

· 综 述 ·

菌丝形态发育：丝状真菌细胞工厂遗传改造的新切入点

孔维华^{1,2}, 尤文晋^{1,2}, 江贤章^{1,2}, 黄建忠^{1,2}, 秦丽娜^{1,2*}

1 福建师范大学生命科学学院, 福建 福州 350000

2 工业微生物发酵技术国家地方联合工程研究中心, 福建 福州 350000

孔维华, 尤文晋, 江贤章, 黄建忠, 秦丽娜. 菌丝形态发育：丝状真菌细胞工厂遗传改造的新切入点[J]. 生物工程学报, 2024, 40(6): 1776-1791.

KONG Weihua, YOU Wenjin, JIANG Xianzhang, HUANG Jianzhong, QIN Lina. Filamentous morphology: a new frontier for genetic modification of filamentous fungal cell factories[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(6): 1776-1791.

摘 要：丝状真菌是一类广泛存在于自然界中的真核微生物，一些丝状真菌因具有强大的蛋白分泌能力或者可以有效合成许多活性物质被开发为“细胞工厂”，常被用于酶制剂、重组蛋白、有机酸以及次级代谢产物的生产。丝状真菌菌体的生长形态对工业发酵具有关键意义，对发酵产品的品质及发酵过程的控制均有显著影响。本课题组前期研究发现丝状真菌的菌丝形态直接影响着菌体的蛋白分泌，菌丝分枝的增多会使液体发酵时蛋白质的分泌量增加。随着丝状真菌形态研究的深入，对改变真菌菌丝体形态以提高发酵过程中目标代谢物产量的研究日益增多。尽管在真菌发酵形态与生产力的关系方向已有少量综述，但该领域的研究发展非常迅速，亟待更新。本文在对国内外相关研究报告进行大量调研的基础上，结合作者科研团队自己的研究发现，系统综述了丝状真菌的形态特征、真菌形态对工业发酵的影响及菌丝形态调控的方法和策略，以期增强国内相关学者对丝状真菌菌丝形态发育的认识，为合理开发适用于工业发酵的工程菌株提供思路。

关键词：丝状真菌；细胞工厂；蛋白质分泌；顶端分枝；侧向分枝

资助项目：国家自然科学基金(31800060)；福建省自然科学基金(2019I0009, 2020J01177)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31800060) and the Natural Science Foundation of Fujian Province (2019I0009, 2020J01177).

*Corresponding author. E-mail: qinln@fjnu.edu.cn

Received: 2023-10-19; Accepted: 2023-12-14; Published online: 2023-12-21

Filamentous morphology: a new frontier for genetic modification of filamentous fungal cell factories

KONG Weihua^{1,2}, YOU Wenjin^{1,2}, JIANG Xianzhang^{1,2}, HUANG Jianzhong^{1,2}, QIN Lina^{1,2*}

1 College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350000, Fujian, China

2 National Joint Engineering Research Center of Industrial Microbiology and Fermentation Technology, Fuzhou 350000, Fujian, China

Abstract: Filamentous fungi are a group of eukaryotic microorganisms widely found in nature. Some filamentous fungi have been developed as “cell factories” and extensively used for the production of recombinant proteins, organic acids, and secondary metabolites due to their strong protein secretion capabilities or effective synthesis of many natural products. The growth morphology of filamentous fungi significantly influences the quality and quantity of fermented products. Previous research conducted by the authors’ group revealed that an increase in hyphal branches leads to enhanced protein secretion during liquid fermentation. With the development of morphological engineering of filamentous fungi, an increasing number of studies have focused on modifying fungal mycelium morphology to improve the yield of target metabolites during fermentation. While there have been a few reviews on the relationship between fungal fermentation morphology and productivity, research in this area is rapidly developing and requires updates. The paper presents a comprehensive review of domestic and international research reports, along with the authors’ own research findings, to systematically review the morphological patterns of filamentous fungi, the impact of fungal morphology on industrial fermentation, as well as methods and strategies for regulating mycelial morphology. The aim of this review is to enhance the understanding of relevant domestic scholars regarding the morphological development of filamentous fungi and provide ideas for the rational engineering of fungal strains suitable for industrial fermentation.

Keywords: filamentous fungi; cell factory; protein secretion; apical branch; lateral branch

丝状真菌作为高效的细胞生产工厂, 常被用于有机酸、酶和天然产物等多种高价值商业产品的生产, 在工业生产中发挥着重要作用^[1-3]。丝状真菌的生长形态对菌体的蛋白分泌量以及工业生产时发酵过程的控制均有很大影响^[4-5], 本实验室在前期研究中, 以工业生产菌株里氏木霉(*Trichoderma reesei*)为研究对象, 鉴定翻转酶基因 *drs2* 对其纤维素酶表达及分泌的影响。研究发现, 在对里氏木霉的 *drs2* 基因进行敲除后, Δ *drs2* 菌株菌丝直径变短且分枝增多, 在纤

维素诱导条件下的总蛋白分泌量显著提高, 推测里氏木霉的菌丝形态很可能与蛋白分泌有一定关系。对其进一步探究后发现 *Drs2* 蛋白定位于里氏木霉菌丝顶端的顶体位置^[6], 这表明该基因有可能通过影响菌丝分枝影响蛋白分泌。除此之外, 还有些丝状真菌是病原菌, 其菌丝形态的变化对自身的致病力也至关重要^[7], 菌丝形态的变化可以增强其侵袭力、毒力和致病能力, 在白色念珠菌(*Candida albicans*)中, 菌丝是关键毒力因素之一, 菌丝的生长会增强

菌株的毒力^[8-9]。因此,更好地了解丝状真菌的形态发育机理并研究其调控策略对丝状真菌在工业、农业、医药领域的应用研究都具有重大意义^[10]。然而,目前国内外关于丝状真菌形态的综述却较为少见。本文对丝状真菌形态变化(尤其是菌丝分枝)方面的研究进展进行了系统综述,归纳其可能存在的机理和菌丝形态对工业发酵的影响,并对影响菌丝形态变化的功能基因以及环境因素进行了总结,为丝状真菌遗传育种提供新的思路和切入点。

1 菌丝形态对工业菌种发酵性能的影响

丝状真菌的生长形态对发酵产品的产量及发酵过程的控制均有显著影响^[11-12],且不同的发酵产品对真菌形态的要求也各不相同,如图1所示。因此,控制丝状真菌形态的技术对工业

发酵非常重要^[14-15]。丝状真菌菌丝形态对目标产物生产效率的影响见表1。

1.1 真菌形态的优化可以改善发酵产品的产量

真菌形态的优化可以改善发酵产品的产量。除本课题组前期的研究外,国内还有研究表明,在对里氏木霉 *vps13* 基因进行敲除后,菌丝会变得更加密集,菌丝分枝也明显增多,且在进一步的液体发酵实验结果显示,该基因缺失会使蛋白产量及纤维素酶活力分别提高 16.4%和 21.9%^[16]。在对里氏木霉进行硫酸二乙酯诱变后,得到超分枝突变菌株 DES-15。在相同培养条件下,DES-15 菌株的纤维素酶产量相对于野生型增加了 66%,分泌的总蛋白增加了将近 50%^[17]。在黑曲霉中也已经有了以改变真菌形态来提高发酵时酶产量的研究,比如菌体在分散形态下可以使 β -葡萄糖苷酶的产量增加,在

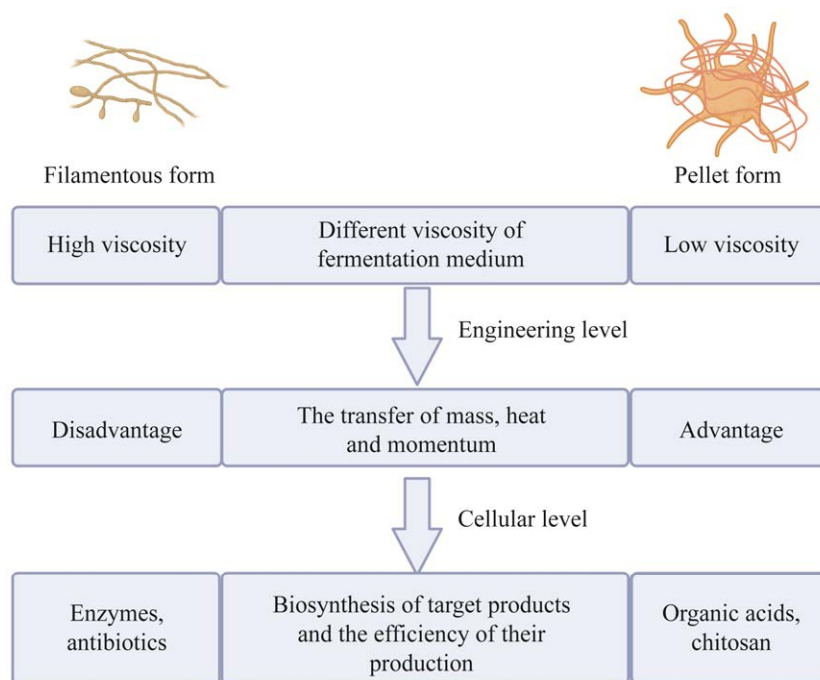


图1 菌丝形态对发酵的影响^[13]

Figure 1 Effect of mycelial morphology on fermentation^[13].

