

硫磺菌原变种液体培养代谢物生物活性分析

汪国轮^{1,2} 郭学武^{1,2} 龚建华^{1*}

(¹中国科学院微生物研究所 北京 100080)(²中国科学院研究生院 北京 100049)

摘 要 硫磺菌原变种 *Laetiporus sulphureus* var. *sulphureus* 在液体培养条件下对果蝇具有致死效应,研究发现在液体培养过程中分泌到细胞外的代谢产物是致死效应的主要原因,并且上清液对果蝇的生物活性受 pH 值的影响。离子交换树脂柱和高效液相色谱分离分析表明草酸存在于硫磺菌原变种培养液的上清液中并且是果蝇致死效应和培养体系 pH 下降的一个重要因素。硫磺菌原变种在气升式反应器 *ALR/jff* 培养体系中草酸的浓度、菌丝体量和 pH 值呈简单相关。进一步分析发现还有另外一种结构未知、在碱性条件下呈紫红色的色素也具有致死效应。

关键词 果蝇、pH 值、草酸、致死效应

中图分类号:Q935 文献标识码:A 文章编号:1001-6209(2005)05-0702-05

硫磺菌,又名硫色干酪菌,树鸡蘑,属于非褶菌目(*Aphyllorphorales*),多孔菌科(*Polyporaceae*),具两系菌丝型,两性性复等位基因交配系统,不产生锁状联合,在针叶树和阔叶树上均可以生长。国内的记录种(包括变种)有硫磺菌原变种(*L. sulphureus* var. *sulphureus*)和硫磺菌红色变种(*L. sulphureus* var. *miniatus*)以及杂色硫磺菌(*L. versicolor*)^[1,2]。硫磺菌是一种重要的褐腐菌,在固体培养条件下菌丝细胞能产生草酸并分泌到细胞外^[3]。此前我们在气升式反应器 *ALR/jff* 内培养硫磺菌红色变种和原变种时,发现两个变种液体培养体系有非常类似的 pH 值变化规律,其培养产物都具有对果蝇的致死效应,并且这种致死效应与培养体系 pH 值的变化呈现一定程度的相关性^[4]。对硫磺菌红色变种培养体系上清液进行离子交换柱色谱分离分析发现洗脱组分中草酸的含量在 1.0% 左右,并且草酸与红色变种的果蝇致死效应相关。此前 Bushnell 曾报道硫磺菌在液体培养过程中能产生很多种有机酸,但是未指明变种^[5],并且该报道没有提到硫磺菌培养产物对昆虫的毒性,此后也没有相关研究论述,而硫磺菌菌丝细胞分泌草酸一般被认为是与其作为木腐担子菌的生理特性密切相关^[6]。鉴于硫磺菌红色变种和原变种纯培养菌丝形态的明显差异,我们进一步对硫磺菌原变种的生物活性进行了研究报道。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 硫磺菌原变种(*Laetiporus sulphureus* var. *sulphureus*)子实体于 2003 年采集自湖南省张家

界市桑植县八大公山国家森林公园,组织分离法得到纯培养菌丝。

1.1.2 试剂和仪器 pH-HJ90 酸度计, JY92-II 超声波破碎仪, SARTORIUS 电子天平, 阴离子大孔交换树脂 D392(天津南开大学化工厂);玉米浆(华北制药康欣有限公司),其余试剂为分析纯级别。标样:草酸(纯度 $\geq 99.8\%$)和柠檬酸(纯度 $\geq 99.5\%$)购于北京化学试剂公司。

1.2 培养条件

1.2.1 固体培养 硫磺菌原变种纯培养菌丝以综合 PDA 斜面传代, 26℃ 培养。

1.2.2 菌丝细胞摇瓶培养 取生长良好的斜面菌种,接入盛有 50mL 培养基的 250mL 预灭菌平底摇瓶,斜面和摇瓶 1:1 接种。摇瓶以 12 层纱布封口,以倾角 60 度固定于往复摇床,以 110r/min, 26℃ 培养。培养基:每升含葡萄糖 10g, 玉米浆 10g, $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, Vitamin B₁ 0.01g, 自然 pH 值。

