

常见霉腐真菌的抗药性比较

徐云泉

曾素芬

(中国科学院成都生物研究所) (成都第二制革厂)

据文献报道^[1],引起各种工业材料和制品劣化的真菌有113个属,234个种。由于各种材料上常见的霉变真菌种类不同,而且各类菌对各种药物的敏感性也不一样,通常只选择其中几株有代表性的真菌作为药物筛选的测定菌^[2,3]。目前国内尚未见到统一的标准测定菌。现研究证明,主要的产毒霉菌大部分是青霉菌和曲霉菌^[4],考虑到能否在防霉试验的测定菌中尽可能减少产毒菌株数,我们在某些霉变材料上进行了霉菌的分离和鉴定。并选15株菌进行了抗药性比较。结果如下。

材 料 和 方 法

一、测定菌

我们从霉变的酸菜、苕渣、皮革等材料上分得的霉菌中选取6株青霉、4株曲霉和其他5株霉菌作为测定菌:

桔青霉	<i>Penicillium citrinum</i>
纠缠青霉	<i>Penicillium implicatum</i>
微紫青霉	<i>Penicillium janthinellum</i>
圆弧青霉	<i>Penicillium cyclopium</i>
常现青霉	<i>Penicillium frequentans</i>

斜卧青霉	<i>Penicillium decumbens</i>
黄曲霉	<i>Aspergillus flavus</i>
黑曲霉	<i>Aspergillus niger</i>
杂色曲霉	<i>Aspergillus versicolor</i>
棒曲霉	<i>Aspergillus clavatus</i>
冬青甸柄霉	<i>Stemphylium ilicis</i>
康氏木霉	<i>Trichoderma koningii</i>
拟青霉	<i>Paecilomyces sp.</i>
匍枝根霉	<i>Rhizopus stolonifer</i>
交链孢霉	<i>Alternaria sp.</i>

二、药物

选用一部分毒性低、效果较好的工业防霉剂^[2]和部分农药。如BCM(苯咪唑氨基甲酸甲酯);“噁唑酮”(5,6-二氯苯并噁唑酮);DHA(脱氢醋酸);纹枯利(N-3,5-二氯苯基丁二酰亚胺);7012(二硫腈基甲烷);对氨基苯磺酸钠;甲基托布津[1,2-双(3-甲氧羰基-2-硫脲)苯];023。

参加本工作的还有曾本秀、唐剑秋、杜茂芬、徐德昭、彭立柏、魏德蒙等同志。本文承蒙微生物室主任吴衍庸同志审阅并修改。谨此致谢。

三、平皿测定培养基

麦芽汁琼脂培养基。

四、方法

将测定菌在麦芽汁斜面上培养 10 天,然后制取孢子悬液。每毫升约含孢子 500—800 万个。将直径 6mm 的双层滤纸片投入一定浓度的药液中,浸泡 2 小时,取出于 40℃ 烘干。在麦芽汁琼脂平皿中滴入 0.1ml 的待测霉菌孢子悬液并混匀,冷却后,将附有药物的双层滤纸片置于培养基表面,于 29±1℃ 进行培养,定期观察抑菌圈的大小,确定每种菌的抗药性能。

结 果

一、抗药性能的测定

分二次进行,第一次测定选用 13 株菌,7 种药物。在培养 3、6、9、12 天以后,分别观察并测抑菌圈大小。从表 1 中可以看到,6 株青霉菌对药物最敏感,冬青旬柄霉、黑曲霉、黄曲霉、康氏木霉等有较强的抗药性。BCM 的抑菌效果最佳,其次是 7012。