表 1 丝状真菌菌丝形态对目标产物生产效率的影响

Table 1 Effect of mycelial morphology on the production efficiency of target products in filamentous fungi

Organism	Product	Method of morphology engineering	Beneficial cell morphology	References
<i>Trichoderma reesei</i>	Cellulase	Δvps	Hyperbranching	[16]
<i>Trichoderma reesei</i>	Cellulase	Diethyl sulfite mutagenesis	Hyperbranching	[17]
<i>Aspergillus niger</i>	β -glucosidase	Inoculum concentration, pH	Dispersed mycelium	[18]
<i>Aspergillus carbonarius</i>	Polygalacturonase	Chemical mutants	Hyperbranching	[19]
<i>Aspergillus oryzae</i>	Phytase, Cellulase, Xylanase, Amylase	Microparticles	Smaller pellets	[20]
<i>Aspergillus niger</i>	Fructofuranosidase, glucoamylase	Microparticles	Smaller pellets	[21]
<i>Aspergillus niger</i>	Fructofuranosidase	Osmolality	Pellets	[22]
<i>Trichoderma viride</i>	Cellulase	Microparticles	Large pellets	[23]
<i>Actinomadura namibiensis</i>	Labyrinthopeptin	Salt concentration	Smaller pellets	[24]
<i>Rhizopus oryzae</i>	Fumaric acid, L-malic acid	Surfactants	Smaller pellets	[25]
<i>Rhizopus oryzae</i>	Fumaric acid	pH, temperature, agitation speed, inoculum concentration	Smaller pellets	[26]
<i>Aspergillus niger</i>	Fructofuranosidase	Microparticles	Dispersed mycelium	[27]
<i>Rhizopus chinensis</i>	Lipase	Inoculum concentration, agitation speed	Aggregated mycelium, pellets	[28]
<i>Aspergillus oryzae</i>	Lipase	Spore concentration, nitrogen source supply, agitation optimization	Pellets	[29]
<i>Chaetomium globosum</i>	β -D-glucuronidase	Microparticles	Smaller pellets	[30]
<i>Streptomyces flocculus</i>	Lavendamycin methyl ester	Agitation speed	Dispersed mycelium	[32]
<i>Neurospora crassa</i>	Total protein	$\Delta gul-1$	Hyperbranching	[33]
<i>Trichoderma reesei</i>	Cellulase	$\Delta gull$	Hyperbranching	[34]
<i>Trichoderma reesei</i>	L-malic acid	$\Delta gull$	Hyperbranching	[35]
<i>Streptomyces albus</i>	Pamamycin	Macroparticles	Smaller pellets	[36]

测试的实验条件下该酶的产量增加多达 4 倍^[18]。国外也有研究发现菌丝尖端数量较少的突变体 UV-10S 相对于野生型酶分泌减少了 40%，菌丝尖端较多的突变株 Chem-36 的酶分泌量比野生型高 60%^[19]。除此之外，添加微粒、表面活性剂，或改变接种浓度、PH 和渗透压等，也可以改变菌体的形态，并显著提高发酵时的生产效率^[20-30]。以上结果表明，真菌菌丝形态的改变可以提高发酵产品的产量，说明真菌形态可以在

工程菌株的改良中作为提高产量的重要靶点。

1.2 丝状真菌的生长形态对发酵过程控制的影响

不同形态的菌体会直接影响发酵过程中发酵罐内的基质传递及发酵过程中对物理参数的测量和控制，从而影响生物反应器内目标产物的产量和生产率。在搅拌式发酵罐发酵过程中，团块状丝状真菌的菌丝可能会缠绕在发酵装置的搅拌器及感应电极上，造成传质传氧的限制

并影响发酵参数的读取, 最终导致发酵失败, 造成无法挽回的经济损失。但是在进行转盘上固定化丝状真菌生产时, 这种形态却能够很好地固定于转盘等载体之上^[31]。并且, 发酵培养基的黏度极大地影响了发酵罐的热量和动量的传递, 而菌丝分枝的增多可以有效解决该问题。由此可见, 不同的发酵工程对丝状真菌形态的需求差别很大, 同时, 通过调整发酵工艺的参数也能影响菌落形态并显著提高发酵产量^[26,28,32]。因此, 控制丝状真菌生长形态的技术已成为提高目标产物产量的研究热点。

有研究发现, 在粗糙脉孢霉(*Neurospora crassa*)中敲除 *gul-1* 基因会导致发酵时发酵液的黏度降低。与野生型相比, $\Delta gul-1$ 突变体在以微晶纤维素(avicel)为碳源的培养条件下分泌的蛋白增加了 25%, 在以蔗糖、果糖和木糖为碳源的培养条件下分泌的蛋白分别增加了 181%、57%和 43%^[33]。后续有研究在里氏木霉中对 *gul* 基因进行了敲除, 发现里氏木霉 $\Delta gull$ 菌株的菌丝相对于亲本菌株产生更多的侧分枝, 并且在纤维素酶生产条件下, *gul* 基因的缺失也会导致菌丝体团块减小, 发酵液黏度显著降低, 纤维素酶的产生相对于亲本菌株提高了 22%^[34]。在上述研究的基础上, 还有研究在过表达苹果酸的里氏木霉工程菌株中对 *gul* 基因进行了敲除, 解决了该菌株补料分批发酵过程中发酵液浓稠的问题, 使发酵产物苹果酸含量进一步提高^[35]。因此, 形态改造可以作为工程菌株定向改造的优良策略。

1.3 真菌形态对代谢产物种类的影响

丝状真菌在发酵过程中的形态分为丝状或球状。其中, 丝状分为自由散丝(mycelium)和菌丝聚集体(clump), 球状分为表面粗糙型(rough pellet)和表面光滑型(smooth pellet)^[14]。

生长形态与不同工业相关化合物的生产直

接相关。分散的菌丝体有利于丝状真菌细胞的呼吸, 但使流变性相对变差, 适用于酶制剂和抗生素等产品的生产; 规则的、适宜大小的球状真菌则有利于有机酸、壳聚糖等产品的生产^[31]。比如丝状真菌黑曲霉(*Aspergillus niger*)在液体发酵时, 发酵产品为淀粉酶时的首选发酵形态为散丝形态(mycelium), 而柠檬酸的首选形态为菌丝缠绕形成的菌丝聚集体形态(clump)^[14]。因此, 对于发酵产品的生产, 需要根据具体的菌株和产品特性选择合适的菌丝形态, 并进行相应的调控和优化。除此之外, 不同的菌丝形态可能会导致不同的代谢途径被激活, 从而产生不同的代谢产物。在链霉菌的研究中, 添加滑石颗粒会使菌体形态变为缩小 6 倍的颗粒从而使帕马霉素产量提高。对其进行转录组分析后发现该形态的变化极大地影响了基因表达, 相关基因大幅上调^[36]。因此, 菌体形态还可能通过在基因水平触发产物形成来直接影响生产力。

2 丝状真菌菌丝的分枝模式

丝状真菌菌丝的分枝过程是真菌菌落发育的基本特征, 其重要性不可低估。菌丝分枝形成的两个基本过程是极性建立和极性维持, 这可以解释丝状真菌中菌丝形态与生长方式的大部分变化^[37]。通过对菌丝形态变化的分析, 可以提出两种丝状真菌极性位点建立的模型。第一种是以完整的隔膜为屏障, 阻碍囊泡的极性流动使囊泡堆积而触发新的极性建立的理论模型^[38]; 第二种是在没有任何前提条件下随机建立极性的理论模型。无论哪一种理论模型, 菌丝形态变化的过程都可以分解为以下步骤: 在第一阶段时, 将形态发生机制所需的成分即细胞表面局部扩张和细胞壁沉积所需的细胞骨架和囊泡运输系统的成分定位到极性建立的位点; 在第二阶段时, 产生一个稳定的极性轴,

