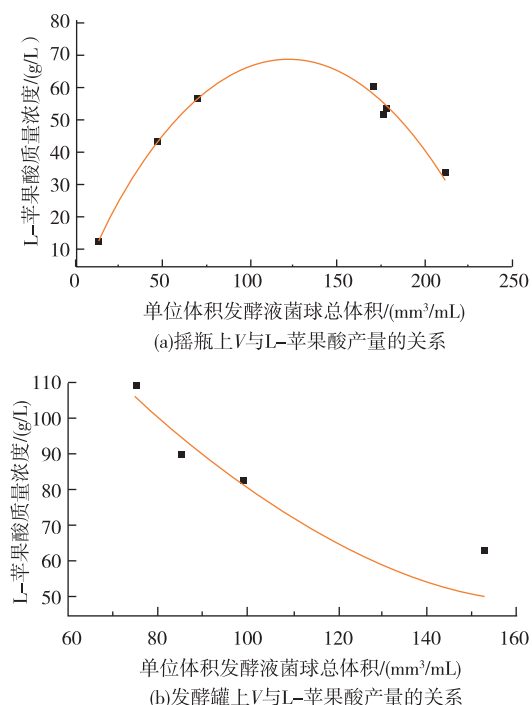


图5 摇瓶上 V 与 L-苹果酸产量的关系和发酵罐上 V 与 L-苹果酸产量的关系

Fig. 5 Relationship between the total of pellet in the unit volume fermentation (V) and L-malate production

密度小不利于菌球生长和产酸,而当 V 值高时,菌球浓度和菌球直径的值处于高水平,单位发酵液菌球数量增加导致发酵液粘稠,菌球直径过小导致内部结构致密从而不利于 O_2 和营养物质的传递^[18]。在乳酸发酵过程中也出现了相似的情况,当菌球密度较低时内部中空不利于产酸,而当菌球密度大于 60 kg/m^3 时影响传质抑制产酸^[19]。在发酵罐水平, L-苹果酸产量随 V 值增加而逐渐降低,当 V 值为 $76.4 \text{ mm}^3/\text{mL}$ 时, L-苹果酸产量最高为 109.9 g/L 。

3 结 语

本文通过研究氮源种类、 CaCO_3 质量浓度、搅拌转速和通气量对 *A. oryzae* 菌体形态和 L-苹果酸产量的影响,得出最佳营养和环境条件为:胰蛋白胨为氮源, CaCO_3 质量浓度为 80 g/L , 搅拌转速 600 r/min , 通气量 2 vvm 。以菌球浓度、菌球直径和单位体积发酵液菌球总体积 (V 值) 来表征形态,并研究得出 V 值与 L-苹果酸产量的关系。在 30 L 发酵罐中:发酵 132 h , 菌球浓度 251 个/mL , 菌球直径 0.834 mm , V 值为 $76.4 \text{ mm}^3/\text{mL}$, *A. oryzae* 消耗 177.6 g/L 葡萄糖, L-苹果酸质量浓度达到 109.9 g/L , 产率为 0.62 g/g , 生产强度达到 $0.83 \text{ g/(L}\cdot\text{h)}$ 。

参考文献:

- [1] THAKKER C, LI W, SAN K Y, et al. Metabolic engineering of carbon and redox flow in the production of small organic acids[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2015, 42(3): 403-422.
- [2] BROWN S H, BASHKIROVA L, BERKA R, et al. Metabolic engineering of *Aspergillus oryzae* NRRL 3488 for increased production of L-malic acid[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2013, 97(20): 8903-8912.
- [3] BATTAT E, PELEG Y, BERCOVITZ A, et al. Optimization of L-malic acid production by *Aspergillus flavus* in a stirred fermentor[J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 1991, 37(11): 1108.
- [4] HAO Xixiang, LIU Jianjun, ZHAO Xiangying, et al. Metabolism of L-malic acid accumulation in *Aspergillus flavus*[J]. *China Brewing*, 2011, 30(6): 122-124. (in Chinese)
- [5] MCINTYRE M, MÜLLER C, DYNESEN J, et al. Metabolic engineering of the morphology of *Aspergillus*[J]. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 2001, 73: 103-128.
- [6] PAPAGIANNI M. Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes[J]. *Biotechnology Advances*, 2004, 22(3): 189-259.
- [7] HAACK M B, OLSSON L, HANSEN K, et al. Change in hyphal morphology of *Aspergillus oryzae* during fed-batch cultivation [J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2006, 70(4): 482.
- [8] ŽNIDARŠIČ P, KOMEL R, PAVKO A. Influence of some environmental factors on *Rhizopus nigricans* submerged growth in the form of pellets[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2000, 16(7): 589.
- [9] LU F, PING K, WEN L, et al. Enhancing gluconic acid production by controlling the morphology of *Aspergillus niger* in submerged fermentation[J]. *Process Biochemistry*, 2015, 50(9): 1342-1348.