1.2.3 菌丝细胞生物反应器 *ALR/jff* (专利权所有) 培养 培养基与摇瓶相同,以 96h 的摇瓶培养产物接种,接种量 8%(V/V),每 12h 取样检验样品中草酸含量。

1.2.4 菌丝体干重和上清液 pH 值 样品 4000r/min 离心后,收集上清液,测定 pH 值;菌丝体以无离子水冲洗 3 次,离心收集菌丝体, 80℃ 烘干至恒重。取 3 个样本的平均值。

1.3 硫磺菌原变种液体培养物致死效应测定

1.3.1 检验方法 以模式昆虫果蝇(*Drosophila melanogaster*)检验液体培养物的致死效应,果蝇的生

* 通讯作者。Tel/Fax 86-10-62545134; E-mail: gongjh@sun.im.ac.cn

作者简介 汪国轮(1979-)男,河北人,硕士研究生,研究方向是真菌生物学。E-mail: wglun@sohu.com

收稿日期 2005-01-05,修回日期 2005-05-09

长、发育和繁殖采用玉米粉饲料。果蝇饲养在透明广口玻璃瓶(250mm,55mm×150mm)内,以两层纱布封口。测试饲料:以等体积的超声波破碎的液体培养产物(2min,200W)代替正常饲料中的水分制备测试饲料。30只果蝇成虫(15♂,15♀)放入已经制备好饲料的饲养瓶内,观察其生长及生存情况,60h记录死亡个数。

1.3.2 菌丝细胞致死效应检验 硫磺菌原变种气升式反应器培养终产物按1.2.4所述处理得到菌丝体和上清液,菌丝体溶解于同体积无离子水中,搅拌均匀,以超声波破碎(2min,200W)后,等体积代替饲料中的水分,制备测试饲料;上清液等体积代替饲料中的水分,制备测试饲料;测试实验重复3次,每12h观察记录。

1.4 pH值对上清液生物活性的影响

以1mol/L HCl和2%的NaOH溶液分别调节终产物上清液pH值至2.0、4.0、6.0、8.0(±0.1),然后以调节pH值后的上清液制备测试饲料,以HCl和NaOH调节pH值分别至2.0、4.0、6.0、8.0(±0.1)的初始液体培养基作为空白对照。所有测试实验重复3次,每12h观察记录。

1.5 活性代谢产物分离

以树脂D392对硫磺菌原变种上清液进行分离,洗脱过程分为线性洗脱和静止交换两个阶段。柱参数:Φ50mm×500mm;有效柱长350mm;上柱速率:5mL/cm²/min,每100mL收集样品;线性洗脱速率:5mL/cm²/min,洗脱液0.6mol/L NH₃·H₂O,每25mL收集洗脱样品。静止交换以1mol/L NaOH作为交换剂。当上柱流出液pH值低于6.0时,停止上柱;当洗脱液pH值高于9.0时,停止洗脱;然后加120mL的1mol/L NaOH静止交换,24h后,15mL/cm²/min放出交换后液体,液体组分pH值调节至2.50±0.10,等体积代替正常饲料中的水分制备测试饲料,然后按照1.3中所述进行检验。

1.6 样品草酸含量测定

取离心上清液(流出组分和洗脱组分过程相同)1mL,用流动相稀释25倍,0.45μm微孔滤膜过滤后,进行HPLC分析测定。高效液相色谱仪分析采用德国KNAUER系统(配备液谱泵K-1001,可调波长紫外检测器K-3501),色谱柱:PRONTOSIL120-10-C18(10μm,4.6mm i.d.×250mm)。色谱条件:流速:0.5mL/min,进样体积20μL,检测波长210nm,柱温:30℃,流动相:3%CH₃OH-0.01mol/L K₂HPO₄溶液(pH2.65,用磷酸调配),超纯水配制。标准曲线绘制:分别取5、10、25、50、100(mg/L)进样,利用多点线性回归测定峰面积与浓度的定量关系。

