

## 密闭舱室中微生物防控实践

孙伊<sup>1</sup> 张兰涛<sup>1</sup> 张昊<sup>1</sup> 靳健<sup>1</sup> 刘红<sup>2,3</sup>

(1. 中国空间技术研究院载人航天总体部, 北京, 100094; 2. 北京航空航天大学生物与医学工程学院, 北京, 100191; 3. 北京航空航天大学环境生物学与生命保障技术研究所, 北京, 100191)

**摘要:** 随着人类对外太空认知的增加和探索的深入, 星球之间的交叉感染问题引起了越来越多的关注。行星保护已成为航天开发领域的一个重要的关注热点。本文对生物再生生命保障地基综合试验系统“月宫一号”105 天有人密闭舱室中的微生物污染问题作了实验研究。实验获取的空气微生物演替规律可为今后密闭 BLSS 实验中建立更有针对性的微生物防控措施提供依据, 并为解决密闭舱室微生物污染问题提供重要经验。

**关键词:** 行星保护; 微生物污染; 演替规律

**中图分类号:** Q939.98      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1005-2615(2018)S2-0124-07

## Prevention and Control Practice of Microorganisms in Enclosed Cabin

SUN Yi<sup>1</sup>, ZHANG Lantao<sup>1</sup>, ZHANG Hao<sup>1</sup>, JIN Jian<sup>1</sup>, LIU Hong<sup>2,3</sup>

(1. Institute of Manned Space System Engineering, China Academy of Space Technology, Beijing, 100094, China;  
2. School of Biological Science and Medical Engineering, Beihang University, Beijing, 100191, China;  
3. Institute of Environmental Biology and Life Support Technology, Beihang University, Beijing, 100191, China)

**Abstract:** With the increase of cognition and deep exploration for outer space, the contamination problem between stars has aroused more and more attention. Planetary prevention has become an important topic in space exploration field. An experimental study on microbial contamination in enclosed cabin of Lunar Palace 1 (LP1) ground-based bioregenerative life support system (BLSS) is conducted. The development and succession law of dominant microorganisms obtained through experiments can give a base for the construction of more targeted microorganisms preventive and control measures in enclosed BLSS experiments in the future, provide important experience for solving the microbial contamination problem in a closed space.

**Key words:** planetary prevention; microbial contamination; the development and succession law

随着人类对外太空认知的增加和探索的深入, 对星球之间的交叉感染问题也开始越来越关注, 行星保护成为航天开发领域关注的一个重要问题。

行星保护主要包括两个方面内容, 即: 地球物质对地球外行星的正向污染和外行星返回物对地球的反向污染。正向污染是指航天器从地球上发射后, 可能会有一些地球上的生命体比如微生物等通过航天器被带入到外星球上。而部分外星球对于外太空生命探索活动而言可能有非常重要的意

义, 这样由于受到地球物质的污染, 会直接影响对生命的探索活动研究。反向污染是指在探索外星球时, 从外星球带回到地球的物质, 可能会对地球本身环境或生物带来危害。因此, 对行星进行保护的研究对于生命探索活动和地球防护均具有非常重要的意义。

本文介绍了生物再生生命保障(BLSS)地基综合实验系统“月宫一号”105 天有人密闭实验过程中的空气微生物实验, 对空气微生物进行采样, 结

收稿日期: 2018-03-23; 修订日期: 2018-05-30

通信作者: 孙伊, 女, 工程师, E-mail: yiran20462046@163.com。

引用格式: 孙伊, 张兰涛, 张昊, 等. 密闭舱室中微生物防控实践[J]. 南京航空航天大学学报, 2018, 50(S2): 124-130.  
SUN Yi, ZHANG Lantao, ZHANG Hao, et al. Prevention and control practice of microorganisms in enclosed cabin[J].  
Journal of Nanjing University of Aeronautics & Astronautics, 2018, 50(S2): 124-130.