- [10] AHAMED A, SINGH A, WARD O P. Culture-based strategies for reduction of protease activity in filtrates from *Aspergillus niger* NRRL-3[J]. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, 2005, 21(8-9): 1577-1583.
- [11] PAUL G C, PRIEDE M A, THOMAS C R. Relationship between morphology and citric acid production in submerged *Aspergillus niger* fermentations[J]. **Biochemical Engineering Journal**, 1999, 3(2): 121-129.
- [12] LÓPEZ J L C, PÉREZ J A S, SEVILLA J M F, et al. Pellet morphology, culture rheology and lovastatin production in cultures of *Aspergillus terreus*[J]. **Journal of Biotechnology**, 2005, 116(1): 61-77.
- [13] ZHANG K, YU C, YANG S T. Effects of soybean meal hydrolysate as the nitrogen source on seed culture morphology and fumaric acid production by *Rhizopus oryzae*[J]. **Process Biochemistry**, 2014, 50(2): 173-179.
- [14] BAI D M, JIA M Z, ZHAO X M, et al. Jamath -lactic acid production by pellet-form *Rhizopus oryzae* R1021 in a stirred tank fermentor[J]. **Chemical Engineering Science**, 2003, 58(3-6): 785-791.
- [15] BYRNE G S, WARD O P. Effect of nutrition on pellet formation by *Rhizopus arrhizus*[J]. **Biotechnology & Bioengineering**, 1989, 33(7): 912-914.
- [16] PARK J P, KIM Y M, KIM S W, et al. Effect of agitation intensity on the exo-biopolymer production and mycelial morphology in *Cordyceps militaris*[J]. **Letters in Applied Microbiology**, 2002, 34(6): 433 - 438.
- [17] LAI L S T, TSAI T H, WANG T C, et al. The influence of culturing environments on lovastatin production by *Aspergillus terreus* in submerged cultures[J]. **Enzyme and Microbial Technology**, 2005, 36(5 - 6): 737-748.
- [18] HUA Shan, YANG Haiquan, ZOU Wei, et al. Relationship between morphology and kojic acid production by *Aspergillus oryzae* [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2017, 36(10): 1090-1095. (in Chinese)
- [19] FU Y Q, YIN L F, ZHU H Y, et al. Effects of pellet characteristics on L-lactic acid fermentation by R-oryzae: pellet morphology, diameter, density, and interior structure[J]. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 2014, 174(6): 2019-2030.

会 议 消 息

会议名称:第七届全国植物繁殖生态学与进化生物学学术研讨会

会议时间:2020-06-24 至 2020-06-27

会议地点:云南昆明

主办单位:云南大学

联系人:张志强

电 话:0871-65030650

Email:zq.zhang@ynu.edu.cn

官方网址: <http://www.lee.ynu.edu.cn/>

会议内容:全国植物繁殖生态学与进化生物学学术研讨会,每两年举办一次,全面展示植物繁殖生态学与进化生物学领域最新的研究成果,是该领域内研究者学术交流与合作的主要平台。前6届会议先后由北京师范大学、武汉植物园、西双版纳热带植物园、新疆农业大学、华南植物园和华东师范大学主办,推动了我国植物繁殖生态学与进化生物学的发展。第七届会议由云南大学承办,将于2020年6月25-27日在云南省昆明市云南大学呈贡校区召开。会议诚挚邀请本领域国内外专家、青年学者和研究生展示最新的研究结果,与同行进行思想的碰撞。