1.7 草酸浓度对果蝇生活的影响

分别以0.1%、0.5%、1.0%、1.5%和2.0%的草

酸溶液制备饲料,测试对果蝇生长的影响。

2 结果和分析

2.1 硫磺菌原变种液体培养物致死活性分析

图1表明硫磺菌原变种液体培养产物中对果蝇具有致死效应的活性产物存在于上清液内,上清液60h内可以导致30只果蝇中90%以上死亡,与培养产物超声波混合破碎后效果相仿,而菌丝细胞的致死效率很低,只能致少于10%的果蝇死亡,并且不能排除是残留在菌丝体外壁上的上清液所导致的果蝇死亡的可能。上清液和菌丝体对于果蝇的致死效率在3个平行的实验结果中均未出现明显的波动,这表明硫磺菌原变种上清液中的具有致死效应的活性物质的相对稳定。

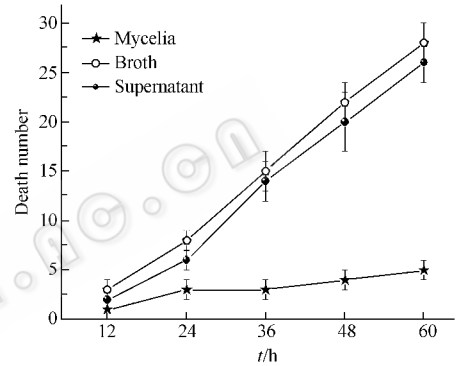


图1 硫磺菌原变种液体培养菌丝体与上清液对果蝇致死效应的差异

Fig.1 Difference of lethal effect between mycelia and supernatant of liquid culture of *L. sulphureus* var. *sulphureus*

2.2 硫磺菌原变种气升式培养过程中菌丝体干重、pH值、草酸含量和果蝇致死效应的变化

硫磺菌原变种在气升式反应器ALR/ff内培养时,一个显著的特征是培养体系的pH值连续下降(图2),因此可能有酸性代谢物产生。高效液相色谱分析在波长210nm处紫外检测表明草酸是培养体系中最主要的有机酸,此外含有少量柠檬酸,另外还有少量的其它有机酸(图3),因此草酸是导致培养体系pH下降的一个主要因素。图2表明,硫磺菌原变种在ALR/ff内培养时菌丝体干重、pH值和草酸浓度以及果蝇致死效应的变化过程呈现简单相关性。培养起始的12h内,菌丝体的增加与草酸的浓度上升呈正相关,但是随后的培养过程中,菌丝体的增长速率要快于草酸浓度的增长,这表明草酸是在菌丝细胞增长过程中分泌出来的并在培养体系内累积,这种累计效果导致培养体系的pH值迅速下降。在ALR/ff内培养硫磺菌原变种过程中,开始24h的培养物对果蝇的生活并无影响,而36h到48h的培养产物能够导致少数果蝇死亡,但是其余果蝇仍然能够完成正常的生活周期。而从48h开始,培养产

物的致死效应迅速上升,致死效率从 50% 迅速上升至 90% 以上,至 108h 达到最大 随后又有稍微下降,重复试验表明,这是正常的波动,而从 108h 后,延长时间对致死效应没有明显的影响,培养体系的生物活性基本维持恒定。硫磺菌原变种培养体系的生物活性是菌丝细胞生长代谢的结果,随着细胞量的增加,活性物质产生并被分泌到细胞外,而生物活性与培养体系的 pH 值呈现相关性,草酸是导致培养体系 pH 值下降的一个主要因素,因此硫磺菌原变种培养体系的生物活性与草酸具有一定的相关性。

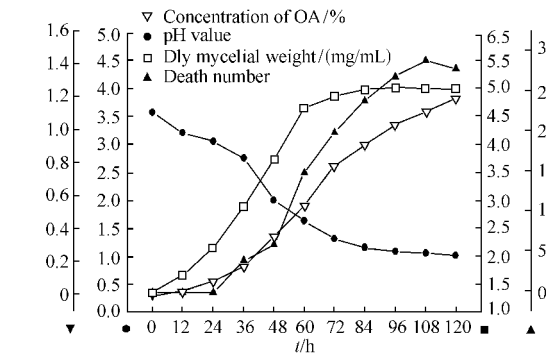


图2 气升式反应器内硫磺菌原变种菌丝体干重、pH 值和草酸浓度的变化

Fig.2 Profiles of dry mycelia weight, pH value and oxalic acid concentration of *L. sulphureus* var. *sulphureus* in ALR/ff