合平板分析法与分子生物学方法,分析密闭舱室内微生物发展演替规律,找出实验舱内优势菌种,得到的实验结果为今后在更加长期更多乘员的密闭 BLSS 实验中建立更有针对性的微生物防控措施提供依据,并完善清洁制度,清洁周期等问题,为解决密闭舱室微生物污染问题提供重要经验,也为未来解决火星探测、深空载人等项目中的正向污染问题提供参考。

## 1 微生物防控方法及措施

### 1.1 采样区域

空气微生物采样点的布置情况为:在植物培养间布置 2 个采样点;选择有人居住的两间居住间,在每间各布置 1 个采样点;废物处理间、卫生间和客厅各布置 1 个采样点。具体布置如图 1 所示。其中,1 号采样点:植物舱 1 中部;2 号采样点:植物舱 2 中部;3 号采样点:废物处理间中部;4 号采样点:淋浴间中部;5 号采样点:客厅西部(厨房边台旁边);6 号采样点:卧室 II 中部;7 号采样点:卧室 III 中部。

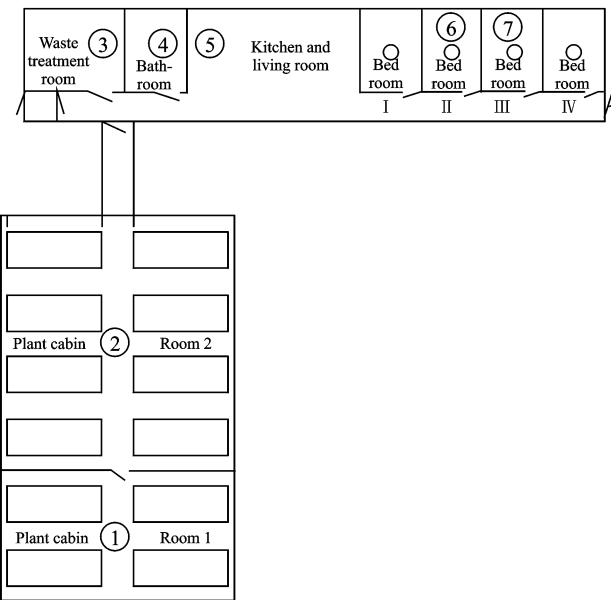


图 1 采样点布局

Fig. 1 Layout of sampling points

### 1.2 分析方法

在月宫一号 105 天密闭实验中,舱内志愿者采用空气微生物采样器(JWL-6LD,北京检测仪器有限公司)每周对舱内设定的 7 个采样点的空气取样一次。采样时,首先采用含有 1 号培养基(Tryptic soy nutrient agar, 胰蛋白胨大豆琼脂培养基, TSA)的 6 级平板培养皿作为采样头采样 10 min,再采用含有 2 号培养基(Potato dextrose agar, 马铃薯葡萄糖琼脂培养基, PDA)的 6 级平板培养皿

作为采样头采样 10 min,最后采用带有 0.4  $\mu\text{m}$  滤膜的采样头采样 10 min,采样流量均为 30 L/min,即每次采样的体积为 300 L。采样后,需迅速打开各级采样头,取出用于计数的平皿,盖好盖子,用封口膜密封,做好标记;0.4  $\mu\text{m}$  滤膜采样头则需要迅速放入灭菌密封袋;采样结束后,所有样品均通过实验用小物流通道运出系统。

将直接用于计数的平板倒置于恒温培养箱中进行培养,其中 1 号培养基在 35  $^{\circ}\text{C}$  温度,50%湿度条件下培养 2 d,2 号培养基在 25  $^{\circ}\text{C}$  温度,50%湿度条件下培养 4 d,分别计数。0.4  $\mu\text{m}$  滤膜采样头用质量浓度 8.5 g/L 的无菌生理盐水冲洗,洗后样品放在 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱保存,用于后续分子生物学测序分析。

105 d 密闭实验结束后,收集所保存的微生物样品,分别选取实验启动期、实验前期、实验中期植物舱、实验中期综合舱、实验后期植物舱和实验后期综合舱和共计 6 组微生物样品进行全基因组 DNA 提取和高通量测序,分析“月宫一号”密闭舱室内环境微生物群落结构和演替规律。

### 1.3 防控措施

本实验第一个采样时间为 2014 年 1 月 26 日,此时系统处于密闭实验前的启动阶段,在启动阶段前与启动阶段,采用严格的舱室使用前彻底消毒技术规程:“月宫一号”实验舱经过日常清洁处理后,用 3% 双氧水熏蒸法灭菌,至少熏蒸 3 h,熏蒸后清洁人员用经紫外灭菌的干布进行擦拭。任何人员进入舱室之前都需要提前淋浴,后经由风淋室进入缓冲间,在缓冲间用 3% 双氧水进行手消毒,更换经过高压灭菌后的舱室专用鞋与洁净连体带帽衣物,方可进入舱室。

