

桔黄赛多孢，一种潜在的致病有丝分裂产孢真菌

王玉荣¹ 王垚¹ 罗韵¹ 梁建东² 陈万浩¹ 韩燕峰^{1*} 梁宗琦¹

(1. 贵州大学 生命科学学院真菌资源研究所 贵州 贵阳 550025)

(2. 贵阳中医学院 基础医学院 微生物教研室 贵州 贵阳 550002)

摘要:【目的】调查发现我国土壤中稀有且重要的真菌资源。【方法】采用经典形态学及分子系统学方法对获得的菌株进行鉴定。【结果】从一养殖场含有猪粪的土样中分离获得一赛多孢 EM12901 菌株。其主要鉴别特征是：在查氏培养基上，绒状，灰白色至淡棕色。分生孢子梗单生或分支；单生的分生孢子梗常退化为产孢细胞。产孢细胞顶生或侧生，透明至半透明，薄壁，柱状或轻微膨大的烧瓶状，(3.5–45.0) $\mu\text{m} \times (1.5–3.0) \mu\text{m}$ ；分生孢子顶生或侧生，单生，透明至半透明，光滑，椭圆形、倒卵圆形或近柱状，(4.3–14.0) $\mu\text{m} \times (2.5–5.5) \mu\text{m}$ 。【结论】基于形态学及分子系统学方法相结合鉴定，赛多孢 EM12901 菌株为我国一新记录种，桔黄赛多孢 *Scedosporium aurantiacum* Gilgado, Cano, Gené & Guarro。

关键词: 无性型真菌，新记录种，赛多孢，桔黄赛多孢

Scedosporium aurantiacum, a potential pathogenic mitosporic fungus

WANG Yu-Rong¹ WANG Yao¹ LUO Yun¹ LIANG Jian-Dong²

CHEN Wan-Hao¹ HAN Yan-Feng^{1*} LIANG Zong-Qi¹

(1. Institute of Fungus Resources, College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

(2. Department of Microbiology, School of Basic Medical Science, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou 550002, China)

Abstract: [Objective] The objectives were to investigate and discover some rare and important fungi from the soil in China. [Methods] The classical morphological characters and molecular systematics were used for identification of strains obtained. [Results] A strain of the genus *Scedosporium* was isolated from the soil of pig manure. The main characters were as follows: on Czapek agar, floccose, gray white to light brown. Conidiophore was single or branched; Single conidiophores was usually reduced to the conidiogenous cells, which is terminal or lateral, hyaline to subhyaline, smooth, cylindrical or lightly inflated flask-shaped, (3.5–45.0) $\mu\text{m} \times (1.5–3.0) \mu\text{m}$; Conidia single, terminal or lateral, smooth, ellipsoidal, obovoid or sub-cylindrical, (4.3–14.0) $\mu\text{m} \times (2.5–5.5) \mu\text{m}$. [Conclusion] Based on the morphological characters and molecular systematic, the strain was proposed as *S.*

基金项目：科技部基础专项项目子项目(No. 2013FY110400)；贵州省优秀青年科技人才培养对象专项资金项目[黔科合入字(2013)05号]；贵州省科学技术基金项目(No. 黔科合J字[2012]2070号)；贵阳中医学院博士基金项目(2011)

*通讯作者：Tel: 86-851-3856374；✉: swallow1128@126.com

收稿日期：2014-01-11；接受日期：2014-03-12；优先数字出版日期(www.cnki.net)：2014-03-17

aurantiacum Gilgado, Cano, Gené & Guarro, which is a new record species in China.

Keywords: Anamorphic fungi, New record, *Scedosporium*, *S. aurantiacum*

赛多孢属 *Scedosporium* Sacc. ex Castell. & Chalm. 是 1919 年以尖端赛多孢 *S. apiospermum* Sacc. ex Castell. & Chalm. 为模式种所建立, 属于子囊菌门 Ascomycota, 粪壳菌纲 Sordariomycetes, 微囊菌目 Microascales, 小囊菌科 Microascaceae。迄今为止, 该属已记载报道 9 个种 (<http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>)。其中, 膨大赛多孢 *S. inflatum* Malloch & Salkin 是多育赛多孢 *S. prolificans* (Hennebert & B.G. Desai) E. Guého & de Hoog 的同物异名^[1]。因此, 目前该属共有 8 个有效种。该属的有性型为假阿利什菌 *Pseudallescheria* Negr. & I. Fisch.^[2]。该属真菌早期被认为是一类腐生真菌, 但最近的报道表明, 这类真菌有时是人类和动物的机会病原菌^[3-4], 且分布比较广泛^[5-6]。不同地域的赛多孢菌株对小鼠的毒力有差异^[7]。近年来, 该属真菌在我国引起系统及播散性感染的报道逐渐增多。它们对多种抗真菌药物耐药, 其治疗通常十分困难^[8]。最近报道尖端赛多孢和多育赛多孢能感染人类的肺部、引起鼻炎和造成急性白血病等免疫力低下患者的并发感染; 当免疫功能严重受损时, 它们还可引起致命性的侵袭性感染^[9-12]。

