

转录因子PdTP1在指状青霉中调控 α -松油醇合成及菌株生长的分子机制

黄佳琳¹, 张婷¹, 王子轩², 张佳月¹, 王婧玥², 安康¹, 程慧如¹, 王静文¹, 张璐璐^{1*}

(1. 河南工业大学粮油食品学院, 河南郑州 450001) (2. 河南工业大学国际教育学院, 河南郑州 450001)

摘要: 为了完善 Zn₂Cys₆ 型转录因子 PdTP1 的调控网络, 该研究通过转录组测序技术筛选与指状青霉 (*Penicillium digitatum*) DSM 62840 生物转化柠檬烯生成 α -松油醇及调控菌株生长相关的基因, 挖掘相关通路。该研究通过对野生型菌株 DSM 62840 和 PdTP1 沉默菌株进行转录组测序来探究差异表达基因的主要代谢途径及生物学功能, 并结合荧光定量 PCR 验证转录组测序结果的可靠性。结果表明, 共鉴定到差异表达基因 1 221 个, 其中上调基因 499 个, 下调基因 722 个, GO 和 KEGG 分析显示这些差异表达基因显著富集在糖、氨基酸、脂肪酸等物质的代谢与合成过程中。其中, 一些与萜类代谢或合成、真菌生长以及应激响应相关基因的表达明显受到 PdTP1 的调控, 表明这些基因可能在参与柠檬烯生物转化生成 α -松油醇、调控指状青霉生长中发挥重要作用。荧光定量 PCR 的实验结果也证实了转录组的可靠性。综上, 该研究通过研究 PdTP1 调控基因转录水平上的变化, 完善了其转录调控网络, 进一步为阐明转录因子 PdTP1 在调控 α -松油醇合成及菌株生长中的分子机制提供依据。

关键词: 转录因子 PdTP1; α -松油醇; 菌株生长; 转录组; 基因

文章编号: 1673-9078(2026)03-64-74

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.3.0031

Molecular Mechanism of the Transcription Factor PdTP1 in Regulating α -Terpineol Biosynthesis and Fungal Growth in *Penicillium digitatum*

HUANG Jialin¹, ZHANG Ting¹, WANG Zixuan², ZHANG Jiayue¹, WANG Jingyue²,

AN Kang¹, CHENG Huiru¹, WANG Jingwen¹, ZHANG Lulu^{1*}

(1.College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

(2.College of International Education, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: To enhance the regulatory network of the Zn₂Cys₆-type transcription factor, PdTP1, this study employed transcriptome sequencing technology to screen for genes related to the biotransformation of limonene into α -terpineol by *Penicillium digitatum* DSM 62840 and the regulation of fungal growth. Transcriptome sequencing was performed on the wild-type *P. digitatum* DSM 62840 and PdTP1-silenced strains to investigate the metabolic pathways and biological functions of key differentially expressed genes (DEGs). Reliability of the transcriptome sequencing results was verified through quantitative real-time PCR. A

引文格式:

黄佳琳,张婷,王子轩,等.转录因子PdTP1在指状青霉中调控 α -松油醇合成及菌株生长的分子机制[J].现代食品科技,2026,42(3):64-74.

HUANG Jialin, ZHANG Ting, WANG Zixuan, et al. Molecular mechanism of the transcription factor PdTP1 in regulating α -terpineol biosynthesis and fungal growth in *Penicillium digitatum* [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(3): 64-74.

收稿日期: 2025-01-08; 修回日期: 2025-04-30; 接受日期: 2025-05-01

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (32101868); 中国博士后科学基金面上项目 (2024M760795); 河南省博士后启动经费资助项目 (HN2025039); 河南省科技研发计划联合基金 (242103810080); 河南工业大学高层次人才基金项目 (2021BS054)

作者简介: 黄佳琳 (2001-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然萜类物质生物合成, E-mail: 1761284464@qq.com

通讯作者: 张璐璐 (1992-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然萜类物质生物合成, E-mail: zhanglulu_haut@163.com

total of 1 221 DEGs, including 499 upregulated and 722 downregulated genes, were identified. GO and KEGG analyses indicated that these DEGs were significantly enriched in the metabolism and biosynthesis of various substances, including sugars, amino acids, and fatty acids. Among them, the expression of certain genes related to terpene metabolism or synthesis, fungal growth, and the stress response were significantly regulated by PdTP1, suggesting that these genes may play important roles in regulating the biotransformation of limonene to α -terpineol and the growth of *P. digitatum*. Reliability of the transcriptome sequencing results was confirmed by the quantitative real-time PCR results. In summary, this study refined the regulatory network of the transcription factor, PdTP1, by examining variations in gene transcription regulated by it, providing evidence for elucidating the molecular mechanisms by which PdTP1 regulates α -terpineol biosynthesis and fungal growth.

Key words: PdTP1; α -terpineol; fungal growth; transcriptome; genes

α -松油醇作为松油醇（分子为 $C_{10}H_{18}O$ ，图 1）最常见的一种同分异构体，是一种重要的天然单萜类化合物，具有海桐花的清香气息和紫丁香、铃兰的鲜幽香气，广泛存在于多种植物精油中。由于其独特的感官特性以及抗癌、抗炎、抗菌、抗氧化、镇痛、止泻、胃保护、神经保护和心脏保护等生物学活性，使得 α -松油醇已经在食品、医药、农业、化工等领域中广泛应用^[1-4]。

目前， α -松油醇的主要来源是从植物中直接提取或通过化学方法合成。然而，直接从植物中提取容易受到季节、环境等因素的影响，产量低，难以满足工业化生产的需求。化学合成 α -松油醇通常是以酸为催化剂，催化松节油或蒎烯通过水合、脱水后制得 α -松油醇，或以固体酸、阳离子交换树脂等为催化剂催化蒎烯一步合成 α -松油醇^[5-10]，环境不友好、成本高。因此，微生物转化法已经成为 α -松油醇生产的重要方向。

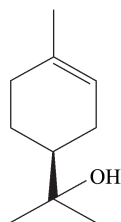


图 1 α -松油醇的化学结构

Fig.1 Chemical structure of α -terpineol

微生物转化是指利用微生物（细菌、真菌、酵母、植物细胞等）或其酶系，把一种化合物转变为结构相关的有经济价值的另一种化合物，具有反应条件温和、环境友好、产物选择性高等优点^[11]。柠檬烯作为柑橘加工的副产物，廉价且容易获得，通过微生物转化将其转化为香气更浓、应用更为广泛、商业价值更高的 α -松油醇，不仅可以提高经济效益，还能促进资源的可持续利用^[12,13]。

近年来，研究人员已经筛选和鉴定出多种微生物，能够转化柠檬烯生成 α -松油醇，并对菌株的转化效果、转化条件、影响因素等进行研究。Velázquez

等^[14]发现尼日尔曲霉（*Aspergillus niger* LBM 055）在添加 *R*-(+)-柠檬烯、橙子和柠檬精油的培养基中表现出较高的耐受性和生长速率，并且有较强的转化能力，能够转化柠檬烯生成包括 α -松油醇在内的多种产物，其中产物分子量小于柠檬烯的占 64%~100%，介于柠檬烯和 α -松油醇之间的占 12%~72%，大于 α -松油醇的占 2%~48%。Bier 等^[15]研究了内生真菌拟茎点霉（*Phomopsis* sp.）在不同培养条件下的柠檬烯代谢产物，发现该菌株能够转化柠檬烯生成不同的转化产物，如柠檬烯-1,2-二醇（主要转化产物）、 α -松油醇、香芹酮、薄荷醇和香芹醇等。Adams 等^[16]发现指状青霉对两种不同旋光异构的柠檬烯转化生产 α -松油醇的效率存在很大差异，且有机溶剂的种类严重影响转化效果。Tai 等^[17]发现在指状青霉培养对数中期加入底物 *R*-(+)-柠檬烯，产物 α -松油醇的质量浓度最高，达 $608.72 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，而在其他时期加入 α -松油醇产量下降明显。上述研究结果表明大多数微生物转化柠檬烯生产 α -松油醇存在产量低、转化率低、副产物多等问题，导致 α -松油醇类化合物产业发展受阻，究其原因是柠檬烯生物转化生成 α -松油醇的分子机制还不清楚。