系统内微生物来源有 3 种。首先,人体、动植物自身是最大的微生物携带体,包括细菌、真菌、原生动物和病毒;其次,密闭实验舱在组装和加工的过程中滋生的微生物;再次,是准备补给物资如动物蛋白时引入的微生物。微生物虽然是与人、动植物并存系统中不可避免的一部分,但是如果不加控制,放任其自由发展将造成严重后果,必须对其进行实时监测,并采取有效的控制方案进行处理。

后期,对综合舱清洁制度和步骤进行了规范和细化:对于综合舱,志愿者必须每隔 7 天集中做一次清洁包括关键设备表面擦拭与地面擦拭,扫除后用便携式紫外灭菌灯消毒。用专用消毒湿巾擦拭关键设备表面和墙面等,擦拭后用紫外杀菌后的干布擦拭。对于地面及角落等用吸尘器吸尘后,再用专用消毒湿巾擦拭,后用经紫外杀菌的干布擦拭,整个清理步骤完成。另外,密闭实验期间还应及时

根据微生物监测结果对显示微生物数量偏高的区域,采取用舱室专用消毒湿巾与紫外灯结合的方法进行彻底灭菌。对于植物舱,所有进入植物舱的培养基质和营养液都需进行高压或者紫外灭菌处理,植物种子则应进行高锰酸钾浸泡等处理,以尽可能杀灭潜在的植物致病菌。而密闭实验开始后,为防止对植物生长造成不利影响,植物舱不采用便携式紫外灭菌灯消毒方式,只用专用消毒湿巾每隔7天集中做一次关键设备表面与地面擦拭,再用经紫外杀菌的干布擦拭。

## 2 微生物防控效果

### 2.1 平板计数结果及分析

在本研究中,采样点数为7个,采样点1和2为植物舱,采样点3-7为综合舱。在“月宫一号”105 d实验过程中综合舱与植物舱各自的细菌菌落密度与真菌菌落密度随时间的变化情况分别如图2和图3所示。

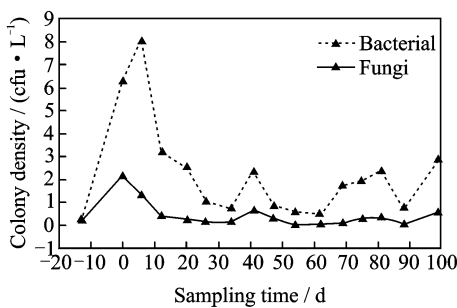


图2 综合舱细菌与真菌的菌落密度随时间的变化情况

Fig.2 Changes of bacterial and fungi colony densities with time in comprehensive cabin

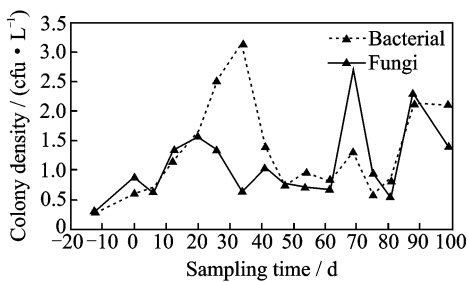


图3 植物舱细菌与真菌的菌落密度随时间的变化情况

Fig.3 Changes of bacterial and fungi colony densities with time in plant cabin

由图2和图3的结果可以看出,由于此时志愿者尚未进入系统进行日常活动,相比于整个实验期间,系统内微生物菌落密度非常小。但是在志愿者进舱后第5天,也就是2月8日进行取样,可以发现综合舱细菌与真菌菌落密度急剧上升(图2),分析原因主要可能就是由于志愿者进入系统后其自

身携带的微生物在系统中繁殖。随后观察发现综合舱细菌与真菌菌落密度在密闭实验第3周后基本得到控制,逐渐趋于平稳。

而从图3可以看出,植物舱细菌与真菌菌落密度在密闭实验期间并没有明显波动,绝大多数时候都控制在2.5 cfu/L以下,分析原因首先可能是由于在密闭实验期间,志愿者被要求采取严格的植物舱无菌进舱制度:志愿者进入植物舱前需要严格消毒,在连接居住舱和植物舱的缓冲间更换专用连体洁净带帽工作服与专用消毒鞋,并戴一次性消毒手套与一次性消毒口罩,女志愿者还要求扎紧头发,方可进入植物舱进行操作。该制度严格控制了微生物从综合舱到植物舱的流通。另外,有研究表明种植小白菜、生菜或中国甘蓝可以有效减少微生物污染,适当的蔬菜种植在密闭环境中不会引起微生物污染,反而会减少微生物风险<sup>[1]</sup>。