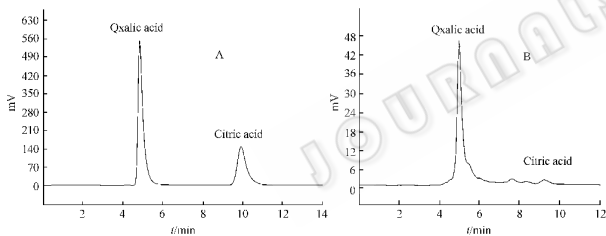


图3 上清液中有有机酸含量 HPLC 分析

Fig.3 HPLC analysis and quantification of organic acids in supernatant A : HPLC analysis of oxalic acid and citric acid (A. P.); B : HPLC analysis of supernatant.

Oxalic acid : $C = 0.5702 + 0.0009015A$, $r = 0.9999$; Citric acid : $C = 0.3288 + 0.0006804A$, $r = 0.9999$.

2.3 上清液 pH 值对致死效应的影响

图 4 显示上清液 pH 值对其生物活性的影响。pH 值在 2.0 时,生物活性与 pH 值未调节时没有本质区别,而 pH 值在 4.0 时,生物活性与上清液有微小的差别,但是依然能导致 30 只果蝇中 80% 以上死亡,并且能够抑制剩余果蝇的繁殖。pH 值在 6.0 时,上清液制备的饲料对果蝇的正常生长和发育基本没有影响,但是仍然有少量果蝇死亡,而 pH 值在 8.0 及以上时,上清液制备的饲料对果蝇的正常生长和繁殖没有任何影响,与正常饲料无异,而空白培养基在各个相同的 pH 条件下均没有活性。进一步检验发现生物活性的迅速下降发生在 4.5 ± 0.3 狭窄的 pH 值范围内。

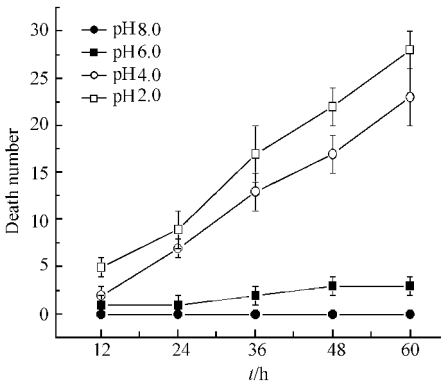


图4 硫磺菌原变种的上清液 pH 值对果蝇致死效应的影响

Fig.4 Effect of pH value on lethal effect of supernatant of *L. sulphureus* var. *sulphureus* in ALR/ff

2.4 培养物上清液离子交换树脂的分析

利用阴离子大孔交换树脂柱对上清液进行分离分析(图 5)。上柱过程中,流出液体的前 4 号收集样品没有明显致死效应,而从 400 ~ 1600mL,流出液体的致死效应逐渐增加,当流出液体的 pH 值低于 6.0 时,草酸含量约 0.7%,致死效率可以达到上清液的 30% 左右,表明随着吸附过程的进行,D392 树脂的部分活性交换集团被饱和,对活性产物吸附效率下降,而与此相对应的是流出液体组份的 pH 值慢慢的下降至 5.0 左右。线性洗脱过程中,第 1 号收集样品致死效率为 70%,第 2 到第 9 号收集样品的致死效率虽然有波动,但是都稳定在 80% 以上;相比之下,第 10 号样品的致死效率迅速下降至 40%,第 11 号样品则下降至 5%,与之相对应的 pH 值变化过程中,第 1 号样品 pH 值大于 5.0,从第 2 号到第 9 号样品, pH 值均在 3.75 到 4.00 之间,而第