引导新分枝的出现; 第三阶段也就是最后一步, 新菌丝尖端成熟并逐渐达到最大延伸率。

一般情况下, 丝状真菌会有两种分枝模式, 菌丝尖端细胞发生分裂形成的顶端分枝和由根尖下细胞产生的侧向分枝^[39], 如图 2 所示。

2.1 顶端分枝

通常情况下, 菌丝尖端的存在会抑制局部区域另一个尖端的形成(即抑制分枝形成), 这种现象被称为顶端优势^[40]。缺乏顶端优势会导致丝状真菌的菌丝生长混乱, 从而损害菌落的生长^[38]。在生理水平上, 顶端优势意味着载有细胞表面扩张所需成分的胞外囊泡主要供给了菌丝尖端而牺牲了潜在的极性建立位点^[40]。因此, 只有在与生长尖端具有足够距离的位点, 分枝现象才会变得活跃^[38]。一般来说, 菌丝分枝的形成意味着新的极性建立^[38]。但顶端分枝是一个例外, 顶端分枝不仅反映了现有的极性分裂, 还意味着顶端优势的破坏。

在菌丝顶端出现的分枝被称为顶端分枝, 通常情况下, 这种模式可以在快速延伸的菌丝中观察到, 这可能是分泌囊泡向菌丝尖端供应的囊泡量超出了现有菌丝尖端的接收能力而触

发的结果。分泌囊泡的积累导致了新的尖端形成, 从而产生顶端分枝。目前还没有直接证据来支持这一观点, 但在粗糙脉孢霉中已有研究表明, 在顶端分枝之前会有菌丝生长减慢和菌丝尖端变形的现象, 同时伴随着顶体的消失。当菌丝生长速度恢复正常时, 两个或多个菌丝就会从变形的菌丝尖端出现, 并且每个菌丝都有一个顶体^[41]。顶体被认为是一个囊泡转运中心, 指导菌丝延伸的方向^[39]。还有一些真菌的顶端分枝似乎是一个与菌丝快速延伸相关的程序化特征。在棉囊阿舒氏酵母(*Ashbya gossypii*)中, 侧分枝模式发生在菌丝的扩展速率从 $5 \mu\text{m/h}$ 增加到最大速率 $170 \mu\text{m/h}$ 的过程中, 当它们达到最大速率 $170 \mu\text{m/h}$ 时, 就会转向顶端分枝模式^[42]。这种转换模式反映了棉囊阿舒氏酵母菌丝的单个尖端无法容纳菌丝最大速度延伸时大量分泌囊泡的现象。

2.2 侧向分枝

侧分枝是真菌菌丝所表现出的主要分枝模式, 该模式中新的分枝位点远离菌丝尖端, 与菌丝尖端被一个或多个隔膜分开^[38]。与顶端分枝不同, 侧分枝的形成对菌丝的延伸速度及其

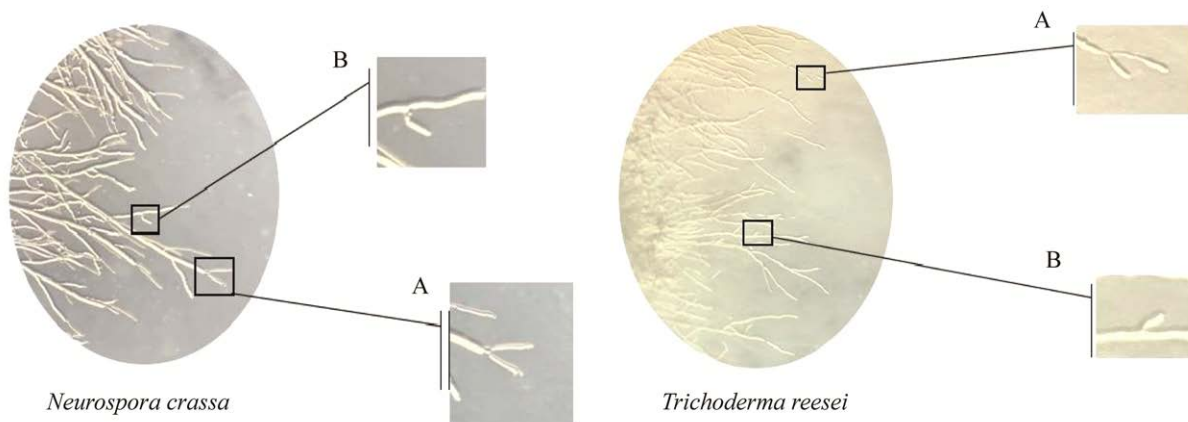


图 2 不同的菌丝分枝模式 A: 顶端分枝. B: 侧向分枝

Figure 2 Different mycelial branching patterns. A: Apical branche. B: Lateral branche.

顶端的形状没有明显影响。并且，侧分枝的形成往往伴随着新的顶体形成，而顶端分枝的形成伴随着顶体的暂时消失^[38]。这些观察是在粗糙脉孢霉中进行的，它们可能不适用于所有的真菌菌丝。但上述观察结果与菌丝顶端包含可以抑制其他菌丝分枝的物质的观点是一致的^[40]：只有当一个位点距离尖端足够远时，才可以避免被尖端的物质影响，进而使菌丝发生侧向分枝。

与隔膜相关的分枝和随机分枝是常见的两种侧向分枝模式。出现在隔膜附近的分枝模式即为与隔膜相关的分枝模式。虽然菌丝内部向顶端的囊泡堆积可能触发侧分枝的产生，但這些侧分枝与顶端的分离表明，侧分枝形成的过程是独立于菌丝顶端的^[43]。与这一观点一致的是，侧向分枝需要形成一个新的顶体来支持新生菌丝的延伸^[43]。随机分枝的特点在于菌丝分枝与隔膜之间没有关联，它的形成可能是因为囊泡的随机积累和其他理化因素诱导。随机分枝通常出现于粗糙脉孢霉的次顶端细胞和构

巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)的顶端细胞。这些真菌的共同特征是形成不完整的隔膜，这可能是由于其截留囊泡的能力不如其他完整或多孔的隔膜。

3 菌丝形态变化的影响因素

由于菌丝形态对微妙的环境变量高度敏感，这使菌丝形态突变的表型看起来不稳定且难以追踪，所以尚未对菌丝形态有缺陷的突变体进行大规模筛选^[43]。但通过特定基因的功能表征鉴定也可以发现一些与菌丝形态有关的基因产物并得到一些具有超分枝或低分枝表型的突变体。相关影响因素在真菌细胞中的分布如图3所示。

3.1 顶体在菌丝形态变化中的作用

顶体是一种动态结构，存在于菌丝形态变化时高度极性生长的部位，在菌丝的极性建立中起着重要作用并决定了菌丝的生长方向^[7]。

Bartnicki-Garcia^[44]曾提出囊泡供给中心模型(vesicle

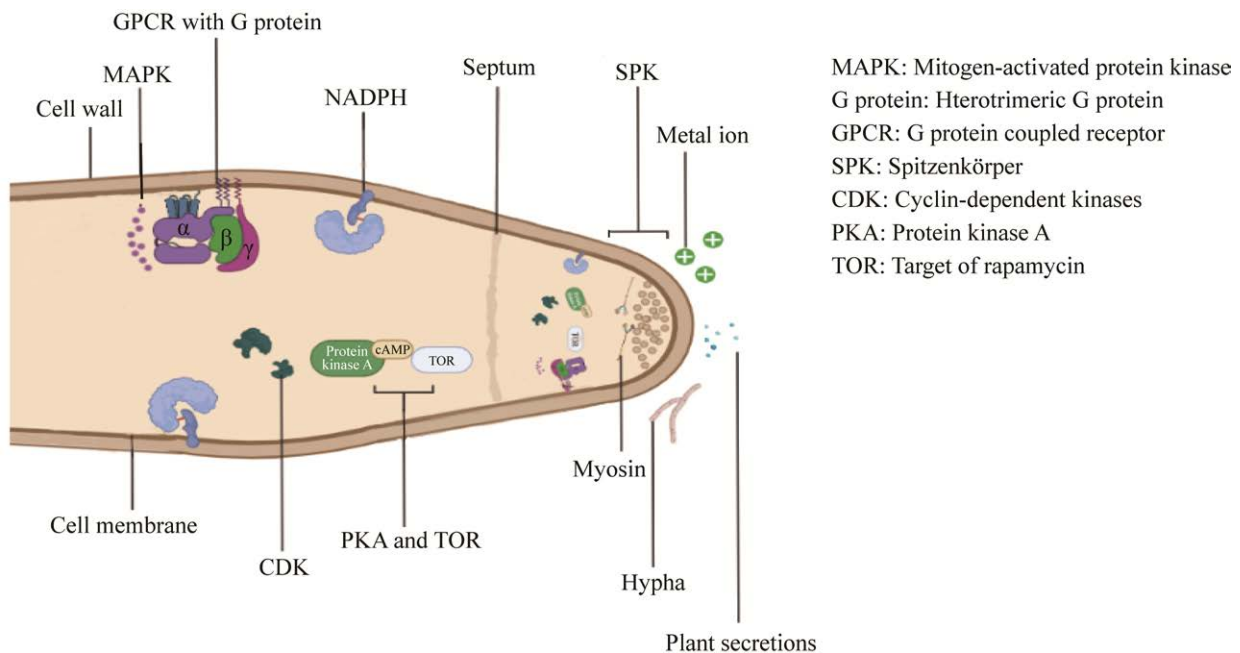


图3 影响菌丝形态的相关因素

Figure 3 Factors associated with mycelial morphology.