### 2.2 Miseq 高通量测序结果及分析讨论

#### 2.2.1 细菌 16 s 结果分析讨论

实验中进行测序分析的6组细菌样品及其编号分别为启动期总细菌P\_B、前期总细菌E\_B、中期植物舱总细菌MP\_B、中期综合舱总细菌MC\_B、后期植物舱总细菌LP\_B和后期综合舱总细菌LP\_B。

在属的水平下,选取数量最多的前100个OUT,进行heatmap分析,结果如图4所示。选取heatmap图中5个优势菌种作图,由图5可知主要优势菌种在各个时期的丰度比例。

贪铜菌属(*Cupriavidus*)在P\_B中几乎不存在,而在E\_B中占29.1%,在MC\_B中就下降至3.6%,在LC\_B中只有1.2%,而在MP\_B和LP\_B中也几乎不存在。阿菲彼亚杆菌属(*Afipia*)在无人参与的预实验中只占0.7%,而当志愿者刚进入的前期阶段为30.9%,随着实验的进行,在MC\_B中已经明显下降至3.4%,到反应结束的LC\_B中已经只占2.3%。在植物舱中维持在1%以下。代尔夫特菌(*Delftia*)同样在P\_B中几乎不存在,而在E\_B中占22.3%,在MC\_B中下降至2.1%,在LC\_B中只有0.6%,而在MP\_B和LP\_B中分别为0.1%和0.6%。

大量研究表明,贪铜菌属(*Cupriavidus*)通常存在于含有较多重金属的工业沉积物、工业废物和金属矿中<sup>[2-5]</sup>。这种细菌能够存活在这些环境中,是因为其基因组中有重金属抗性基因,通常可利用其净化处理废水中的重金属<sup>[5]</sup>。

阿菲彼亚杆菌(*Afipia*)属于一种根瘤菌,是微生物燃料电池(Microbial fuel cell, MFC)中的一种常用产电菌<sup>[6-7]</sup>。MFC被认为是BLSS中最具应