指状青霉 DSM 62840 能够转化柠檬烯获得产物单一、产量较高的 α -松油醇，是一种可用于工业化生产的潜在菌株。该实验室前期研究发现 Zn_2Cys_6 型转录因子 PDIDSM_85260（命名为 PdTP1）在增强指状青霉生物转化柠檬烯生成 α -松油醇以及调控菌株生长和环境胁迫响应方面发挥重要作用，沉默 *PdTP1* 能够抑制柠檬烯微生物转化过程，降低 α -松油醇产量，抑制指状青霉的生长，影响对胞外金属离子和 H_2O_2 的敏感性^[18]，然而其具体的调控机制还不清楚。 Zn_2Cys_6 型转录因子是一类具有锌指结构域的蛋白质，是真菌特有的转录因子，能够参与调控真菌的基础代谢、次级代谢以及药物抗性过程，在真菌的生长和代谢过程中发挥着重要的作用^[19,20]。转录因子能够通过与靶基因启动子结合，调控基因的转录活性，影响基因的表达水平^[21-24]，推测转录因子 PdTP1 可能通过结合指状青

霉 DSM 62840 生物转化柠檬烯生产 α -松油醇过程中的重要基因的启动子区域来调控这些基因的表达,从而直接或间接影响 α -松油醇的生物合成过程。因此,该研究以野生型菌株 DSM 62840 和 *PdTP1* 沉默菌株为材料,通过研究 *PdTP1* 调控基因转录水平上的变化,分析 *PdTP1* 调控 α -松油醇合成以及菌株生长的分子机制,为工业化微生物转化生产 α -松油醇奠定基础,同时也为产 α -松油醇菌株代谢工程育种相关研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

指状青霉 DSM 62840 (野生型菌株) 由该实验室保存。基因 *PdTP1* 沉默菌株通过 RNAi 技术获得,由该实验室保存^[18]。野生型菌株和 *PdTP1* 沉默菌株接种于 PDA 斜面上,25 °C 培养 5~7 d 后,4 °C 保存。

PDA 培养基:称取马铃薯提取物粉 3 g,葡萄糖 20 g,琼脂粉 14 g,添加蒸馏水定容至 1 L。

MYB 培养基:称取 10 g 葡萄糖,10 g 蛋白胨,20 g 麦芽提取物,30 g 酵母提取物,添加蒸馏水定容至 1 L。

吐温 80、NaCl、葡萄糖由天津市大茂化学试剂厂购入;无水乙醇、异丙醇、氯仿由国药集团化学试剂有限公司购入;琼脂糖、Trizol 由上海生工生物工程有限公司购入;马铃薯提取物粉由生物风国际生物试剂物流中心购入;琼脂粉由北京索莱宝科技有限公司购入;麦芽提取物、酵母提取物由赛默飞世尔科技(中国)有限公司购入;蛋白胨由北京奥博星生物技术有限公司购入。

1.2 仪器与设备

Fx303-1 型电热培养箱,上海树立仪器仪表有限公司;YX280/15 高压蒸汽灭菌锅,上海三申医疗器械有限公司;SW-CJ-1D 型洁净工作台,上海力辰邦西仪器科技有限公司;XB-K-25 血球计数板,上海市求精生化试剂有限公司;SHZ-D(III) 循环水式多用真空泵,巩义市英峪高科仪器厂;QL901 涡旋振荡仪,海门其林贝尔;Qubit 4.0 荧光定量仪,ThermoFisher;7500 Software 荧光定量 PCR 仪,美国 ABI。

1.3 试验方法

1.3.1 孢子悬浮液的制备

将 4 °C 放置的野生型菌株和 *PdTP1* 沉默菌株转接于新鲜的 PDA 斜面培养基上,进行活化处理,25 °C 培养 5~7 d 后,加入适量的 0.85% NaCl 和 0.1% Tween 80 混合溶液,用接种环轻轻刮取斜面培养基表面

的孢子使其悬浮。随后,将粗制成的孢子悬浮液转移至一个干净的无菌离心管中,并用无菌纱布过滤以除去培养基碎片和菌丝体,得到孢子悬浮液^[25]。用血细胞计数板计数,控制孢子悬浮液的浓度为 1.5×10^7 spores·mL⁻¹^[26]。

1.3.2 样品制备

分别取野生型菌株和 *PdTP1* 沉默菌株的孢子悬浮液(1 mL)接种于 100 mL MYB 培养基中,24 °C,150 r·min⁻¹ 振荡培养 48 h,真空抽滤得到菌体,液氮速冻后置于 -80 °C 保存。一共 2 种样品,每种样品设置 3 个生物学重复。

1.3.3 总 RNA 提取

使用 Trizol 法提取总 RNA^[18],具体操作如下:液氮预冷研钵,并向其中加入 100 mg 左右菌体,充分研磨至粉末状,再用 RNase free 枪头将其移到装有 1 mL Trizol 的 2 mL RNase free 离心管中,于漩涡振荡器上混匀,冰上静置 5 min;加入 200 μ L 氯仿,盖紧后于漩涡振荡器上振荡混匀,12 000 $\times$ g、4 °C 离心 15 min 后,混合物分成三层,RNA 主要在上层水相中;将上清液转移到另一 RNase free 离心管中,向其中加入等体积的异丙醇,颠倒混匀,12 000 $\times$ g、4 °C 离心 10 min,弃除上清;缓慢加入 650 μ L 的无水乙醇,微微转动,10 000 $\times$ g、4 °C 离心 2 min,弃除上清,重复该步骤;10 000 $\times$ g、4 °C 离心 2 min 后,将离心管打开,放在超净台中静置 5 min,干燥沉淀;向已干燥的沉淀中加入 40~60 μ L RNase free water,用微量移液枪吸头吹打混匀后保存在 -80 °C;用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳及 Qubit 4.0 检测 RNA 的质量浓度。

1.3.4 文库构建及转录组测序

文库构建及测序由武汉爱基百客生物科技有限公司完成,具体操作如下:对 RNA 样品适温变性打开其二级结构,并用 oligo(dT) 磁珠富集 mRNA;向得到的 mRNA 中加入适量打断试剂,适温条件下使其片断化,以打断后的 mRNA 为模板合成一链 cDNA,并配置二链合成反应体系合成二链 cDNA;配制反应体系,适温反应一定时间,修复双链 cDNA 末端,在 3' 末端加上“A”碱基;配制接头连接反应体系,适温反应一定时间,使接头与 cDNA 连接,之后对连接产物进行纯化,并进行 PCR 扩增;对扩增后的 PCR 产物通过磁珠纯化回收目的片段,纯化后的文库溶于 Elution Buffer 中,得到 cDNA 文库;构建好的文库用 Qubit 4.0 和 QSep400 进行质量浓度检测和片段大小检测,库检合格后按照标准操作对其在 DNBSEQ-T7 测序平台上进行测序。

1.3.5 转录组分析

为保证后续分析的准确,使用 fastqc 软件 (version: 0.11.5) 过滤掉低质量数据,得到 clean reads; 以指状青霉 DSM 62840 基因组作为参考基因组 (收录号 JAAQRF000000000), 将 clean reads 数据使用 hisat2 软件 (version: 2.0.1-beta) 比对到参考基因组上^[27]; 使用 featureCounts 软件 (version: v1.6.0) 根据基因组的注释文件统计出 reads 落在基因上的数目, 并对其进行 FPKM (Fragments Per Kilobase of Exon Per Million Reads Mapped) 标准化, 估算基因表达水平; 通过 R 包 edgeR 进行差异表达分析, 以差异倍数 (Fold Change, FC) > 2 且错误发现率 (False Discovery Rate, FDR) < 0.05 为标准筛选差异表达基因 (Differentially Expressed Genes, DEGs)^[28], 并对 DEGs 进行基因功能注释 (Gene Ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 富集分析^[29]。同时, 将转录组数据上传至 NCBI's Sequence Read Archive (SRA), 收录号为 PRJNA1120657。