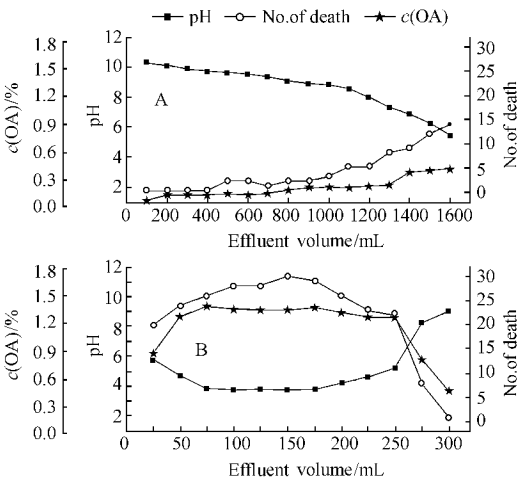


图5 硫磺菌原变种上清液离子交换过程各个组分对果蝇的致死效应,草酸含量以及 pH 值变化

Fig.5 Profiles of lethal effects, amount of oxalic acid and pH value of components in ion-exchange isolation of *L. sulphureus* var. *sulphureus* A : Profiles of parameters in absorption process ; B : Profiles of parameters in elution process.

10号样品的pH值则急剧上升至8.38,第11号样品的pH值则上升到9.98,pH值变化和生物活性对比说明,洗脱液的pH值与果蝇的致死效应相关。离子交换树脂的分离分析表明对果蝇具有致死效应的活性产物是酸性物质,该物质可以被离子交换树脂吸附,并被 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 洗脱。此前对硫磺菌红色变种上清液进行分离分析结果与此非常相似^[4]。

2.5 草酸浓度对果蝇生活的影响

图6表明饲料中不同草酸的浓度对果蝇生长的影响具有显著的差异。0.1%的草酸对果蝇的生活没有任何影响,尽管此时草酸溶液的pH值为2.7左右,0.1%的草酸对果蝇的生长有轻微的影响,约10%的果蝇会出现意外死亡,但是存活的果蝇生长正常,而当浓度上升到1.0%时死亡率已经达到70以上,而当浓度上升到1.5%及以上时,致死率接近100%,而柠檬酸的测试结果中,相同pH值条件下致死效率要明显低于草酸,并且浓度上升时致死效率没有明显的改变^[4]。这表明草酸对果蝇具有一定程度的毒性,这种毒性与浓度具有一定程度的相关性,但是与饲料的pH值并无紧密的关系,以磷酸、盐酸等无机酸调节制备的低pH值饲料致死效率很低。

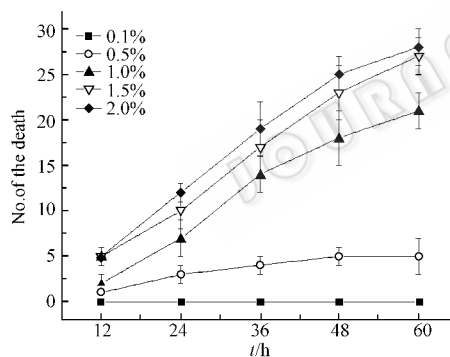


图6 草酸的浓度对饲养果蝇的影响

Fig.6 Effect of concentration of oxalic acid on reared fruit fly

2.6 具有果蝇致死活性的未知色素

洗脱液pH值高于9.0时,洗脱过程接近终点,此时停止洗脱,开始静止交换。交换5min后,原来无色的NaOH溶液30s内变为桔黄色,随后颜色逐渐加深,到24h时,变成紫红色,这表明有色素溶解在NaOH溶液中。将交换后的NaOH溶液用1mol/L HCl调节pH值至3.60左右时,紫红色变为浅红色。继续调节pH值到 2.50 ± 0.10 并制备测试饲料,发现其致死效率比硫磺菌原变种上清液略低,在80%左右。以NaCl溶液代替水制备的测试饲料对果蝇的生长和发育没有任何不良影响,表明经过离子交换树脂吸附除去草酸后的上清液的果蝇致死效应与

溶解在NaOH溶液中的未知色素有因果关系(图略)。但是在HPLC检验中,在210nm紫外检测并未检测到特异性的组分,可能是因为该物质与普通的有机酸的紫外吸收差异。目前我们尚不清楚未知色素是何种物质,此前在对硫磺菌红色变种进行分离分析时也发现类似的未知色素对果蝇的致死效应^[4]。