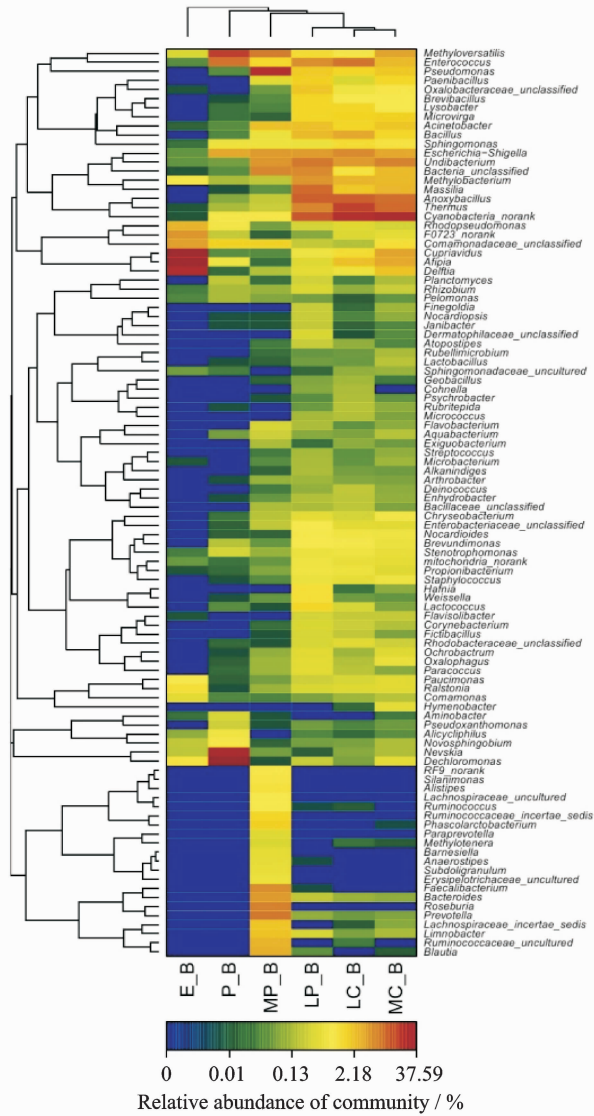


图 4 6 组细菌样品在属水平下的 Heatmap 图

Fig. 4 Heatmap analysis of six samples at bacteria genus level

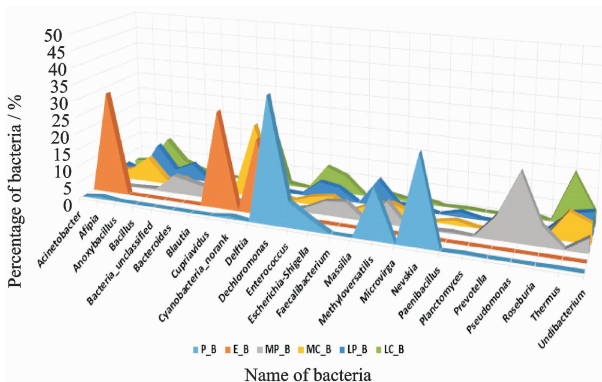


图 5 主要细菌菌种在不同时期所占的百分比

Fig. 5 Abundances of the main dominant bacteria in various stages

用前景的人体废物处理产电技术。

代尔夫特菌(Delftia)在河水与土壤中均有分

布,是自然界中分布较广泛的菌种<sup>[8]</sup>,也可以从人体血液、呼吸道分泌物及创伤等样本中分离出来<sup>[9-12]</sup>,其通常被认为是机会致病菌,会感染免疫力低下的宿主<sup>[13]</sup>,因此,该菌在 BLSS 环境中出现,需要引起高度关注。

综上,在前期 E\_B 样品中,贪铜菌属(Cupriavidus)、阿菲彼亚杆菌(Afipia)和代尔夫特菌(Delftia)为 3 种主要优势菌。而这 3 种优势菌在中后期所占比例却很少,说明这几类细菌是在“月宫一号”系统启动时,由志愿者本身带入系统的,而随着消毒措施的有效执行和改进,它们能够被很好地控制。

蓝藻细菌门(Cyanobacteria)在 P\_B 占 0.8%,而在 E\_B 不存在。在中期植物舱中也只占 0.9%,而中期和后期综合舱分别达到 22.2%和 20.4%,后期植物舱也占有 10.9%。蓝藻细菌门一般在江河湖海中普遍分布,是一种典型的环境微生物<sup>[14-15]</sup>。其在舱内中后期显著升高可能与系统内污水处理系统以及植物营养液灌溉系统的运行有关。系统内处理的乘员生活废水以及灌溉用的植物营养液均含有较高浓度的氮和磷,适于蓝藻细菌门生长。蓝藻的存在对于这样的密闭系统是十分不利的,应该采取有效措施控制。

肠球菌(Enterococcus)在 P\_B 样品中占有 7.5%,经过消毒处理后再实验 E\_B 中几乎不存在,而在 MC\_B 和 MP\_B 中分别为 2.5%和 1.3%,最后到 LC\_B 和 LP\_B 中分别占 7.6%和 4.9%。肠球菌是人和动物肠道中的主导微生物,通常也分布在蔬菜、土壤和水中<sup>[16]</sup>。肠球菌是地中海地区传统奶酪和香肠中制作成熟过程中的重要天然微生物<sup>[14]</sup>。有一些种类的肠球菌可以在人胃肠道存活,作为益生菌对人的消化起作用,从而被制成益生菌剂<sup>[17]</sup>。然而还有一部分有害肠球菌会引起血液化脓感染<sup>[18]</sup>。对它的监测结果表明,简单的消毒处理不能完全去除这类细菌,或者说是它在环境中微生态系统中必须占有一定比例,并在生态系统中具有一定功能,如分解有机物等。后期实验可以对这种菌进行深入探讨,它虽然是环境中的优势菌,但是控制较好,没有多大波动。

### 2.2.2 真菌 ITS 结果分析

用于 ITS(Internal transcribed spacer)分析的 6 组真菌样品及编号分别为启动期总真菌 P\_F、前期总真菌 E\_F、中期植物舱总真菌 MP\_F、中期综合舱总真菌 MC\_F、后期植物舱总真菌 LP\_F 和后期综合舱总真菌 LP\_F。