作者在进行土壤真菌调查时分离获得一株赛多孢菌, 经形态学和分子系统学分析鉴定为中国新记录种——桔黄赛多孢 *Scedosporium aurantiacum* Gilgado, Cano, Gené & Guarro。

1 材料与方法

1.1 菌株的分离

EM12901 菌株, 分离自王玉荣等采自贵州省遵义市一养猪场的土样。

1.2 菌种鉴定

形态学鉴定参照已报道的赛多孢文献进行^[1]。采用查氏培养基和 PDA 培养基在 25 °C 下恒温培养 7 d, 观察记载菌落特征并用显微镜观察、测定和拍照微观产孢结构进行鉴定。

1.3 DNA 提取及 PCR 扩增

参照韩燕峰等的操作方法^[13], 采用 DNA 提取试剂盒提取总 DNA, 用通用引物 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 和 ITS5 (5'-GGTGAGAGATTTCTGTGC-3') 进行 PCR 扩增。将获得的 PCR 产物交北京诺赛公司进行测序, 得到的序列经校正后提交 GenBank (登陆号 KJ001004)。

1.4 数据处理和系统发育树的构建

从 GenBank 中下载经 BLAST 比对与本序列最相近的序列, 及其它赛多孢序列共 23 条, 以临汾金孢 *Chrysosporium linfenense* Z.Q. Liang, J.D. Liang & Y.F. Han 的 ITS1-5.8S-ITS2 rDNA 序列为外群, 用 Clustal 1.83 进行序列比对, 手工校正后, 用 MEGA 5.0 中的邻接法 (NJ) 经 1 000 次 Bootstrap 验证, 构建系统发育树^[14]。

2 结果与分析

2.1 形态描述

桔黄赛多孢 中国新记录种(图 1)

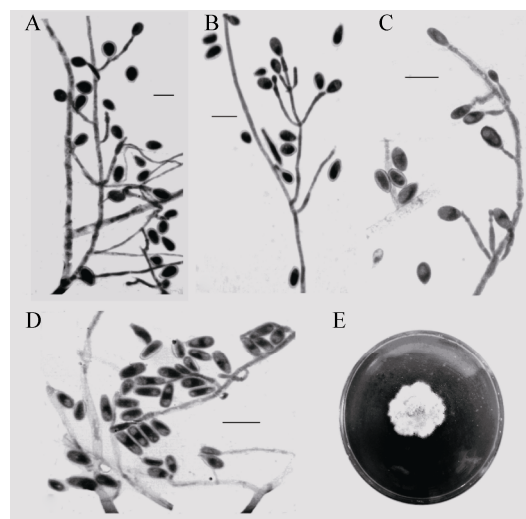


图 1 桔黄赛多孢 EM12901 的菌落特征与产孢结构
Figure 1 Colony and conidiogenous structures of *Scedosporium aurantiacum*

注: A-D: 产孢结构; E: PDA 培养基上的菌落。标尺=10 μm。
Note: A-D: Conidiogenous structures; E: Colony on PDA media. Bars=10 μm.

Scedosporium aurantiacum Gilgado, Cano, Gené & Guarro, in Gilgado, Cano & Guarro, *J. Clin. Microbiol.* 43(10): 4938 (2005)

查氏培养基上, 25 °C 培养 7 d, 直径 30 mm 左右, 绒状, 较稀疏, 灰白色至淡棕色, 隆起达 5 mm, 背面淡棕色至灰白色。

PDA 培养基上, 25 °C 培养 7 d, 直径 20–25 mm, 细绒状, 向上隆起, 高 3–6 mm, 中间褐色, 边缘灰白色, 中央突出, 边缘不规则。背面红棕色, 周围可见扩散的黄色素。

菌丝分隔, 透明, 光滑, 直径 1.6–5.4 μm。分生孢子梗单生或分枝; 单生的分生孢子梗常退化为产孢细胞, 常由 2–3 个产孢细胞组成一轮生体。产孢细胞顶生或侧生, 透明至半透明, 薄壁, 柱状或轻微膨大的烧瓶状, (3.5–45.0) μm × (1.5–3.0) μm; 分生孢子顶生或侧生, 单生, 透明至半透明, 薄壁, 光滑, 椭圆形、倒卵圆形或近柱状, (4.3–14.0) μm ×