3 讨论

很多木腐担子菌的子实体和纯培养菌丝都能够分泌草酸,一般认为草酸的分泌与木腐过程密切相关,但是其在白腐和褐腐过程中的作用有明显的差异,在褐腐菌中主要是在降解纤维素、半纤维素等碳水化合物的过程中,作为Fenton类型的氧化作用的质子供体,促进复杂化合物的降解^[7],也有报道认为草酸的分泌与生长环境中重金属离子的耐受有关^[8],但是没有报道论及木腐菌液体培养生长代谢过程所产生的昆虫毒理效果。此前有报道从一种黄曲霉*Aspergillus flavus* var. *columnaris*中分离到的曲酸(Kojic acid)对昆虫的发育具有抑制作用,但是其并不直接致昆虫死亡,而是在较高浓度时导致昆虫发育延迟^[9],我们发现乳酸对果蝇也有类似活性。近来Alverson发现黑曲霉能够影响蜡象*Lygus hesperus*的生长^[10],进一步研究发现曲酸和草酸对*L. hesperus*具有一定的毒性,这是黑曲霉影响*L. hesperus*生长的原因之一,但是并不致其死亡。草酸和曲酸通常被认为是低等真菌产生的毒素^[11]。很多种白腐和褐腐担子菌液体培养条件下都可以分泌并积累草酸,而且其中很多为食药菌。不同的氮源浓度能够影响担子菌菌丝如糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*)草酸的产量^[7],但是其液体培养产物对果蝇的生长发育并无明显的影响。

民间流传把硫磺菌子实体晒干后,放在室内焚烧,可以驱除蚊、蚋、蠓等害虫,但是硫磺菌的子实体(未指明变种)对果蝇没有致死效应^[12],我们发现硫磺菌液体培养物具有对果蝇的致死效应,而菌丝体分泌的草酸与此生物活性相关^[4]。昆虫中肠道内环境一般呈中性至碱性,并且具有一定的pH值缓冲能力^[13],草酸可能是通过破坏了肠道的酸碱平衡,从而导致果蝇的死亡,但是我们在对硫磺菌红色变种进行研究时,发现酸的种类和浓度对果蝇致死效率影响很大,以上理由无法解释这种明显的差异^[4],因此很可能还有另外的致死因素。我们还发现一种碱性条件下呈紫红色的酸性色素也具有同样的生物活性^[4]。最近Weber报道从硫磺菌的子实体中分离

到一种多烯类的色素 Laetiporic acid, 该报道还称液体培养条件下硫磺菌也可以产生 Laetiporic acid^[14], 但是该报道没有明确指明变种, 而且没有相关的生物活性分析报道。由于多烯类物质普遍具有抗生素活性^[15], 而 Ershova 等最近报道硫磺菌的液体培养产物具有广谱抗菌效果^[16], 所以该色素可能导致果蝇死亡的一个因素, 但是我们目前尚不能确定此未知色素是否是 Laetiporic acid。我们正在对此色素的结构和生物活性进行进一步测定和检验, 以便阐明硫磺菌液体培养中独有的果蝇致死效应的机制。

很多蕈菌的子实体具有杀虫效果^[17, 18], 并且有很多具有杀虫活性的物质已经成功分离纯化^[19]。从一种食用菌嗜球果伞 (*Strobilurus tenacellus*) 中分离到的 Strobilurins 及其系列衍生物已经被用于开发生物农药^[10], 因此蕈菌源生物杀虫剂具有广阔的开发前景。此前的研究的多是以子实体为研究对象, 而子实体的来源受诸多不利因素如时间和采集地的限制, 我们的研究表明利用液体大规模培养技术开发蕈菌源生物杀虫剂具有潜在的可行性。

致谢 感谢中国科学院微生物研究所卯晓岚先生, 湖南师范大学张志光先生、陈作红教授和张平博士在蕈菌的采集和分类以及菌种分离上给予的指导和帮助。

参 考 文 献

[1] 卯晓岚. 中国大型真菌. 郑州: 河南科学技术出版社, 2000, 437-438.
[2] 池玉杰, 潘学仁, 康海燕, 等. 硫磺菌原变种与淡红变种培养特性研究. 东北林业大学学报, 1999, 27: 79-80.
[3] Green F, Clausen C. Copper tolerance of brown-rot fungi: time course of oxalic acid production. *Inter Biodeter Biodegrad*, 2003, 51(1): 139-144.