1.3.6 荧光定量PCR (Quantitative Real-time Polymerase Chain Reaction, RT-qPCR) 验证

表 1 RT-qPCR引物信息

Table 1 Primers information of RT-qPCR	
引物	引物序列 (5'-3')
<i>β-actin</i> F	ACATTGGTGCTTCGTGATTATTCG
<i>β-actin</i> R	ACCTTGATTCCCTGCGTCTTCTC
<i>PDIDSM_38260</i> F	ATCCAGATTCCTACGCTATTCATCC
<i>PDIDSM_38260</i> R	CAGACACTTCATTGGCAACAGAC
<i>PDIDSM_67430</i> F	CCACCATAGAGGCGATGAAGC
<i>PDIDSM_67430</i> R	CCAGAATGTCCTTACGAGCAGTC
<i>PDIDSM_43160</i> F	TCTCGGACTCGGCGGTTG
<i>PDIDSM_43160</i> R	TGGTGGAAGCAAGCAGGAAC
<i>PDIDSM_71940</i> F	TGCGTTGGCGGTTGCTATC
<i>PDIDSM_71940</i> R	ACTCGTATTCCTCTGCGTTGAAG
<i>PDIDSM_15410</i> F	CGTGCGAAGGCATTCTCC
<i>PDIDSM_15410</i> R	GGCAAGCAGGATGGCGATG

cDNA 的合成: 在冰浴的 nuclease-free PCR 管中加入 RNA、1 μL Random Primer p(dN)₆ (100 pmol)、1 μL dNTP Mix (终浓度 0.5 mmol·L⁻¹), 加 Rnase-free ddH₂O 补足到 14.5 μL, 轻轻混匀后离心 3~5 s, 随后在 65 °C 下温浴 5 min, 冰浴 2 min, 再次离心 3~5 s; 将试管冰浴, 并加入 4 μL 5×RT Buffer、0.5 μL Thermo Scientific RiboLock RNase Inhibitor (20 U)、1 μL Maxima Reverse Transcriptase (200 U), 轻轻混匀后离

心 3~5 s; 在 PCR 仪上进行反转录反应, 条件如下 25 °C 10 min, 50 °C 30 min, 85 °C 5 min; 获得的溶液保存在 -20 °C。

RT-qPCR 实验: 扩增体系为 0.4 μL 正向引物 (10 μmol·L⁻¹)、0.4 μL 反向引物 (10 μmol·L⁻¹)、2 μL cDNA、10 μL 2×SybrGreen qPCR Master Mix, 加 ddH₂O 补足到 20 μL。扩增程序为 95 °C 3 min; 95 °C 15 s, 60 °C 30 s (45 个循环)。每个样本设置 3 个生物学重复。内参基因为 *β-actin*, 引物序列见表 1。采用 2^{-ΔΔCT} 法计算各基因的相对表达水平。

1.3.7 数据分析

使用 Excel 2021 和 GraphPad Prism 5 软件进行数据处理和作图, 采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计学分析, 并应用独立样本 *t* 检验对其进行显著性分析 (**P* < 0.05, ***P* < 0.01)。

2 结果与讨论

2.1 总 RNA 提取

使用 Trizol 法提取野生型菌株和 *PdTP1* 沉默菌株的总 RNA, 并使用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳对其进行检测。结果如图 2 所示, 28、18 S 条带明显、清晰明亮, 使用 Qubit 4.0 测定样本的 RNA 完整值在 9.3 以上 (表 2), 说明 RNA 质量良好, 可保存备用。

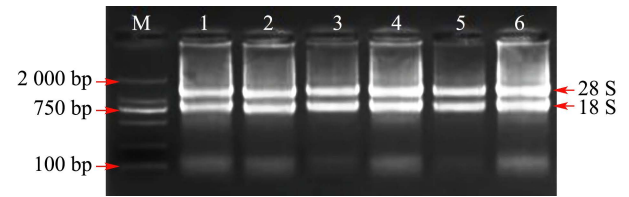


图 2 总 RNA 电泳图

Fig.2 Electrophoretic map of total RNA

注: M 为 marker, 1~6 分别为 WT-1、WT-2、WT-3、*PdTP1*-silenced-1、*PdTP1*-silenced-2、*PdTP1*-silenced-3 的总 RNA。

表 2 样本的总 RNA 信息

Table 2 Total RNA information of samples		
样本	样本质量浓度/(ng·μL ⁻¹)	RNA 完整值
野生型菌株-1 (WT-1)	1 330	9.4
野生型菌株-2 (WT-2)	1 140	9.4
野生型菌株-3 (WT-3)	608	9.5
<i>PdTP1</i> 沉默菌株-1 (<i>PdTP1</i> -silenced-1)	1 170	9.3
<i>PdTP1</i> 沉默菌株-2 (<i>PdTP1</i> -silenced-2)	482	9.5
<i>PdTP1</i> 沉默菌株-3 (<i>PdTP1</i> -silenced-3)	1 540	9.4

表 3 测序数据质量统计及参考基因组序列比对结果

Table 3 Quality statistics of sequencing data and alignment results of reference genome sequences									
样本	raw reads	raw bases	clean reads	clean bases	clean ratio/%	Q30/%	GC/%	mapped reads	map rate/%
WT-1	59 175 764	8 876 364 600	59 147 900	8 666 191 444	99.95	95.46	52.48	56 505 597	95.53
WT-2	54 374 424	8 156 163 600	54 352 418	8 020 209 055	99.96	95.44	52.62	52 293 011	96.21
WT-3	58 490 542	8 773 581 300	58 464 828	8 564 624 816	99.96	96.17	52.61	56 326 469	96.34
<i>PdTP1</i> -silenced-1	55 456 652	8 318 497 800	55 429 966	8 153 987 720	99.95	95.90	52.65	54 165 031	97.72
<i>PdTP1</i> -silenced-2	60 168 480	9 025 272 000	60 147 694	8 842 010 142	99.97	95.23	52.29	58 377 136	97.06
<i>PdTP1</i> -silenced-3	63 202 008	9 480 301 200	63 175 040	9 233 279 585	99.96	96.29	52.48	61 746 562	97.74

注：raw reads：原始测序 reads 数量；raw bases：原始测序数据的总碱基数；clean reads：将 raw reads 过滤得到的 reads 数量；clean bases：过滤得到的数据的总碱基数；clean ratio：clean reads 所占比例；Q30：测序错误率小于 0.1% 的碱基数目占总碱基数比例；GC：碱基 G 和 C 的数量占总的碱基数量的百分比；mapped reads：比对到参考基因组上的 reads 数量；map rate：mapped reads 所占比例。

2.2 测序数据质量分析与比对结果

对转录组测序获得的原始数据进行质控过滤，共得到 350 717 846 bp clean reads，每个样品 clean reads 的有效数据占原始数据的比例都在 99% 以上，Q30 碱基占总碱基的百分比均在 95% 以上，GC 碱基含量平均值为 52.52%，说明转录组测序产生的数据质量良好，可以用于下一步分析。将样本测序数据与参考基因组比对，发现每个样品比对参考基因组的的比对率都在 95% 以上，说明参考基因组选择合适，匹配度较高（表 3）。

2.3 样品相关性分析

根据各样本基因的表达量，利用 pearson 相关系数计算样本之间的相关性，并绘制热图，结果如图 3 所示，野生型菌株样本重复间相关系数大于 0.972，*PdTP1* 沉默菌株样品重复间相关系数大于 0.835，表明样本间重复性好，相关性强，数据质量好。