在属的水平下,选取数量最多的前 100 个 OUT,进行 heatmap 分析,如图 6 所示为主要优势

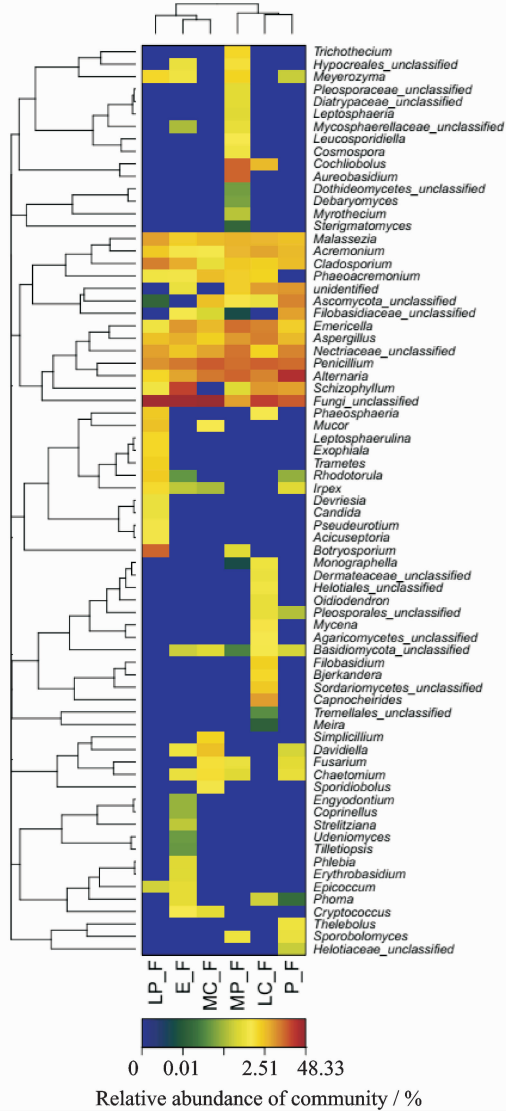


图6 6组真菌样品在属水平下的 Heatmap图

Fig.6 Heatmap analysis of six samples at fungi genus level

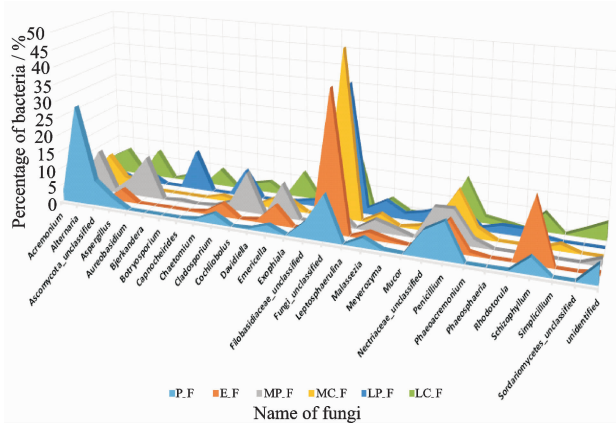


图7 主要真菌种在不同时期所占的百分比

Fig.7 Abundances of the main dominant fungi in various stages

菌种的动态变化特征。选取 heatmap 图中 7 个优势菌种作图,由图 7 可知主要优势菌种在各个时期

的丰度比例。

青霉菌属(Penicillium)在每个时期均有出现,在 P\_F 期,中期综合舱与后期综合舱的比例均大于 10%,分别为 10.5%,12.9%,12.3%,而植物舱所占比例较少。青霉菌的种类极多<sup>[19]</sup>,有些亚种会引起食物变质<sup>[20]</sup>,有些种是植物致病菌,会引起水果或者蔬菜的腐烂<sup>[21-22]</sup>。监测结果显示,青霉菌属在综合舱所占比例远高于植物舱,可能是因为储存的食物与粮食上生长了青霉菌。因此,在二期实验中,如何存储食物,使食物不易被微生物浸染,也是需要考虑的问题之一。

链格孢菌属(Alternaria)在系统启动期和中期植物舱各占 28.5%和 11.8%,但在后期植物舱只占了 1.8%。大量研究表明,链格孢菌属无论是对植物还是对人和动物,都是有害的<sup>[23]</sup>。有 20%的农业损失是由链格孢菌属造成的,有的损失甚至高达 80%<sup>[24]</sup>。致病型链格孢属对于他们的宿主植物是有毒的,比如 Alternaria alternata 可以寄生在苹果、梨、柑橘、草莓、土豆和西红柿等植物上,Alternaria brassicae 可以引起植物叶枯病<sup>[24]</sup>,Alternaria alternata 可以引起茄子早疫病<sup>[25]</sup>,Alternaria infectoria 可以引起小麦叶枯病<sup>[26]</sup>等。它对于人类还是一种条件致病菌,可以引起敏感性人群的哮喘,肾移植患者和白血病患者的皮下暗丝孢霉病感染<sup>[27-28]</sup>。对于链格孢菌属的研究与监测结果表明,消毒措施对于链格孢菌属是有效的,这对于控制系统中的微生物污染非常重要。