supply center model, VSC), 并指出顶体是分泌囊泡自我组装的位置。分泌囊泡会在顶体与胞吐体(exocyst)相互作用后被运送到细胞表面, 与细胞膜融合并且释放里面的物质。分泌囊泡包含着与菌丝极性相关的细胞极性调节蛋白(Bem1、Cdc42 和 Cdc24)和细胞骨架蛋白(肌动蛋白和微管蛋白)^[45], 并负责将这些蛋白定向运输到菌丝的极性生长区域, 从而调节菌丝的生长和极性。胞吐体是一种蛋白质八聚体, 其主要成分为 Sec3、Sec5、Sec6、Sec8、Sec10、Sec15、Exo70 和 Exo84, 它们与 Rho-GTPase (Cdc42、Rho1、Rho3)和 Sec4 互作^[46-47], 如图 4 所示。在香蕉枯萎病菌(*Fusarium odoratissimum*)的研究中, *exo70* 和 *sec5* 基因的单独缺失均会导致菌丝生长速率变慢, 直径相对野生型变小。但除了 *exo70* 和 *sec5* 外, 其他的基因均无法在香蕉枯萎病菌和稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)中取得敲除突变株^[46,48]。这可能是因为这些基因参与胞吐体的组装、稳定性维持、调节或其他重要功能, 敲除这些基因可能导致细胞无法正

常进行外分泌过程, 进而导致细胞的死亡。除此之外, 本课题组研究发现, 对里氏木霉定位于顶体位置的蛋白 Drs2 进行缺失后, $\Delta drs2$ 菌株菌丝直径变短且分枝增多, 在纤维素诱导条件下的总蛋白分泌量也会提高^[6]。

3.2 活性氧对菌丝分枝的影响

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是含氧且性质活泼的物质, 主要包括过氧化氢(H_2O_2)、超氧阴离子(O_2^-)等^[49]。最近的研究表明, ROS 含量的减少往往伴随着菌丝分枝的增多, 且 ROS 含量的增多也会使菌丝分枝减少^[50]。在丝状真菌中, ROS 的主要来源是 NADPH 氧化酶, 该酶是一种可以将电子从 NADPH 转移到电子受体的蛋白质, 由 NoxA、NoxB、NoxR、Bem1、Rac1 和 Cdc24 这 6 个主要亚基组装而成^[51], 见图 5。其中, NoxA 或 NoxR 的缺失会导致粗糙脉孢霉菌丝生长范围减小, 莱氏野村菌(*Nomuraea rileyi*)的菌丝分枝增多; 而 NoxB 的缺失不会对粗糙脉孢霉和莱氏野村菌菌丝的生长有影响^[52]。鸟嘌呤核苷酸交换因子 Cdc24 和支架蛋白 Bem1

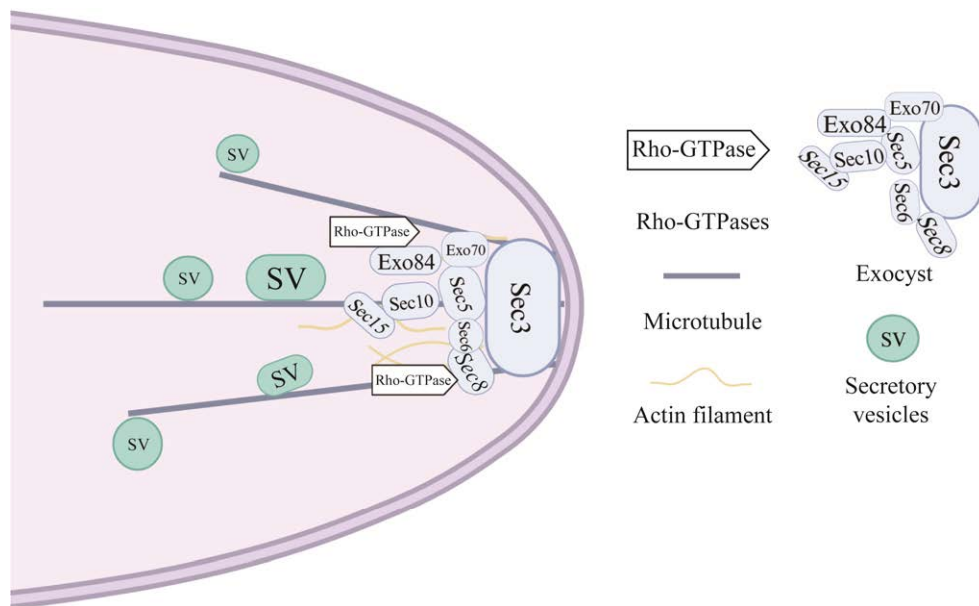


图 4 囊泡供给中心模型
Figure 4 Vesicle supply centre model.

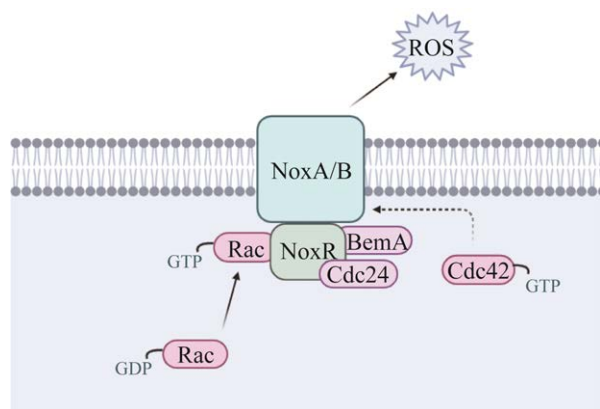


图5 NADPH 氧化酶模型

Figure 5 NADPH oxidase model. ROS: Reactive oxygen species.

是丝状真菌极性建立机制的关键组成部分^[53]。其中，Cdc24 的缺失是致命的，Bem1 的缺失能够相对正常地发育但会使菌丝中的细胞壁有轻微受损，菌丝尖端形状发生一定改变^[54]。Rac1 不仅是 NADPH 氧化酶的一部分，同时也作为 Rho 型 GTP 酶家族的相关成员在丝状真菌细胞极性的控制中发挥着重要的作用^[55]。Rac1 是丝状真菌独有而酵母没有的，在玉米瘤黑粉 (*Ustilago maydis*)、麦角菌 (*Claviceps purpurea*) 和粗糙脉孢霉中，Rac1 的缺失严重损害了菌丝极性的维持，在麦角菌和粗糙脉孢霉中菌丝还出现了超分枝现象^[55]。和 Rac1 一样，Cdc42 也是 Rho 型 GTP 酶家族的相关成员。在构巢曲霉中，Cdc42 调节隔膜的形成是菌丝极性建立形成侧分枝所必需的。在酵母中，Cdc42 负责将细胞骨架和囊泡运输机制引入极性生长位点，且 Cdc42 在酵母中不可缺失。需要注意的是，对于丝状真菌来说，无论是 Rac1 还是 Cdc42 都不是菌丝生长所必需的，但两者同时缺失的双突变株却是致死的^[55]，这可能是因为 Rac1 和 Cdc42 除了在建立和维持细胞极性过程中发挥作用外，还具有其他共同的基本功能。