[4] 汪国轮, 郭学武, 龚建华. 蘑菇菌丝体代谢产物对果蝇的致死效应. 云南植物研究, 2005, 27(1): 71-80.
[5] Bushnell R W. Acidic metabolic products of *polyporus sulphureus*. *Mycologia*, 1957, 49: 623-635.
[6] Shimada M, Akamatsu Y, Hattori T, et al. A proposed role of oxalic acid in wood decay systems of wood-rotting basidiomycetes. *FEMS Microbiol Rev*, 1994, 13: 285-296.
[7] Shimada M, Akamatsu Y, Hattori T, et al. Possible biochemical roles of oxalic acid as a low molecular weight compound involved in brown-rot and white-rot wood decays. *J Biotech*, 1997, 53(1): 103-113.
[8] Kartal S N, Munir E, Kakitani T, et al. Bioremediation of CCA-treated wood by brown-rot fungi *Fomitopsis palustris*, *Coniophora puteana*, and *Laetiporus sulphureus*. *J Wood Sci*, 2004, 50: 182-188.
[9] Beard R L, Walton G S. Kojic acid as an insecticidal mycotoxin. *J Invert Pathol*, 1969, 14: 53-59.
[10] Alverson J. Effects of *Aspergillus niger* contamination on biological fitness of *Lygus hesperus*. *J Entomol Sci*, 2002, 37: 338-344.
[11] Alverson J. Effects of mycotoxins, kojic acid and oxalic acid on biological fitness of *Lygus hesperus*. *J Invert Pathol*, 2003, 83: 60-62.
[12] Mier N, Canete S, Klæbe A, et al. Insecticidal properties of mushroom and toadstool carpophores. *Phytochemistry*, 1996, 41(5): 1293-1299.
[13] 尤子平. 昆虫的消化生理与毒理. 南京: 江苏人民出版社, 1963, 111-116.
[14] Weber R W S, Mucci A, Davoli P. Laetiporic acid, a new polyene pigment from the wood-rotting basidiomycete *Laetiporus sulphureus* (Polyporales). *Tetrahedron Lett*, 2004, 45: 1075-1078.
[15] Aparicio J F, Caffrey P, Zotchev S B. Polyene antibiotic biosynthesis gene clusters. *Appl Microbiol Biotech*, 2003, 61(3): 179-188.
[16] Ershova E I, Tikhonova O V, Dudnik I V. Antimicrobial activity of *Laetiporus sulphureus* strains grown in submerged culture. *Antibiot Khimioter*, 2003, 48: 18-22.
[17] Besl H, Krump C H, Scheffesik M. Die Wirkung von Pilzfruchtkörpern auf Drosophila-Maden. *Z Mykologie*, 1987, 53(2): 273-278.
[18] 高锦明, 陈安良, 汪玉秀, 等. 高等真菌杀虫成分的研究进展. 西北林学院学报, 2002, 17(2): 64-68.
[19] Sauter H, Steglich W, Anke T, et al. Strobilurins: Evolution of a new class of active substances. *Angew Chem Int Ed*, 1999, 38: 1328-1349.

Bioactivity of *Laetiporus sulphureus* var. *sulphureus* metabolites in liquid culture

WANG Guo-lun^{1, 2} GUO Xue-wu^{1, 2} GONG Jian-hua^{1*}

(¹ Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

(² Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The liquid culture of *Laetiporus sulphureus* var. *sulphureus* was lethal against fruit fly. It was found that extracellular metabolites were primary causation of the lethal effect against fruit fly, which was influenced by pH value. Isolation and analysis with ion-exchange resin column chromatography and HPLC demonstrated that oxalic acid was present in supernatant of *Laetiporus sulphureus* var. *sulphureus*, and it was one of the contributing factors to lethal effect against fruit fly and decrease of pH value of culture system. When cultured in airlift reactor, concentration of oxalic acid, quantity of mycelia and pH value was correlated with each other. Further analysis on elution revealed that a kind of oligidic pigment of amaranth in alkaline condition were also lethal against fruit fly.

Key words: Fruit fly, pH value, Oxalic acid, Lethal effect

* Corresponding author. Tel/Fax 86-10-62545134; E-mail: gongjh@sun.im.ac.cn

Received date 01-05-2005