值得注意的是,曲霉属(Aspergillus)虽然在各个时期所占比例均不高,但在每个时期所占比例都在 1%以上,贯穿整个实验始末。曲霉属广泛存在于自然界中,包括 250 种和 8 个亚属<sup>[29]</sup>。大量研究表明,曲霉属还会对材料造成腐蚀<sup>[30-31]</sup>。并且,曲霉属在空间站上已经被发现<sup>[32]</sup>。因此,对曲霉属的研究应该引起足够重视,并对其及时控制。与曲霉属相反的是旋孢腔菌(Cochliobolus),只在中期植物舱检测到,并高达 11.6%,它是植物上一类主要的病原真菌,可引起植物叶斑病。

### 3 结束语

综上所述,本研究提供了“月宫一号”105 天多人密闭实验中空气微生物菌落的变化情况,分析了启动期、105 d 密闭实验前期、中期和后期 4 个时期的微生物动态组成与动态变化,发现“月宫一号”实验中的优势微生物演替规律为:系统启动期的微生物种类集中数量较少,105 d 密闭实验前期微生物种类数量激增,可能原因是志愿者自身所携带的微生物随着志愿者而引入系统;而随着实验的进行,虽然



微生物的种类增多,数量却减少,说明微生物控制措施取得了成效。基于“月宫一号”实验舱内微生物群落变化以及上述优势菌种情况,需要进一步完善微生物防控策略,例如,清洁周期与清洁制度的进一步调整;对于植物舱的微生物控制,不排除利用植物有益微生物对有害微生物进行植物生防的可能性;针对密闭舱室内有害微生物,是否可以采取针对性措施;对于人体条件性致病微生物,可否采用加入人体益生菌的方法来平衡人体菌群,这都是今后更加长期的密闭有人 BLSS 实验所需要考虑的,也将为未来的微生物如何与人、动植物以及整个系统并存提供更有针对性和有效的策略。

### 参考文献:

- [1] FU Yuming, LIU Hong. Cultivation of three cruciferous vegetables in a confined environment decreases microbial burden[J]. *Ecological Engineering*, 2012, 44:174-178.
- [2] MERGEAY M, MONCHY S, VALLAEYS T, et al. *Ralstonia metallidurans*, a bacterium specifically adapted to toxic metals: Towards a catalogue of metal-responsive genes [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2003, 27:385-410.
- [3] VANDAMME P, COENYE T. Taxonomy of the genus *Cupriavidus*: A tale of lost and found [J]. *Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54(6):2285-2289.
- [4] GORIS J, DE V P, COENYE T, et al. Classification of metal-resistant bacteria from industrial biotopes as *Ralstonia campinensis* sp. nov., *Ralstonia metallidurans* sp. nov. and *Ralstonia basilensis* Steinle et al. 1998 emend [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2001, 51:1773-1782.
- [5] REITH F, FAIRBROTHER L, NOLZE G, et al. Nanoparticle factories: Biofilms hold the key to gold dispersion and nugget formation [J]. *Geology*, 2010, 38:843-846.
- [6] ANZAI Y, KIM H, PARK J Y, et al. Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2000, 50(4):1563-1589.
- [7] XING D, ZUO Y, CHENG S, et al. Electricity generation by *Rhodospseudomonas palustris* DX-1 [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(11):4146-51.
- [8] REINA J, LLOMPART I, ALOMAR P. Acute suppurative otitis caused by *Comamonas acidovorans* [J]. *Clinic Microbiology Newsletter*, 1991, 13:38-39.
- [9] KASPAR M H, GRASBON T, KAMPIK A. Automated surgical equipment requires routine disinfection of vacuum control manifold to prevent postoperative endophthalmitis [J]. *Ophthalmology*, 2000, 107:685-690.
- [10] STAMPI S, ZANETTI F, BERGAMASCHI A, et al. *Comamonas acidovorans* contamination of dental unit waters [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 1999, 29:52-55.
- [11] STIEGLER G, GERHARTL K, JURKO S, et al. Ice from an ice machine is a potential source of bacterial contamination for HPC products—Implications for cell-processing facilities [J]. *Cytotherapy*, 2003, 5:346-347.
- [12] WEINSTEIN R A, STAMM W E, KRAMER L, et al. Pressure monitoring devices: Overlooked source of nosocomial infection [J], *JAMA*, 1976, 236:936-938.
- [13] HAGIYA H, MURASE T, SUGIYAMA J, et al. Delftia acidovorans bacteremia caused by bacterial translocation after organophosphorus poisoning in an immunocompetent adult patient [J]. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 2013, 19:38-341.
- [14] MATTHEWS M W, ODERMATT D. Improved algorithm for routine monitoring of cyanobacteria and eutrophication in inland and near-coastal waters [J]. *Remote Sensing of Environment*, 2015, 156:374-382.
- [15] PERSAUD A D, PATERSON A M, DILLON P J, et al. Forecasting cyanobacteria dominance in Canadian temperate lakes [J]. *Journal of Environmental Management*, 2015, 151:343-352.
- [16] AGUIRRE M, COLLINS M D. Lactic acid bacteria and human clinical infection [J]. *Journal of Applied Bacteriology*, 1993, 75:95-107.
- [17] JAHAN M, ZHANEL G G, SPARLING R, et al. Horizontal transfer of antibiotic resistance from *Enterococcus faecium* of fermented meat origin to clinical isolates of *E. faecium* and *Enterococcus faecalis* [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2015, 199:78-85.
- [18] KARA A, DEVRIM İ, BAYRAMA N, et al. Risk of vancomycin-resistant enterococci bloodstream infection among patients colonized with vancomycin-resistant *Enterococci* [J]. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 2015, 19:58-61.
- [19] LINK H F. *Observationes in ordines plantarum naturales* [M]. Berlin: [s. n.], 1809.
- [20] SAMSON R A, SEIFERT KA, KUIJPERS A F, et al. Phylogenetic analysis of *Penicillium* subgenus *Pencillium* using partial  $\beta$ -tubulin sequences [J]. *Studies in Mycology*, 2004, 49:175-200.