3.3 G 蛋白信号与 MAP 激酶途径

G 蛋白偶联系统由 G 蛋白偶联受体 (G protein coupled receptor, GPCR)、异三聚体 G 蛋白 (heterotrimeric G protein, 简称 G 蛋白)、下游效应因子以及信号调节蛋白 4 部分组成^[56]，该系统已被证实能够参与调控菌丝形态分化^[57-58]。其中，G 蛋白通常由 α -亚基、 β -亚基和 γ 亚基组成。在金针菇 (*Flammulina filiformis*) 中，基因 *FfGal* (编码 $G\alpha$ 亚基的 1 个基因) 被证实正向调控菌丝生长^[59]。在构巢曲霉中，*fadA* 编码异源三聚体 G 蛋白的 α 亚基，该基因的缺失会导致菌丝侧分枝几乎消失^[38]。而目前还没有任何一个单一的 GPCR 缺失突变体具有明显的分枝缺陷^[60-61]，这可能是因为构巢曲霉基因组编码了至少 16 个不同的 GPCR，功能冗余掩盖了这种作用。

丝裂原活化蛋白 (mitogen-activated protein, MAP) 激酶信号通路由丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)、MAPK 激酶、MAPK 激酶激酶组成，是 G 蛋白的下游信号途径，负责将信号从细胞表面传导到细胞核内部。已有研究表明，G 蛋白的下游信号途径 MAP 激酶介导的信号通路也参与了使菌丝局部形态发生变化的反应途径^[3]。在粗糙脉孢霉中，MAP 激酶在调控菌丝形态和发育中起着重要作用。MAK-2 是粗糙脉孢霉中的一个 MAP 激酶，当 MAK-2 缺失时，菌丝的生长形态会受到影响，菌丝的分枝频率会降低^[62]。

3.4 细胞周期蛋白依赖性激酶在菌丝形态中的作用

菌丝生长及菌丝形态变化而产生分枝的时间和位置都可能受到单个菌丝细胞水平上的调节，细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinases, CDKs) 参加了该途径^[63]。CDKs 是一类蛋白激酶，在菌丝形态发生过程中，CDKs 与

细胞周期蛋白一起调控细胞周期的进程, 从而控制菌丝的生长和分化。在多态性真菌白色念珠菌中, CDKs 在控制其极性建立、隔膜形成以及从出芽到菌丝生长的过渡中均起着关键作用^[64]。在酵母中, 阻断 CDKs 磷酸化会导致酵母生长过程中 Spa2 在菌丝中无法正常定位, 在某些诱导条件下甚至会导致菌丝形态异常^[65]。CDKs 同样是稻瘟菌正常生长发育所必需的, CDKs 亚基 Cks1 的缺失会使菌株在菌丝生长、有性生殖和分生孢子形成方面严重受损, 但 Cks1 缺失的突变体会导致对水稻的致病性降低^[66]。该途径的改造会使丝状真菌的其他生长发育过程受损, 不利于工业生产。因此, 在构建工程菌株的过程中, 应尽量避免细胞周期蛋白依赖性激酶相关途径的改造。但该途径对于真菌介导的植物感染至关重要, 深入研究可为生物防治方面的应用提供参考。

3.5 菌丝营养对菌丝生长的影响

除上述途径外, 菌丝分枝形成与菌丝营养生长密切相关, 菌丝是真菌生长的主要形态, 它的分枝形成能够增加菌丝的面积, 有利于吸收营养和扩展生长空间。可能参与其调控的信号模块包括蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 和雷帕霉素靶标途径(target of rapamycin, TOR)^[67]。PKA 是一种重要的信号传导分子, 在真菌中起着调控细胞生长和发育的关键作用^[3]。在黑曲霉中, *pkaC* 基因的过表达改变了黑曲霉在发酵过程中的菌丝体形态, 并使柠檬酸浓度增加了 1.87 倍^[68]。禾谷镰刀菌中, PKA 的催化亚基 Cpk1 缺失时菌丝明显减少^[69]。TOR 信号通路的靶标在真核生物的细胞生长的营养信号转导调节中起重要作用。酿酒酵母中, TOR 复合物 1 靶标的下游效应物蛋白激酶 Sch9 缺失后突变体在气生菌丝生长、菌丝分枝和分生孢子萌发方面存在缺陷^[70], 该途径的改造虽然也会

使菌丝形态发生改变, 但同样可能会使丝状真菌的其他生长发育受损, 不利于工业生产。最近的研究发现, TOR 信号通路除了参与真菌的发育外还参与了真菌的毒力调控^[71], 因此, 该途径值得深入研究以挖掘更多针对病原性真菌的药物靶点。

3.6 肌球蛋白对菌丝形态的影响

肌球蛋白(myosin)是 ABPs 的一个超家族, 具有结构和运动功能。自然界存在超过 35 类肌球蛋白, 但在丝状真菌中, 只有 3 个类群存在, 并且在大多数真菌中, 每个类群只有一个成员^[72]。在构巢曲霉和粗糙脉孢霉中研究发现, 肌球蛋白分别属于 I、II 和 V 类。MYO-1 (I 类) 是一种在内吞膜形成过程中与聚集肌动蛋白(actin)有关的蛋白质^[73], 对菌丝的极化生长和蛋白分泌也至关重要; MYO-2 (II 类) 在隔膜形成过程中具有结构和收缩功能^[74-75]; MYO-5 (V 类) 的成员只参与细胞内的货物运输, 如分泌囊泡、液泡或线粒体^[72,76]。在稻瘟病菌的研究中发现, I 类肌球蛋白介导的内吞作用和极化生长对其自身的致病性至关重要^[77]。在构巢曲霉中, MYO-2 的缺失使菌落稀疏, 菌丝分枝变少; MYO-5 的缺失使菌落更加密集, 菌丝分枝的分枝变多^[72]。

3.7 金属离子对菌丝形态的影响

金属离子是细胞内的重要营养元素, 对细胞的正常生长和代谢起着重要作用。而金属离子对菌丝形态产生影响的原因可能涉及多个方面。在营养需求和细胞内信号传导方面, 适量的金属离子可以满足细胞的营养需求, 促进菌丝的分枝和生长, 而过高或过低的金属离子浓度又可能导致菌丝的生长和分枝被抑制, 例如: 锌(Zn)、铁(Fe)、钾(K)和钙(Ca)^[78]。还有某些金属离子对于菌丝具有毒性, 高浓度时会对菌丝的生长和分枝产生抑制作用, 例如: 镉(Cd)、

铅(Pb)、汞(Hg)^[79]。还有的金属离子通过影响真菌的细胞壁结构与组成进而影响菌丝形态。例如, 锌离子可以增加细菌和真菌细胞壁中壳聚糖的沉积, 阻止菌丝的延伸, 从而影响菌丝的分枝和形态^[80]。金属离子与培养基成分之间也会相互作用, 比如低于 2.0×10^{-5} mol/L 的 Fe^{2+} 中添加 $MgSO_4$ 可以降低 Fe^{2+} 对菌丝生长的促进作用^[81]。最近在阿萨希丝孢酵母(*Trichosporon asahii*)中的研究也表明了 Mg^{2+} 可以触发丝状真菌的菌丝生长^[82]。需要注意的是, 具体金属离子对菌丝分枝的影响可能因菌株、环境条件和金属离子的浓度而异, 具体的工作浓度还需要进一步探索。

3.8 植物分泌物

分枝的形成显然是丝状真菌的内在特征, 但外部因素对菌丝分枝的影响在真菌与植物的相互作用中也很明显^[38]。丝状真菌的菌丝和陆地植物根系之间建立了一系列相互作用, 植物分泌物可以对丝状真菌菌丝分枝的形成产生诱导作用。丛枝菌根真菌(*Arbuscular mycorrhizal fungi*)在没有目标寄主的情况下, 孢子虽然会萌发, 但产生的菌丝生长缓慢, 并表现出顶端优势。然而, 当存在来自寄主的根系分泌物时, 这种模式发生了显著的变化。这些分泌物包含刺激孢子萌发的因素, 消除顶端优势并触发大量菌丝分枝^[83]。对豆科植物日本百脉根(*Lotus japonicus*)的分泌物进行分析后发现, 影响分枝的是植物激素独脚金内酯。这种植物激素还可以抑制植物分枝和介导植物与寄生微生物的交流^[84]。独脚金内酯促进菌丝分枝的机制及其对其他真菌的作用程度是进一步研究的重要方向。

3.9 菌丝之间的互作

菌丝融合在真菌菌丝发育过程中发挥着关键作用, 它可以促进相邻菌丝之间交换营养物质和信号, 同时也可以诱导菌丝的生长^[85]。已

有研究表明^[86], 粗糙脉孢霉菌丝的尖端可以诱导邻近菌丝形成新的侧分枝。这可能涉及一种可扩散因子的分泌, 从而触发分枝, 该因子可能起到在早期分枝位点促进新顶体形成的作用。