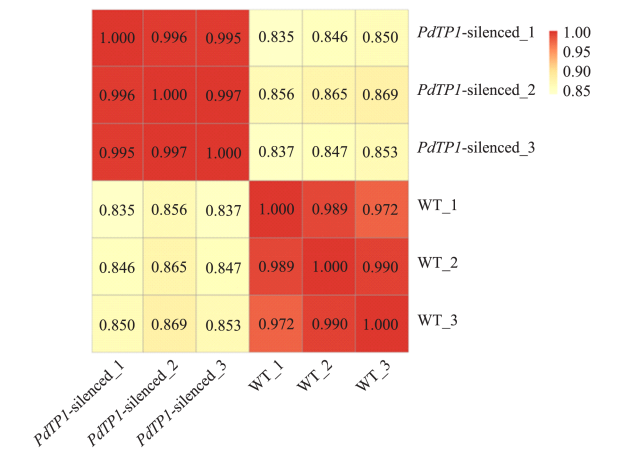


图 3 野生型菌株和 *PdTP1* 沉默菌株转录组的 Pearson 相关性分析

Fig.3 Pearson's correlation of transcriptome of *PdTP1*-silenced strain compared with that of wild-type strain

2.4 DEGs 分析

使用 R 包 edgeR 分析各样本 mRNA 的差异表达模式。以 $|\log_2FC| > 1$ 且 $FDR < 0.05$ 为标准筛选 DEGs，结果如图 4 所示。与野生型菌株相比，*PdTP1* 沉默菌株中共鉴定出 1 221 个 DEGs，其中 499 个基因上调，722 个基因下调。

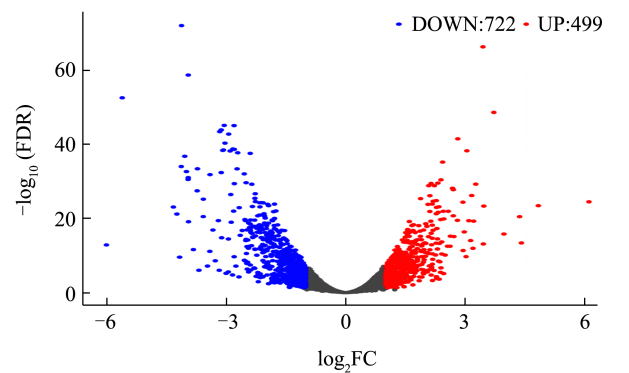


图 4 DEGs 火山图分析

Fig.4 Volcanic map analysis of DEGs

注：差异倍数（Fold Change，FC）表示实验组与对照组之间基因表达水平的变化倍数，通常使用对数转换后的值（如 $\log_2FC$ ）来表示，一般设定 $|\log_2FC| > 1$ ，即表达量变化倍数为 2 倍。较高的差异倍数意味着基因表达的显著变化，更有可能与实验处理相关。错误发现率（False Discovery Rate，FDR）用于控制假阳性结果的比例，即在所有被错误认为有显著差异的基因中，真正有差异的基因所占的比例，一般设定 $FDR < 0.05$ 。

2.5 GO和KEGG富集分析

GO功能分析发现，DEGs 共注释到 40 个功能组，其中注释到细胞过程（Cellular process）、代谢过程（Metabolic process）、生物调节（Biological regulation）、细胞（Cell）、细胞部分（Cell part）、催化活性（Catalytic activity）、结合（Binding）等功能部分的 DEGs 较多（图 5a）。DEGs 显著富集的 GO 条目

为氧化还原过程、小分子分解代谢过程、小分子代谢过程、单羧酸代谢过程、丙酮酸代谢过程、己糖代谢过程、药物代谢过程、碳水化合物代谢过程、羧酸代谢过程、碳水化合物分解代谢过程、单糖代谢过程、葡萄糖代谢过程、氧化酸代谢过程、有机酸代谢过程、ADP 代谢过程、有机酸分解代谢过程、羧酸分解代谢过程、嘌呤核苷酸二磷酸代谢过程、嘌呤核糖核苷酸代谢过程、核糖核苷酸二磷酸代谢过程（图 5b）。KEGG 富集分析也表明 DEGs 显著富集在各类物质的合成与代谢，如糖、氨基酸、脂肪酸等（图 5c）。

2.6 PdTP1调控柠檬烯生物转化生成 α -松油醇相关DEGs的鉴定

该实验室前期研究发现 Zn₂Cys₆ 转录因子 PdTP1

能够促进柠檬烯生物转化，提高 α -松油醇的产量^[18,30]，因此我们重点关注与萜类化合物代谢或生物合成相关的基因。如表 4 所示，与萜类和聚酮类化合物代谢相关的 DEGs 有 11 个，其中 5 个上调，6 个下调。与外源性物质的生物降解与代谢相关的 DEGs 有 28 个，其中 23 个上调，5 个下调。此外，我们前期研究表明，指状青霉 DSM 62840 生物转化柠檬烯生成 α -松油醇的关键酶存在于微粒体中，是可诱导的，并且细胞色素 P450（CytochromeP450, CYP450）抑制剂和金属蛋白酶抑制剂能明显抑制该酶的活性和降低 α -松油醇的产量，表明 CYP450 在柠檬烯的转化过程中起一定的作用^[27]，因此我们也进一步筛选了 PdTP1 调控的 CYP450 基因，共鉴定到 9 个 DEGs，其中 6 个上调，3 个下调。