- [21] BALGRIE B. Taints and Off-flavours in Food [M]. American;CRC Press, 2003.
- [22] VALDEZ J G, MAKUCH M A, ORDOVINI A F, et al. First report of *Penicillium allii* as a field pathogen of garlic (*Allium sativum*) [J]. *Plant Pathology*, 2006,55:583.
- [23] BATT C A, ROBINSON R K. Encyclopedia of food microbiology [M]. America;Academic Press, 2014: 54-60.
- [24] NOWICKI M, NOWAKOWSKA M, NIEZGODA A, et al. *Alternaria* black spot of crucifers: Symptoms, importance of disease, and perspectives of resistance breeding [J]. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 2012,76:5-19.
- [25] PATI P K, SHARMA M, SALAR R K, et al. Studies on leaf spot disease of *Withania somnifera* and its impact on secondary metabolites [J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2008,48:432-437.
- [26] MÜLLER M E H, KORN U. *Alternaria* mycotoxins in wheat—A 10 years survey in the northeast of Germany [J]. *Food Control*. 2013,34(1):191-197.
- [27] SALIDO-VALLEJO R, LINARES-SICILIA M J, GARNACHO-SAUCEDO G, et al. Subcutaneous phaeohyphomycosis due to *Alternaria infectoria* in a renal transplant patient; Surgical treatment with no long-term relapse[J]. *Revista Iberoamericana de Micología*, 2014,31(2):149-151.
- [28] LEAHY T R, PUNNETT A S, RICHARDSON S E, et al. Molecular identification of phaeohyphomycosis due to *Alternaria infectoria* in a patient with acute myeloid leukemia—A case report [J]. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2010,66(3): 318-321.
- [29] KAYA-CELIKER H, MALLIKARJUNAN P K, KAAYA A. Mid-infrared spectroscopy for discrimination and classification of *Aspergillus* spp. contamination in peanuts [J]. *Food Control*, 2015,52:103-111.
- [30] REZZA I, SALINAS E, ELORZA M, et al. Mechanisms involved in bioleaching of an aluminosilicate by heterotrophic microorganisms [J]. *Process Biochemistry*, 2001,36:495-500.
- [31] JADHAV U, HONG H. Use of *Aspergillus niger* 34770 culture supernatant for tin metal removal [J]. *Corrosion Science*, 2014,82:248-254.
- [32] NOVIKOVA N D, BOEVER P D, PODDUBKO S, et al. Survey of environmental biocontamination on board the international space station[J]. *Research in Microbiology*, 2006,157(1):5-12.

(编辑:王静)