4 展望

菌丝分枝形态是关乎丝状真菌各种生理功能表征的决定性因素。本文概括了目前调控菌丝形态发育的一些理论调控模型以及影响因素, 然而目前该方向的研究多为零星的发现, 尚缺乏系统研究。丝状真菌菌体的形态影响和限制了真菌在液体发酵过程中的生产力, 但目前菌丝形态还是不可预测且不可控制的。还有许多基础问题尚待解决, 如: 菌体是如何精准调控分枝发生的? 分枝位置选择的触发点是什么? 以及菌丝分枝与核分裂是如何关联的? 这些问题的解决还需真菌遗传学家在获得更多的菌丝形态发生改变的遗传突变体的基础上, 进行较为系统的研究。充分了解丝状真菌菌丝发育各个关键节点的调控机制, 有望在未来通过基因编辑的手段改变菌丝的形态, 使其更好地适应工业化大规模发酵生产。另外, 菌丝形态与病原真菌的致病性相关, 这方面的深入研究也有助于挖掘更多针对病原性真菌的药物靶点, 进而开发更多的药物用于防治病原性真菌引起的疾病。

REFERENCES

- [1] WAINAINA S, TAHERZADEH MJ. Automation and artificial intelligence in filamentous fungi-based bioprocesses: a review[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 369: 128421.
- [2] 曾祥伟, 邹瑶, 周玉萍, 田长恩. 丝状真菌表面展示技术研究进展[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(12): 5574-5587.
ZENG XW, ZHOU Y, ZHOU YP, TIAN CE. Research progress in surface display technology of filamentous

- fungi[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(12): 5574-5587 (in Chinese).
- [3] CAIRNS TC, ZHENG XM, ZHENG P, SUN JB, MEYER V. Moulding the mould: understanding and reprogramming filamentous fungal growth and morphogenesis for next generation cell factories[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2019, 12: 77.
- [4] GONGZH, ZHANG S, LIU J. Recent advances in chitin biosynthesis associated with the morphology and secondary metabolite synthesis of filamentous fungi in submerged fermentation[J]. *Journal of Fungi*, 2023, 9(2): 205.
- [5] MEYER V, CAIRNS T, BARTHEL L, KING R, KUNZ P, SCHMIDEDER S, MÜLLER H, BRIESEN H, DINIUS A, KRULL R. Understanding and controlling filamentous growth of fungal cell factories: novel tools and opportunities for targeted morphology engineering[J]. *Fungal Biology and Biotechnology*, 2021, 8(1): 8.
- [6] 杨鑫, 何若男, 江贤章, 刘晓东, 秦丽娜. 里氏木霉翻转酶 DRS2 对木质纤维素降解酶基因表达及分泌的影响[J]. *微生物学报*, 2022, 62(4): 1549-1562.
- YANG X, HE RN, JIANG XZ, LIU XD, QIN LN. Effects of flippase DRS2 on expression and secretion of lignocellulases in *Trichoderma reesei*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(4): 1549-1562 (in Chinese).
- [7] RIQUELME M, AGUIRRE J, BARTNICKI-GARCÍA S, BRAUS GH, FELDBRÜGGE M, FLEIG U, HANSBERG W, HERRERA-ESTRELLA A, KÄMPER J, KÜCK U, MOURIÑO-PÉREZ RR, TAKESHITA N, FISCHER R. Fungal morphogenesis, from the polarized growth of hyphae to complex reproduction and infection structures[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 2018, 82(2): e00068-e00017.
- [8] 周文婷, 李琛妍, 黄凯黎, 董蕙华, 黄雯, 黄衍强, 黄干荣. 白色念珠菌菌丝形成与黏附侵袭致病的调控机制研究[J]. *右江民族医学院学报*, 2022, 44(5): 744-748.
- ZHOU WT, LI CY, HUANG KL, DONG HH, HUANG W, HUANG YQ, HUANG GR. Study on the regulation mechanism of *Candida albicans* mycelia formation and adhesion invasion [J]. *Journal of Youjiang Medical University for Nationalities*, 2022, 44(5): 744-748 (in Chinese).
- [9] 王东月, 李运清. 白色念珠菌菌丝的形成机制及防治[J]. *济宁医学院学报*, 2020, 43(5): 356-361.
- WANG DY, LI YQ. The formation mechanism and prevention of *Candida albicans* hyphae[J]. *Journal of Jining Medical University*, 2020, 43(5): 356-361 (in Chinese).
- [10] KARAHALIL E, COBAN HB, TURHAN I. A current approach to the control of filamentous fungal growth in media: microparticle enhanced cultivation technique[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2019, 39(2): 192-201.
- [11] 熊强, 徐晴, 顾帅, 李霜. 丝状真菌形态控制及其在发酵过程优化中的应用[J]. *生物工程学报*, 2012, 28(2): 178-190.
- XIONG Q, XU Q, GU S, LI S. Controlling the morphology of filamentous fungi for optimization of fermentation process[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2012, 28(2): 178-190 (in Chinese).
- [12] BÖL M, SCHRINNER K, TESCHE S, KRULL R. Challenges of influencing cellular morphology by morphology engineering techniques and mechanical induced stress on filamentous pellet systems—a critical review[J]. *Engineering in Life Sciences*, 2021, 21(3/4): 51-67.
- [13] 刘瑞桑, 汤亚杰, 白凤武. 丝状真菌液体深层发酵过程菌丝聚集的调控机制[J]. *生物工程学报*, 2019, 35(5): 749-758.
- LIU RS, TANG YJ, BAI FW. Regulatory mechanism underlying mycelium aggregation during filamentous fungi submerged fermentation[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2019, 35(5): 749-758 (in Chinese).
- [14] DINIUS A, KOZANECKA ZJ, HOFFMANN KP, KRULL R. Intensification of bioprocesses with filamentous microorganisms[J]. *Physical Sciences Reviews*, 2023.
- [15] VEITER L, RAJAMANICKAM V, HERWIG C. The filamentous fungal pellet—relationship between morphology and productivity[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(7): 2997-3006.
- [16] 刘瑞艳, 侯运华, 王逸凡, 钱远超, 钟耀华. 里氏木霉 VPS13 基因缺失对菌丝分枝、生孢和纤维素酶产量的影响[J]. *微生物学报*, 2017, 57(10): 1555-1566.
- LIU RY, HOU YH, WANG YF, QIAN YC, ZHONG YH. Effects of VPS13 deletion on hyphal branch, sporulation and cellulase production in *Trichoderma reesei*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2017, 57(10): 1555-1566 (in Chinese).
- [17] HE RL, LI C, MA LJ, ZHANG DY, CHEN SL. Effect of highly branched hyphal morphology on the enhanced production of cellulase in *Trichoderma reesei*