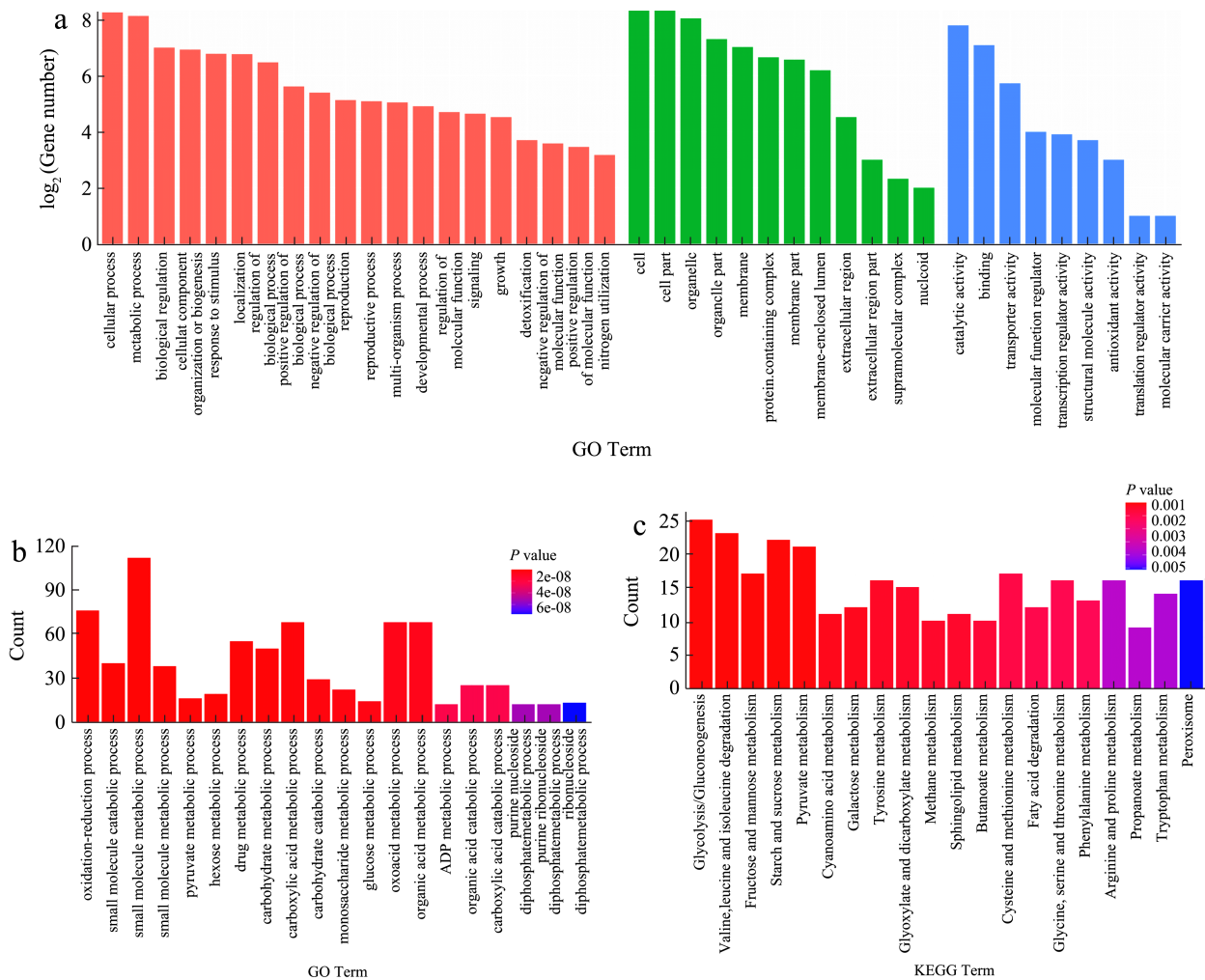


图 5 DEGs 的功能分析

Fig.5 Functional analysis of DEGs

注：（a）GO 分析；（b）GO 富集分析；（c）KEGG 富集分析。

CYP450 酶属于含血红素的蛋白质超家族，主要功能是催化氧化还原反应，在反应过程中需要电子传递系统的参与，比如细菌中的铁氧还蛋白还原酶和铁氧还蛋白，或真核微粒体中的细胞色素 P450 还原酶（Cytochrome P450 Reductase, CPR）^[31]。我们前期研究指出基因 *PDIDSM_67430*（编码 CPR）在柠檬烯生物转化生成 α -松油醇的过程中上调表达，同时，该研究也表明 *PdTP1* 沉默会导致 *PDIDSM_67430* 转录水平显著下降，推测基因 *PDIDSM_67430* 可能参与该生物转化过程。在 CYP450 催化柠檬烯生物转化的过程中，电子转移转运体 CPR 被激活，从 NADPH 中获得电子，通过黄素腺嘌呤二核苷酸（Flavin Adenine Dinucleotide, FAD）和黄素单核苷酸（Flavin Mononucleotide, FMN）传递给 CYP450 的血红素中心，然后 CYP450 与底物发生氧化还原反应。在 P450 酶催化的反应中分子氧被活化，其中一个氧原子插入底物

柠檬烯中，另外一个氧原子被还原成水。

此外，沉默 *PdTP1* 也影响了一些其他 CYP450 基因的表达，如 *PDIDSM_12990*、*PDIDSM_67660*、*PDIDSM_87670*、*PDIDSM_24680* 等，这些基因可能也与柠檬烯的生物转化以及 α -松油醇的合成相关。前期研究表明柠檬烯的生物转化可能与苯甲酸的脱毒和降解有关，在指状青霉生物转化柠檬烯生成 α -松油醇的过程中，编码苯甲酸 4-单加氧酶的基因上调表达^[27]。苯甲酸 4-单加氧酶能够将苯甲酸盐羟基化生成 4-羟基苯甲酸盐，进一步通过 β -酮己二酸途径进行代谢，生成的中间产物进入 TCA 循环^[32]。苯甲酸盐可以抑制真菌的生长，对芳香族化合物的代谢至关重要。在该研究中，*PdTP1* 沉默会导致 *PDIDSM_87670*（编码苯甲酸 4-单加氧酶）转录水平下降，推测 *PdTP1* 可能通过调控 *PDIDSM_87670* 的表达，进一步影响柠檬烯的生物转化过程。

表 4 PdTP1调控柠檬烯生物转化生成 α -松油醇相关DEGs的鉴定

Table 4 Identification of DEGs regulated by PdTP1 involved in the biotransformation of limonene to α -terpineol				
基因名称		功能注释	log ₂ FC	P 值
萜类和聚酮类化合物代谢	<i>PDIDSM_73240</i>	Cytochrome P450/NADPH-cytochrome P450 reductase; aldehyde dehydrogenase (NAD ⁺)	1.43	3.58×10 ⁻⁰⁴
	<i>PDIDSM_11200</i>	aldehyde dehydrogenase	1.07	1.87×10 ⁻⁰⁵
	<i>PDIDSM_74740</i>	aldehyde dehydrogenase	1.08	9.42×10 ⁻⁰³
	<i>PDIDSM_00870</i>	hexaprenyl-diphosphate synthase	-1.39	4.48×10 ⁻¹²
	<i>PDIDSM_13880</i>	aldehyde dehydrogenase	-1.26	6.24×10 ⁻⁰⁷
	<i>PDIDSM_34130</i>	ditrans, polycis-polyprenyl diphosphate synthase	-1.01	1.24×10 ⁻⁰⁸
	<i>PDIDSM_46480</i>	acetyl-CoA C-acetyltransferase	1.42	5.64×10 ⁻¹²
	<i>PDIDSM_52510</i>	squalene monooxygenase	-1.4	8.19×10 ⁻¹⁴
	<i>PDIDSM_20390</i>	acetyl-CoA C-acetyltransferase	1.03	2.45×10 ⁻⁰⁵
	<i>PDIDSM_74170</i>	hydroxymethylglutaryl-CoA synthase	-3.7	8.37×10 ⁻⁰⁸
	<i>PDIDSM_86810</i>	aristolochene synthase	-1.1	6.13×10 ⁻⁰⁴
	<i>PDIDSM_64830</i>	glutathione S-transferase	-1.4	2.10×10 ⁻⁰⁷
	<i>PDIDSM_73240</i>	aldehyde dehydrogenase	1.43	3.58×10 ⁻⁰⁴
	<i>PDIDSM_08420</i>	alcohol dehydrogenase	1.47	1.49×10 ⁻¹⁰
	<i>PDIDSM_04080</i>	glutathione S-transferase kappa 1	-1.5	4.31×10 ⁻⁰⁴
外源性物质生物降解与代谢	<i>PDIDSM_57610</i>	glutathione S-transferase	1.62	1.36×10 ⁻¹⁵
	<i>PDIDSM_11200</i>	aldehyde dehydrogenase	1.07	1.87×10 ⁻⁰⁵
	<i>PDIDSM_74730</i>	glutathione S-transferase	1.49	2.71×10 ⁻¹⁷
	<i>PDIDSM_74740</i>	aldehyde dehydrogenase	1.08	1.04×10 ⁻⁰³
	<i>PDIDSM_45970</i>	nitrilase	1.01	1.82×10 ⁻⁰⁵
	<i>PDIDSM_13880</i>	aldehyde dehydrogenase	-1.3	6.24×10 ⁻⁰⁷
	<i>PDIDSM_38260</i>	soluble epoxide hydrolase/lipid-phosphate phosphatase	1.43	1.13×10 ⁻⁰⁵
	<i>PDIDSM_15870</i>	3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase	1.26	7.45×10 ⁻¹¹
	<i>PDIDSM_18670</i>	amidase	1.05	0.004
	<i>PDIDSM_20390</i>	acetyl-CoA C-acetyltransferase	1.03	2.45×10 ⁻⁰⁵