在接入青霉菌的平皿中,虽有较大的抑菌范围,然而较多的抑菌圈很快被匍枝根霉、交链

表 1 第一次抗药性测定结果*

药物	甲基托布津				BCM				纹枯利				DHA				7012				023				“噬嗑”			
浓度	0.6%				0.3%				0.4%				0.5%				0.5%				0.1%				0.3%			
观察时间 (培养后天数)	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12
黄曲霉	0	0	0	0	28	29	25	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
黑曲霉	0	0	0	0	27	32	36	35	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
拟青霉	0	0	0	0	31	24	24	23	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
康氏木霉	0	0	0	0	35	24	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
桔青霉	22	19	15	14	56	47	43	39	25	0	0	0	0	0	0	0	51	37	21	17	15	0	0	0	11	0	0	0
牵连青霉	32	28	26	26	48	48	45	44	29	28	24	22	0	7	7	8	54	51	37	22	7	0	0	0	0	8	0	0
微紫青霉	27	26	25	25	43	44	43	42	22	19	0	0	0	0	0	0	41	28	16	8	0	0	0	0	0	0	0	0
圆弧形青霉	28	27	28	28	48	43	44	41	29	28	25	22	30	30	29	27	47	45	44	44	0	0	0	0	0	0	0	0
常现青霉	31	30	31	30	47	46	46	43	31	28	29	0	0	0	0	0	57	55	47	48	0	0	0	0	0	0	0	0
杂色曲霉	20	18	18	16	34	27	0	0	23	0	0	0	0	0	0	0	34	13	11	9	0	0	0	0	0	0	0	0
斜卧青霉	46	40	45	0	63	62	60	60	25	13	0	0	0	0	0	0	52	47	29	18	0	0	0	0	0	0	0	0
冬青旬柄霉	0	0	0	0	0	0	0	0	39	33	0	0	0	0	0	0	41	25	0	0	0	0	0	0	14	0	0	0
棒曲霉	10	7	12	0	21	11	11	8	21	0	0	0	0	0	0	0	25	9	10	8	0	0	0	0	0	0	0	0

表 2 第二次抗药性测定结果

药 物	BCM-7012				HCM-对氨基苯磺酸钠				BCM-纹枯利				BCM			
浓 度	0.1%				0.1%				0.1%				0.1%			
观察时间 (培养天数)	2	5	9	14	2	5	9	14	2	5	9	14	2	5	9	14
交链孢霉	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
微紫青霉	46	45	43	48	48	43	44	42	49	42	43	39	47	42	44	49
圆弧形青霉	46	46	46	41	48	50	51	44	50	48	48	49	47	47	48	48
桔青霉	0	56	55	55	0	54	54	56	0	57	54	50	0	51	50	49
康氏木霉	31	20	0	0	28	0	0	0	25	0	0	0	24	0	0	0
匍枝根霉	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
黄曲霉	29	26	0	0	28	27	0	0	28	25	0	0	22	21	0	0
黑曲霉	32	0	0	0	31	0	0	0	33	0	0	0	34	0	0	0

注: 表 1、2 中所列数据为抑菌圈直径,均系两次平行试验数据的平均值,单位: mm。“0”为无抑菌圈

孢霉等杂菌污染。为此,进行了第二次测定,增加交链孢霉和匍枝根霉。药物以 BCM 为主,适当组合其他药物,组合比例均为 12:1,并重复 BCM 的测定。测定结果见表 2。交链孢霉、匍枝根霉的抗药性最强,其次是康氏木霉、黑曲霉和黄曲霉,青霉菌的测定与第一次结论相同。

在每次测定中,各种药物均以三种不同浓度测试,表中未能全部列出,其情况均与上述结果一致。

讨 论

本报告中供试的霉菌仅从部分霉变材料上分离得到的,未能包括如枝孢霉和球毛壳菌等一些常见霉菌真菌,选用的供试药物种类也不够全面,然而从试验中仍可看到一种趋势,即引起各种材料劣化的大量青霉菌对药物是很敏感的。目前常用的药物筛选测定菌中的桔青霉、圆弧青霉等也不例外,而这些青霉菌中往往具有产毒菌株。

引起各种材料霉变的主要真菌是不同的。对于某种材料上的霉变真菌来说,能被一定的药物抑制其生长。而后,这种材料往往会很快又染上其他抗药性强的菌株;这种情况在实际

工作中常会遇到。所以在确定药筛测定菌时,虽要考虑到霉变材料上具有代表性的菌株,但更要注意选择抗药性强的菌株,以利提高药筛效果。根据本试验结果,在确定药筛测定菌时可以避免使用可能产毒的菌株而使用抗药性较强的菌株。我们认为选用黑曲霉 *Aspergillus niger*; 交链孢霉 *Alternaria sp.*; 匍枝根霉 *Rhizopus stolonifer*; 拟青霉 *Paecilomyces sp.*; 康氏木霉 *Trichoderma koningii*; 蜡叶枝孢霉 *Cladosporium herbarum*; 球毛壳菌 *Chaetomium globosum* 等菌株作为药筛测定菌较为适宜。

本试验讨论的霉菌抗药性问题均属于对各种药物的初期接触效应,至于长期使用该类药物而产生的耐药性问题则不属本项研究所讨论的范围。

参 考 文 献

- [1] 七字三郎: 微生物工学の応用, 283 页, 共立出版株式会社, 1972。
- [2] 上海工业微生物研究所等: 微生物学通报, 3 (2): 1976。
- [3] 井上真由美: 続应用微生物の方向, 73—77 页, 槇書店, 1972。
- [4] 孟昭赫等: 真菌毒素研究进展, 人民卫生出版社, 北京, 1979。