- DES-15[J]. 3 Biotech, 2016, 6(2): 214.
- [18] BUFFO MM, FERREIRA ALZ, ALMEIDARMRG, FARINAS CS, BADINO AC, XIMENES EA, LADISCH MR. Cellulolytic enzymes production guided by morphology engineering[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2021, 149: 109833.
- [19] MATHIMARAN A, KUMAR A. Changes in morphogenesis and carotenogenesis to influence polygalacturonase secretion in *Aspergillus carbonarius* mutant[J]. Archives of Microbiology, 2020, 202(6): 1285-1293.
- [20] SINGH B. Engineering fungal morphology for enhanced production of hydrolytic enzymes by *Aspergillus oryzae* SBS50 using microparticles[J]. 3 Biotech, 2018, 8(6): 283.
- [21] DRIOUCH H, HÄNSCH R, WUCHERPFENNIG T, KRULL R, WITTMANN C. Improved enzyme production by bio-pellets of *Aspergillus niger*: targeted morphology engineering using titanate microparticles[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2012, 109(2): 462-471.
- [22] WUCHERPFENNIG T, HESTLER T, KRULL R. Morphology engineering: osmolality and its effect on *Aspergillus niger* morphology and productivity[J]. Microbial Cell Factories, 2011, 10: 58.
- [23] DONG MY, WANG SY, XU FQ, LI QQ, LI WJ. Addition of aluminum oxide microparticles to *Trichoderma viride* my preculture enhances cellulase production and influences fungal morphology[J]. Engineering in Life Sciences, 2018, 18(6): 353-358.
- [24] TESCHE S, RÖSEMEIER-SCHEUMANN R, LOHR J, RENÉ HK, BÜCHS J, KRULL R. Salt-enhanced cultivation as a morphology engineering tool for filamentous actinomycetes: increased production of labyrinthopeptin A1 in *Actinoadura namibiensis*[J]. Engineering in Life Sciences, 2019, 19(11): 781-794.
- [25] WU N, ZHANG JH, OU W, CHEN YR, WANG R, LI K, SUN XM, LI YF, XU Q, HUANG H. Transcriptome analysis of *Rhizopus oryzae* seed pellet formation using triethanolamine[J]. Biotechnology for Biofuels, 2021, 14(1): 1-11.
- [26] DAS RK, BRAR SK. Enhanced fumaric acid production from brewery wastewater and insight into the morphology of *Rhizopus oryzae* 1526[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2014, 172(6): 2974-2988.
- [27] DRIOUCH H, ROTH A, DERSCH P, WITTMANN C. Optimized bioprocess for production of fructofuranosidase by recombinant *Aspergillus niger*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 87(6): 2011-2024.
- [28] TENG Y, XU Y, WANG D. Changes in morphology of *Rhizopus chinensis* in submerged fermentation and their effect on production of mycelium-bound lipase[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2009, 32(3): 397-405.
- [29] LI C, XU D, XIONG ZY, YANG YM, TIAN GW, WU XZ, WANG YH, ZHUANG YP, CHU J, TIAN XW. Optimization of the fermentative production of *Rhizomucor miehei* lipase in *Aspergillus oryzae* by controlling morphology[J]. Bioengineering, 2022, 9(11): 610.
- [30] DU LQ, GAO BL, LIANG JF, WANG Y, XIAO YW, ZHU D. Microparticle-enhanced *Chaetomium globosum* DX-THS3 β -D-glucuronidase production by controlled fungal morphology in submerged fermentation[J]. 3 Biotech, 2020, 10(3): 100.
- [31] 黄和, 李霜, 熊强, 徐晴, 顾帅. 控制丝状真菌发酵过程中生长形态的方法: CN201110114771.X[P]. 2013-09-18.
- HUANG H, LI S, XIONG Q, XU Q, GU S. Method for controlling the growth morphology of filamentous fungi during fermentation process: CN201110114771.X[P]. 2013-09-18 (in Chinese).
- [32] XIA X, LINSJ, XIA XX, CONG FS, ZHONG JJ. Significance of agitation-induced shear stress on mycelium morphology and lavendermycin production by engineered *Streptomyces flocculus*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(10): 4399-4407.
- [33] LIN LC, SUN ZY, LI JG, CHEN Y, LIU Q, SUN WL, TIAN CG. Disruption of gul-1 decreased the culture viscosity and improved protein secretion in the filamentous fungus *Neurospora crassa*[J]. Microbial Cell Factories, 2018, 17(1): 96.
- [34] ZHAO QQ, LIU Q, WANG Q, QIN YQ, ZHONG YH, GAO LW, LIU GD, QU YB. Disruption of the *Trichoderma reesei* gul1 gene stimulates hyphal branching and reduces broth viscosity in cellulase production[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2021, 48(1/2): kuab012.
- [35] CHEN YM, WANG JJ, WANG M, HAN A, ZHAO XQ, WANG W, WEI DZ. Engineering the metabolism and morphology of the filamentous fungus *Trichoderma reesei* for efficient L-malic acid production[J]. Bioresource Technology, 2023, 387: 129629.

- [36] KUHLM, GLÄSER L, REBETS Y, RÜCKERT C, SARKAR N, HARTSCH T, KALINOWSKI J, LUZHETSKYY A, WITTMANN C. Microparticles globally reprogram *Streptomyces albus* toward accelerated morphogenesis, streamlined carbon core metabolism, and enhanced production of the antituberculosis polyketide pamamycin[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2020, 117(12): 3858-3875.
- [37] HARRIS SD. Hyphal morphogenesis: an evolutionary perspective[J]. *Fungal Biology*, 2011, 115(6): 475-484.
- [38] HARRIS SD. Branching of fungal hyphae: regulation, mechanisms and comparison with other branching systems[J]. *Mycologia*, 2008, 100(6): 823-832.
- [39] HARRIS SD. Hyphal branching in filamentous fungi[J]. *Developmental Biology*, 2019, 451(1): 35-39.
- [40] SEMIGHINI CP, HARRIS SD. Regulation of apical dominance in *Aspergillus nidulans* hyphae by reactive oxygen species[J]. *Genetics*, 2008, 179(4): 1919-1932.
- [41] COUDERT Y, HARRIS S, CHARRIER B. Design principles of branching morphogenesis in filamentous organisms[J]. *Current Biology*, 2019, 29(21): R1149-R1162.
- [42] WENDLAND J. Sporulation in *Ashbya gossypii*[J]. *Journal of Fungi*, 2020, 6(3): 157.
- [43] WATTERS MK. Control of Branching in *Neurospora crassa*[M]. Norfolk: Caister Academic Press, 2013.
- [44] Bartnicki-Garcia S, Hergert F, Gierz G. Computer-simulation of fungal morphogenesis and the mathematical basis for hyphal(tip) growth[J]. *Protoplasma*, 1989, 153(1/2): 46-57.
- [45] RIQUELME M, SÁNCHEZ-LEÓN E. The spitzenkörper: a choreographer of fungal growth and morphogenesis[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2014, 20: 27-33.
- [46] YANG S, ZHOU X, GUO PT, LIN YQ, FAN QW, ZURIEGAT Q, LU SM, YANG JJ, YU WY, LIU H, LU GD, SHIM WB, WANG ZH, YUN YZ. The exocyst regulates hydrolytic enzyme secretion at hyphal tips and Septa in the banana *Fusarium* wilt fungus *Fusarium odoratissimum*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2021, 87(17): e0308820.
- [47] 潘园园, 刘钢. 中国丝状真菌次级代谢分子调控研究进展[J]. *遗传*, 2018, 40(10): 874-887.
PAN YY, LIU G. Research advances on molecular regulation of filamentous fungal secondary metabolism in China[J]. *Hereditas (Beijing)*, 2018, 40(10): 874-887 (in Chinese).
- [48] GUPTA YK, DAGDAS YF, MARTINEZ-ROCHA AL, KERSHAW MJ, LITTLEJOHN GR, RYDER LS, SKLENAR J, MENKE F, TALBOT NJ. Septin-dependent assembly of the exocyst is essential for plant infection by *Magnaporthe oryzae*[J]. *The Plant Cell*, 2015, 27(11): 3277-3289.
- [49] 王阳, 黄楚森, 贾能勤. 监测细胞微环境及活性分子的有机小分子荧光探针[J]. *化学进展*, 2020, 32(2): 204-218.
WANG Y, HUANG CS, JIA NQ. Molecular fluorescent probe for monitoring cellular microenvironment and active molecules[J]. *Progress in Chemistry*, 2020, 32(2): 204-218 (in Chinese).
- [50] 邓超群. 莱氏野村菌 *NoxA*、*NoxB* 和 *NoxR* 基因的功能研究[D]. 重庆: 重庆大学硕士学位论文, 2020.
DENG CQ. The functional analysis of *NoxA*, *NoxB* and *NoxR* in *Nomuraea rileyi*[D]. Chongqing: Master's Thesis of Chongqing University, 2020 (in Chinese).
- [51] YAN JJ, TONG ZJ, LIU YY, LIN ZY, LONG Y, HAN X, XU WN, HUANG QH, TAO YX, XIE BG. The NADPH oxidase in *Volvariella volvacea* and its differential expression in response to mycelial ageing and mechanical injury[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2020, 51(1): 87-94.
- [52] CANO-DOMÍNGUEZ N, ALVAREZ-DELFIN K, HANSBERG W, AGUIRRE J. NADPH oxidases NOX-1 and NOX-2 require the regulatory subunit NOR-1 to control cell differentiation and growth in *Neurospora crassa*[J]. *Eukaryotic Cell*, 2008, 7(8): 1352-1361.
- [53] BI EF, PARK HO. Cell polarization and cytokinesis in budding yeast[J]. *Genetics*, 2012, 191(2): 347-387.
- [54] TAKEMOTO D, KAMAKURA S, SAIKIA S, BECKER Y, WRENN R, TANAKA A, SUMIMOTO H, SCOTT B. Polarity proteins Bem1 and Cdc24 are components of the filamentous fungal NADPH oxidase complex[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(7): 2861-2866.
- [55] ARAUJO-PALOMARES CL, RICHTHAMMER C, SEILER S, CASTRO-LONGORIA E. Functional characterization and cellular dynamics of the CDC-42-RAC-CDC-24 module in *Neurospora crassa*[J]. *PLoS One*, 2011, 6(11): e27148.
- [56] 李利, 陈莎, 毛涛, 陈福生. 丝状真菌 G 蛋白信号途径的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2013, 40(8): 1493-1507.
LI L, CHEN S, MAO T, CHEN FS. Heterotrimeric