续表4

基因名称	功能注释	log ₂ FC	P 值
PDIDSM_36310	maleylacetoacetate isomerase	2.39	2.39×10 ⁻²²
PDIDSM_36320	fumarylacetoacetase	2.41	6.09×10 ⁻¹⁶
PDIDSM_36330	homogentisate 1,2-dioxygenase	1.02	1.11×10 ⁻⁰⁶
PDIDSM_39100	homogentisate 1,2-dioxygenase	1.26	2.34×10 ⁻⁰⁷
PDIDSM_46480	acetyl-CoA C-acetyltransferase	1.42	5.64×10 ⁻¹²
外源性 物质 生物降 解与 代谢PDIDSM_47260	amidase	1.51	1.31×10 ⁻⁰⁶
PDIDSM_31870	CYP504A1; phenylacetate 2-hydroxylase	-1.52	3.17×10 ⁻⁰⁸
PDIDSM_52740	alcohol dehydrogenase, propanol-preferring	3.16	4.03×10 ⁻²⁹
PDIDSM_54040	pyruvate decarboxylase; alcohol dehydrogenase, propanol-preferring	-1.9	1.31×10 ⁻¹⁵
PDIDSM_55630	amidase	1.01	4.00×10 ⁻⁰⁶
PDIDSM_57990	glutathione S-transferase	2.45	1.16×10 ⁻²⁴
PDIDSM_69940	alcohol dehydrogenase, propanol-preferring	1.19	8.00×10 ⁻⁰⁹
PDIDSM_74290	glutathione S-transferase	1.28	5.65×10 ⁻¹⁰
PDIDSM_88390	amidase	2.68	4.01×10 ⁻³¹
PDIDSM_67430	Cytochrome P450/NADPH-cytochrome P450 reductase	-1.83	1.30×10 ⁻¹⁰
PDIDSM_52630	Benzoate 4-monooxygenase cytochrome P450	2.33	1.91×10 ⁻¹⁰
PDIDSM_88710	Cytochrome P450 monooxygenase, putative	1.47	3.21×10 ⁻⁰⁷
PDIDSM_12990	Cytochrome P450 monooxygenase, putative; Benzoate 4-monooxygenase	3.46	2.30×10 ⁻¹⁵
CYP450PDIDSM_24680	Cytochrome P450 alkane hydroxylase	1.14	0.001
PDIDSM_67660	Cytochrome P450 alkane hydroxylase, putative; Cytochrome P450 monooxygenase; unspecific monooxygenase	1.88	2.98×10 ⁻²⁸
PDIDSM_87670	Benzoate 4-monooxygenase cytochrome P450	-2.08	1.21×10 ⁻¹⁰
PDIDSM_77350	Mitochondrial cytochrome b2, putative; L-lactate dehydrogenase (cytochrome)	1.08	2.01×10 ⁻⁰⁷
PDIDSM_35010	Cytochrome c	-1.33	2.01×10 ⁻⁰⁸

2.7 PdTP1调控真菌生长和应激响应相关DEGs的鉴定

转录因子 PdTP1 已经被证实参与调控指状青霉生长，降低 *PdTP1* 的表达能够抑制菌株生长^[18]。该研究发现在 *PdTP1* 沉默菌株中，与真菌生长相关 DEGs 的共有 28 个，其中大部分是下调的（22 个）（部分结果见表 5），如 *PDIDSM_28970*（编码丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶）、*PDIDSM_44400*（编码 G 蛋白 β 亚基）、*PDIDSM_71760*（编码转录因子 NosA）等。其中，NosA 是一个 Zn₂Cys₆ 型转录因子，对真菌的生长和发育起关键作用^[19,21]。在烟曲霉（*A. fumigatus*）中，敲除 *NosA* 会促进菌株的生长^[33]。PdTP1 转录因子可能是通过调节其他基因的表达来影响 NosA 的表达和功能，最终影响指状青霉的生长。此外，G 蛋白信号调控蛋白（Regulators of G Protein Signaling, RGS）在真菌中参与调控营养菌丝的生长、孢子的形成、毒素和色素的产生、以及致病性和有性生殖等多个重要的生理过程^[34,35]。Delgado-Jarana 等^[36]发现尖孢镰刀

菌（*Fusarium oxysporum*）G 蛋白 β 亚基 *Fgb1* 能够通过多种信号通路调控菌丝生长、发育和致病性，*Fgb1* 缺失菌株表现出异常的菌丝生长表型，菌丝细胞延长，顶端生长增加，菌丝生长轴呈直线状，次生分枝减少。再者，丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶在真菌生长和发育中也扮演着重要的角色。Li 等^[37]指出稻瘟病菌（*Magnaporthe oryzae*）丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶可以通过协调侵入菌丝中的自噬和谷氨酰胺溶解循环来促进活体营养生长，敲除该基因可抑制侵入性菌丝的生长。以上结果表明转录因子 PdTP1 可能通过调控这些基因的表达，进而影响指状青霉的生长。

转录因子 PdTP1 也被报道在离子应激和氧化应激方面发挥关键作用^[38]。与野生型菌株相比，*PdTP1* 沉默菌株对高浓度钾离子、钠离子、以及 H₂O₂ 的敏感性降低^[18]。在该研究中，与应激响应相关的 DEGs 的共有 109 个，其中 35 个上调，74 个下调（部分结果见表 5），这些基因的表达受到了 PdTP1 的调控。例如 *PDIDSM_76510*（编码液泡铁离子

转运蛋白)、*PDIDSM_43160* (编码钙离子转运蛋白)、*PDIDSM_71940* (编码 ABC 重金属转运蛋白)、*PDIDSM_07620* (编码 ABC 多药转运蛋白) 等。与野生型菌株相比, 这些基因在 *PdTP1* 沉默菌株中表达量均下调, 表明转录因子 *PdTP1* 可能通过调节离子转运基因来调控离子应激反应。另一方面, 我们也发现转录因子 *PdTP1* 调控基因 *PDIDSM_05940* (编码过氧化氢酶) 的表达。过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 是细胞内抗氧化防御系统的关键酶之一, 能够催化 H_2O_2 分解生成水和氧气, 从而保护细胞不受氧化损伤, 对于维持细胞内的氧化还原平衡至关重要。研究指出^[39]在烟曲霉中敲除 *CAT* 会导致其对 H_2O_2 的敏感性显著增加。在该研究中, *PdTP1* 沉默能够导致 *PDIDSM_05940* 转录水平增加, 这可能会进一步导致指状青霉对 H_2O_2 的敏感性增强。谷胱甘肽还原酶也是一种重要的酶, 能

够将氧化型谷胱甘肽还原为还原型谷胱甘肽 (细胞内主要的抗氧化剂之一), 在维持细胞内氧化还原平衡、保护细胞免受氧化应激损伤方面发挥着重要作用^[40]。该研究发现 *PDIDSM_65840* (编码谷胱甘肽氧化还原酶) 的表达受到 *PdTP1* 的调控, 表明转录因子 *PdTP1* 可能通过调控 *PDIDSM_65840* 的表达来参与氧化应激响应。

2.8 RT-qPCR验证

为了验证转录组数据的可靠性, 对 DEGs (*PDIDSM_38260*、*PDIDSM_67430*、*PDIDSM_43160*、*PDIDSM_71940*、*PDIDSM_15410*) 进行 RT-qPCR 验证, 结果如图 6 所示, 与野生型菌株相比, 沉默菌株中 *PDIDSM_38260* 的表达水平显著增加, 而其他几个基因均下调, 5 个 DEGs 的表达趋势与转录组结果基本一致, 说明转录组结果可信度较高。

表 5 *PdTP1*调控真菌生长和应激响应相关DEGs的鉴定 (部分)

Table 5 Identification of DEGs regulated by PdTP1 involved in the fungal growth and stress responses (part)			
基因名称	功能注释	log ₂ FC	P 值
<i>PDIDSM_15410</i>	Spore-specific catalase CatA	-1.08	5.96×10^{-07}
<i>PDIDSM_14530</i>	Serine/threonine protein kinase (Ark1), putative	1.37	1.60×10^{-12}
<i>PDIDSM_45050</i>	Serine/threonine protein kinase, putative	1.03	4.03×10^{-06}
<i>PDIDSM_44400</i>	G-protein complex beta subunit CpcB	-1.10	1.47×10^{-06}
<i>PDIDSM_71760</i>	C6 sexual development transcription factor NosA	-1.55	5.11×10^{-08}
<i>PDIDSM_28970</i>	Protein serine/threonine kinase (Ran1), putative	-1.02	3.30×10^{-06}
<i>PDIDSM_76510</i>	Vacuolar iron transporter Ccc1, putative	2.32	2.26×10^{-24}
<i>PDIDSM_87230</i>	MFS multidrug transporter, putative	1.35	7.76×10^{-12}
<i>PDIDSM_67480</i>	MFS multidrug transporter, putative	1.39	0.001
<i>PDIDSM_46740</i>	Vacuolar basic amino acid transporter 3	-4.13	3.13×10^{-37}
<i>PDIDSM_55020</i>	MFS monosaccharide transporter, putative	-2.68	1.16×10^{-25}
<i>PDIDSM_02050</i>	C4-dicarboxylate transporter/malic acid transport protein, putative	-3.20	4.94×10^{-22}
<i>PDIDSM_43160</i>	Calcium transporter, putative	-2.07	1.36×10^{-16}
<i>PDIDSM_16490</i>	MFS monosaccharide transporter, putative	-2.28	8.20×10^{-14}
<i>PDIDSM_71940</i>	Vacuolar ABC heavy metal transporter (Hmt1), putative	-1.38	2.03×10^{-13}
<i>PDIDSM_07620</i>	ABC multidrug transporter, putative	-1.34	4.23×10^{-05}
<i>PDIDSM_77480</i>	Amino acid transporter, putative	-1.65	5.81×10^{-04}
<i>PDIDSM_26640</i>	MFS monosaccharide transporter, putative	-1.01	0.012
<i>PDIDSM_35150</i>	Mitochondrial dicarboxylate carrier, putative	-1.14	0.004
<i>PDIDSM_80150</i>	14-alpha sterol demethylase Cyp51A	-1.65	2.05×10^{-11}
<i>PDIDSM_54790</i>	Mitochondrial carrier protein, putative	-1.17	3.85×10^{-07}
<i>PDIDSM_85580</i>	Heat shock protein	-1.07	3.27×10^{-04}
<i>PDIDSM_05940</i>	Catalase	1.97	7.25×10^{-11}
<i>PDIDSM_65840</i>	Glutathione oxidoreductase Glr1, putative	1.35	1.30×10^{-10}

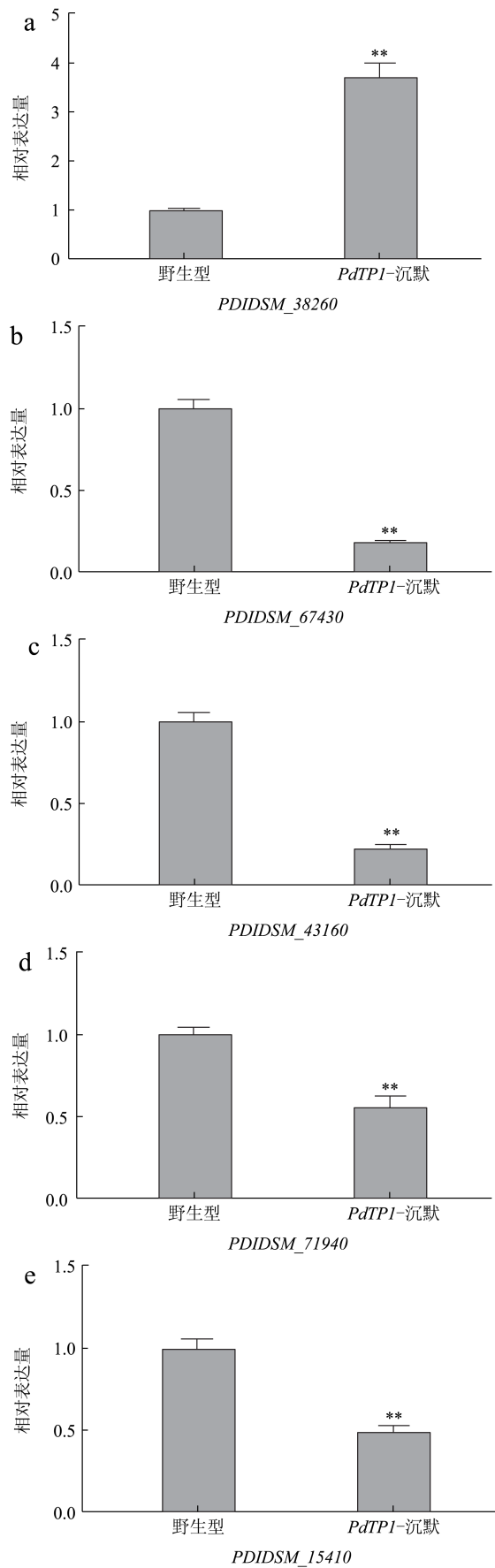


图6 RT-qPCR 验证

Fig.6 RT-qPCR verification

3 结论

该研究以野生型菌株 DSM 62840 和 *PdTP1* 沉默菌株为研究对象，通过转录组测序分析转录因子 *PdTP1* 调控 α -松油醇合成以及菌株生长的分子机制。结果显示，共鉴定到 1 221 个 DEGs，其中 499 个基因上调，722 个基因下调。GO 和 KEGG 富集分析表明，这些 DEGs 显著富集于糖、氨基酸、脂肪酸等物质的代谢与合成过程。进一步通过研究 *PdTP1* 调控基因转录水平上的变化，初步筛选到一些与萜类代谢或合成、真菌生长以及应激响应相关的基因。研究结果完善了 *PdTP1* 的转录调控网络（图 7），对 α -松油醇的合成具有重要的理论意义和实际应用价值。

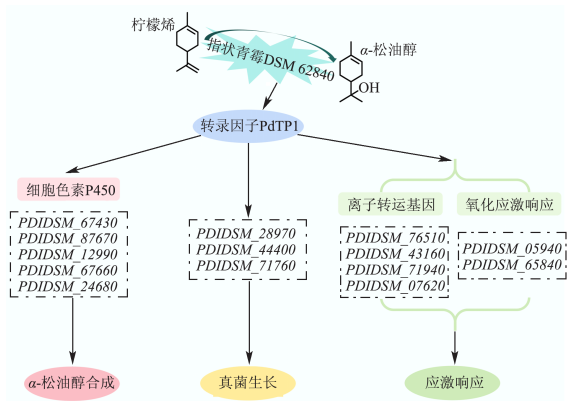


图7 柠檬烯生物转化生产 α -松油醇过程中 *PdTP1* 的调控模型

Fig.7 Proposed model for the regulation of *PdTP1* in the production of α -terpineol from limonene biotransformation

参考文献

[1] SALES A, FELIPE L D, BICAS J L. Production, properties, and applications of α -terpineol [J]. Food and Bioprocess Technology, 2020, 13 (8): 1261-1279.

[2] CHEN Y, ZHANG L L, WANG W Y, et al. Recent updates on bioactive properties of α -terpineol [J]. Journal of Essential Oil Research, 2023, 35 (3): 274-288.

[3] 石超峰,殷中琼,魏琴,等. α -松油醇对大肠杆菌的抑菌作用及其机理研究[J].畜牧兽医学报,2013,44(5):796-801.

[4] BILBREY J A, ORTIZ Y T, FELIX J S, et al. Evaluation of the terpenes β -caryophyllene, α -terpineol, and γ -terpinene in the mouse chronic constriction injury model of neuropathic pain: possible cannabinoid receptor involvement [J]. Psychopharmacol Ogy, 2022, 239(5): 1475-1486.

[5] 邱安彬.松油醇生产水合反应体系分析[J].福建林业科技,2017, 44(3):112-115,156.