- G-protein signaling in filamentous fungi: a review[J]. *Microbiology China*, 2013, 40(8): 1493-1507 (in Chinese).
- [57] 赵勇, 王云川, 蒋德伟, 苏浩, 杨金奎. 真菌 G 蛋白信号调控蛋白的功能研究进展[J]. *微生物学通报*, 2014, 41(4): 712-718.
Zhao Y, Wang YC, Jiang DW, SU H, YANG JK. Advances in functional research of RGS proteins in fungi[J]. *Microbiology China*, 2014, 41(4): 712-718 (in Chinese).
- [58] ZHANG HF, TANG W, LIU KY, HUANG Q, ZHANG X, YAN X, CHEN Y, WANG JS, QI ZQ, WANG ZY, ZHENG XB, WANG P, ZHANG ZG. Eight RGS and RGS-like proteins orchestrate growth, differentiation, and pathogenicity of *Magnaporthe oryzae*[J]. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(12): e1002450.
- [59] DU MY, XIE YB, WANG M, YANG H, HU BH, MUKHTAR I, LIU YY, TAO YX, LIU F, XIE BG. FFGA1 protein is essential for regulating vegetative growth, cell wall integrity, and protection against stress in *Flammulina filiformis*[J]. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 2022, 8(4): 401.
- [60] BROWN NA, SCHREVE S, van DIJCK P, GOLDMAN GH. Fungal G-protein-coupled receptors: mediators of pathogenesis and targets for disease control[J]. *Nature Microbiology*, 2018, 3(4): 402-414.
- [61] AFFELDT KJ, CARRIG J, AMARE M, KELLER NP. Global survey of canonical *Aspergillus flavus* G protein-coupled receptors[J]. *mBio*, 2014, 5(5): e01501-01514.
- [62] GRAS DE, PERSINOTI GF, PERES NTA, MARTINEZ-ROSSI NM, TAHIRA AC, REIS EM, PRADE RA, ROSSI A. Transcriptional profiling of *Neurospora crassa* Δ mak-2 reveals that mitogen-activated protein kinase MAK-2 participates in the phosphate signaling pathway[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2013, 60: 140-149.
- [63] LIU KH, SHEN WC. Sexual differentiation is coordinately regulated by *Cryptococcus neoformans* CRK1 and GAT1[J]. *Genes*, 2020, 11(6): 669.
- [64] HOSSAIN S, LASH E, VERI AO, COWEN LE. Functional connections between cell cycle and proteostasis in the regulation of *Candida albicans* morphogenesis[J]. *Cell Reports*, 2021, 34(8): 108781.
- [65] WANG HT, HUANG ZX, AU YONG JY, ZOU H, ZENG GS, GAO JX, WANG YM, WONG AHH, WANG Y. CDK phosphorylates the polarisome scaffold Spa2 to maintain its localization at the site of cell growth[J]. *Molecular Microbiology*, 2016, 101(2): 250-264.
- [66] YUE XF, QUE YW, DENG SZ, XU L, OSES-RUIZ M, TALBOT NJ, PENG YL, WANG ZY. The cyclin dependent kinase subunit Cks1 is required for infection-associated development of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*[J]. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(10): 3959-3981.
- [67] BROACH JR. Nutritional control of growth and development in yeast[J]. *Genetics*, 2012, 192(1): 73-105.
- [68] ZHENG XM, CAIRNS TC, NI XM, ZHANG LH, ZHAI HH, MEYER V, ZHENG P, SUN JB. Comprehensively dissecting the hub regulation of PkaC on high-productivity and pellet macromorphology in citric acid producing *Aspergillus niger*[J]. *Microbial Biotechnology*, 2022, 15(6): 1867-1882.
- [69] HU S, ZHOU XY, GU XY, CAO SL, WANG CF, XU JR. The cAMP-PKA pathway regulates growth, sexual and asexual differentiation, and pathogenesis in *Fusarium graminearum*[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, 2014, 27(6): 557-566.
- [70] GU Q, ZHANG CQ, YU FW, YIN YN, SHIM WB, MA ZH. Protein kinase FgSch9 serves as a mediator of the target of rapamycin and high osmolarity glycerol pathways and regulates multiple stress responses and secondary metabolism in *Fusarium graminearum*[J]. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(8): 2661-2676.
- [71] VANGALIS V, MARKAKIS EA, KNOP M, di PIETRO A, TYPAS MA, PAPAIOANNOU IA. Components of TOR and MAP kinase signaling control chemotropism and pathogenicity in the fungal pathogen *Verticillium dahliae*[J]. *Microbiological Research*, 2023, 271: 127361.
- [72] TAHERI-TALESH N, XIONG Y, OAKLEY BR. The functions of myosin II and myosin V homologs in tip growth and septation in *Aspergillus nidulans*[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31218.
- [73] LARA-ROJAS F, BARTNICKI-GARCÍA S, MOURIÑO-PÉREZ RR. Localization and role of MYO-1, an endocytic protein in hyphae of *Neurospora crassa*[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2016, 88: 24-34.
- [74] CALVERT MEK, WRIGHT GD, LEONG FY, CHIAM KH, CHEN YX, JEDD G, BALASUBRAMANIAN MK. Myosin concentration underlies cell size-dependent scalability of actomyosin ring

- constriction[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2011, 195(5): 799-813.
- [75] DELGADO-ÁLVAREZ DL, BARTNICKI-GARCÍA S, SEILER S, MOURIÑO-PÉREZ RR. Septum development in *Neurospora crassa*: the septal actomyosin tangle[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e96744.
- [76] ZHANG J, TAN K, WU XF, CHEN GF, SUN JJ, RECK-PETERSON SL, HAMMER JA 3rd, XIANG X. *Aspergillus myosin-V* supports polarized growth in the absence of microtubule-based transport[J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e28575.
- [77] ZHENG CC, ZHANG WW, ZHANG SL, YANG GG, TAN LY, GUO M. Class I myosin mediated endocytosis and polarization growth is essential for pathogenicity of *Magnaporthe oryzae*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2021, 105(19): 7395-7410.
- [78] GAJEWSKA J, FLORYSZAK-WIECZOREK J, SOBIESZCZUK-NOWICKA E, MATTOO A, ARASIMOWICZ-JELONEK M. Fungal and oomycete pathogens and heavy metals: an inglorious couple in the environment[J]. *IMA Fungus*, 2022, 13(1): 6.
- [79] KARAFFA L, FEKETE E, KUBICEK CP. The role of metal ions in fungal organic acid accumulation[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(6): 1267.
- [80] ROBINSON JR, ISIKHUEMHEN OS, ANIKE FN. Fungal-metal interactions: a review of toxicity and homeostasis[J]. *Journal of Fungi*, 2021, 7(3): 225.
- [81] 黄勋娟, 刁宁宁, 张建国. 黑曲霉菌丝球的形成及应用研究综述[J]. *食品与发酵工业*, 2014, 40(11): 171-176.
- HUANG XJ, DIAO NN, ZHANG JG. Review on the formation of *Aspergillus niger* pellets and its application[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2014, 40(11): 171-176 (in Chinese).
- [82] AOKI K, YAMAMOTO K, OHKUMA M, SUGITA T, TANAKA N, TAKASHIMA M. Hyphal growth in *Trichosporon asahii* is accelerated by the addition of magnesium[J]. *Microbiology Spectrum*, 2023, 11(3): e0424222.
- [83] 尚赏, 王平, 陈彩艳. 丛枝菌根形成过程及其信号转导途径[J]. *植物生理学报*, 2011, 47(4): 331-338.
- SHANG S, WANG P, CHEN CY. Signal recognition and transduction in the arbuscular mycorrhizal symbiosis[J]. *Plant Physiology Journal*, 2011, 47(4): 331-338 (in Chinese).
- [84] NAGATA M, YAMAMOTO N, MIYAMOTO T, SHIMOMURA A, ARIMA S, HIRSCH AM, SUZUKI A. Enhanced hyphal growth of arbuscular mycorrhizae by root exudates derived from high R/FR treated *Lotus japonicus*[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2016, 11(6): e1187356.
- [85] FLEIßNER A, OOSTLANDER AG, WELL L. Highly conserved, but highly specific: somatic cell-cell fusion in filamentous fungi[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2022, 79: 102140.
- [86] HICKEY PC, JACOBSON D, READ ND, GLASS NL. Live-cell imaging of vegetative hyphal fusion in *Neurospora crassa*[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2022, 37(1): 109-119.

(本文责编 陈宏宇)