[6] 邹志平,孟中磊,刘六军,等.二步法松油醇生产工艺的问题与改进[J].广西林业科学,2020,49(3):458-461.

[7] XIE J K, HAN Q N, WANG J, et al. Enhanced α -terpineol yield from α -pinene hydration via synergistic catalysis [J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2019, 58(49): 22202-22211.

- [8] 谢俊康,陈虎,杨章旗,等.一步法合成松油醇的原料筛选和条件优化[J].西部林业科学,2022,51(4):103-107,115.
- [9] SHU Q, GAO J, NAWAZ Z, et al. Synthesis of biodiesel from waste vegetable oil with large amounts of free fatty acids using a carbon-based solid acid catalyst [J]. Applied Energy, 2010, 87(8): 2589-2596.
- [10] 曹松,安兰芝,卢祥,等.D型大孔磺酸树脂催化松节油水合一步合成松油醇[J].离子交换与吸附,2015,31(5):455-463.
- [11] AMINUDIN N I, RIDZUAN M, SUSANTI D, et al. Biotransformation of sesquiterpenoids: a recent insight [J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2022, 24 (2): 103-145.
- [12] KANIAKOVA K, HRONSKA H, SILHAROVA D, et al. Limonene and its oxidative derivatives: properties, applications and biotechnological production [J]. Chemicke Listy, 2022, 116 (5): 301-307.
- [13] TOMAR R, JAIN S, YADAV P, et al. Conversion of limonene over heterogeneous catalysis: an overview [J]. Current Organic Synthesis, 2022, 19 (3): 414-425.
- [14] VELAZQUEZ J E, SADANOSKI M A, ZAPATA P D, et al. Bioproduction of α -terpineol and R -(+)-limonene derivatives by terpene-tolerant ascomycete fungus as a potential contribution to the citrus value chain [J]. Journal of Applied Microbiology, 2021, 130 (1): 76-89.
- [15] BIER J C M, MEDEIROS P B A, SOCCOL R C. Biotransformation of limonene by an endophytic fungus using synthetic and orange residue-based media [J]. Fungal Biology, 2016, 121(2): 137-144.
- [16] ADAMS A, DEMYTTEAERE C J, KIMPE D N. Biotransformation of (R)-(+)- and (S)-(-)-limonene to α -terpineol by *Penicillium digitatum*-investigation of the culture conditions [J]. Food Chemistry, 2003, 80(4): 525-534.
- [17] TAI Y N, XU M, REN J N, et al. Optimisation of α -terpineol production by limonene biotransformation using *Penicillium digitatum* DSM 62840 [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96 (3): 954-961.
- [18] ZHANG L L, HUANG J L, CHEN Y, et al. Transcription factor PdTP1 regulates the biotransformation of limonene to α -terpineol and the growth of *Penicillium digitatum* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(35): 19447-19461.
- [19] 梁甜甜,王亦婧,程晓婕,等.Zn(II)₂Cys₆锌指转录因子的结构和功能研究进展[J].江西科技师范大学学报,2019,6:96-98.
- [20] JOHN E, SINGH K B, OLIVER R P, et al. Transcription factor control of virulence in phytopathogenic fungi [J]. Molecular Plant Pathology, 2021, 22(7): 858-881.
- [21] 杨帆,王娟.锌指蛋白在丝状真菌纤维素酶基因表达调控中的研究进展[J].纤维素科学与技术,2014,22(4):75-81,64.
- [22] HE F, KANGE A M, YANG J, et al. The transcription factor *VpxlnR* is required for the growth, development, and virulence of the fungal pathogen *Valsa pyri* [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 784686.
- [23] BROWN D W, VILLANI A, SUSCA A, et al. Gain and loss of a transcription factor that regulates late trichothecene biosynthetic pathway genes in *Fusarium* [J]. Fungal Genetics and Biology, 2020, 136: 103317.
- [24] VIAL-PRADEL S, KETA S M, NOMOTO M, et al. Arabidopsis zinc-finger-like protein ASYMMETRIC LEAVES2 (AS2) and two nucleolar proteins maintain gene body DNA methylation in the leaf polarity gene *ETTIN* (*ARF3*) [J]. Plant and Cell Physiology, 2018, 59(7): 1385-1397.
- [25] 台亚楠.指状青霉DSM 62840转化柠檬烯为 α -松油醇的微生物转化研究[D].武汉:华中农业大学,2015.
- [26] ZHANG L L, ZHANG Y, REN J N, et al. Proteins differentially expressed during limonene biotransformation by *Penicillium digitatum* DSM 62840 were examined using iTRAQ labeling coupled with 2D-LC-MS/MS [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2016, 43 (10): 1481-1495.
- [27] ZHANG L L, HUANG W, ZHANG Y Y, et al. Genomic and transcriptomic study for screening genes involved in the limonene biotransformation of *Penicillium digitatum* DSM 62840 [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 744.
- [28] BAKHTIARIZADEH M R, SALEHI A, ALAMOUTI A A, et al. Deep transcriptome analysis using RNA-Seq suggests novel insights into molecular aspects of fat-tail metabolism in sheep [J]. Scientific Reports, 2019, 9 (1): 9203.
- [29] YU G C, WANG L G, HAN Y Y, et al. ClusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters [J]. OMICS-A Journal of Integrative Biology, 2012, 16 (5): 284-287.
- [30] 张璐璐,范刚,李晓,等.利用RNAi技术研究基因PDIDSM_85260和PDIDSM_08010表达对柠檬烯转化生成 α -松油醇的影响[J].食品科学,2022,43(6):141-148.
- [31] JI H Y, STAEHELIN C, JIANG Y P, et al. Tobacco cutworm (*Spodoptera litura*) larvae silenced in the NADPH-cytochrome P450 reductase gene show increased susceptibility to phoxim [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(15): 3839.
- [32] TAMAKI S, YAGI M, NISHIHATA Y, et al. Modification of N-terminal amino acids of fungal benzoate hydroxylase (CYP53A15) for the production of p -hydroxybenzoate and optimization of bioproduction conditions in *Escherichia coli* [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2018, 28(3): 439-447.
- [33] SOUKUP A A, FARNOODIAN M, BERTHIER E, et al. NosA, a transcription factor important in *Aspergillus fumigatus* stress and developmental response, rescues the germination defect of a *laeA* deletion [J]. Fungal Genetics and Biology, 2012, 49 (11): 857-865.
- [34] ZHANG F, ZHANG X M, WANG X X, et al. *Ga3* regulates growth and development, stress response, patulin synthesis and pathogenicity of *Penicillium expansum* by mediating cAMP/PKA and PKC signaling [J]. Postharvest Biology and Technology, 2024, 213: 112967.
- [35] 赵勇,王云川,蒋德伟,等.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.
- [36] DELGADO-JARANA J, MARTINEZ-ROCHA A L, ROLDAN-RODRIGUEZ R, et al. *Fusarium oxysporum* G-protein β subunit Fgb1 regulates hyphal growth, development, and virulence through multiple signalling pathways [J]. Fungal Genetics and Biology: FG & B, 2005, 42 (1): 61-72.
- [37] LI G, GONG Z W, DULAL N, et al. A protein kinase coordinates cycles of autophagy and glutaminolysis in invasive hyphae of the fungus *Magnaporthe oryzae* within rice cells [J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 4146.
- [38] 陈燕,赵仁勇,张璐璐.转录因子PDIDSM_85260对指状青霉生物学特性的影响[J].河南工业大学学报(自然科学版),2022, 43(6):37-44,52.
- [39] PARIS S, WYSONG D, DEBEAUPUIS J P, et al. Catalases of *Aspergillus fumigatus* [J]. Infection and Immunity, 2003, 71 (6): 3551-3562.
- [40] VASKOVA J, KOCAN L, VASKO L, et al. Glutathione-related enzymes and proteins: a review [J]. Molecules, 2023, 28 (3): 1447.