(2.5–5.5) μm。厚垣孢子未见。

研究菌株: EM12901, 分离自王玉荣等于 2011 年 7 月采自贵州省遵义市遵义县龙坪镇中兴养殖场含猪粪的土样。

2.2 分子鉴定

NJ 法构建的系统发育树显示(图 2), 所用的赛多孢属 4 个种的不同菌株能很好地区分, 各自聚为一群。菌株 EM12901 与桔黄赛多孢 *S. aurantiacum* 以 100% 的支持率聚为一群, 并与其余赛多孢种明显区分。

3 讨论

赛多孢目前报道的有效种有 8 种, 菌株 EM12901 的形态描述在菌落颜色、分生孢子梗和孢子形态等方面与 Gilgado 等^[15]的原始描述基本一致(表 1)。从基于 ITS1-5.8S-ITS2 rDNA 序列

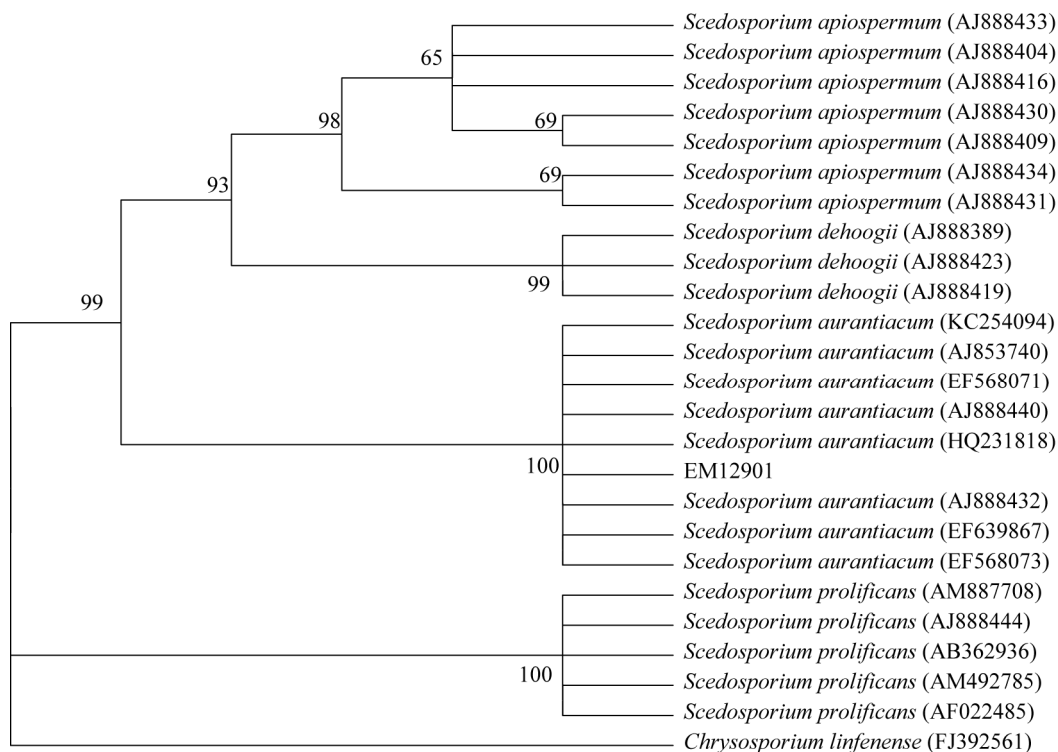


图 2 采用 MEGA 5.0 邻接法对 EM12901 菌株和相关赛多孢菌株构建的系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree of strain EM12901 and related *Scedosporium* strains by MEGA 5.0 NJ methods

注: 基于 ITS1-5.8S-ITS2 rDNA 序列, 以临汾金孢为外群。分支上的数值为经 1 000 次 Bootstrap 验证后得到的大于 50% 的支持率。
Note: Based on analysis of ITS1-5.8S rDNA-ITS2 sequences, *Chryso sporium linfenense* as the outgroup, the bootstrap values based on 1 000 replicates are given above the branches. Frequencies under 50% are not shown.

表 1 菌株 EM12901 与桔黄赛多孢形态特征比较
Table 1 Morphological comparison between strain EM12901 and *Scedosporium aurantiacum*

菌株 Strains	颜色 Colour	质地 Texture	孢子着生位置 Structures generating conidia	孢子形状 Conidial shape	孢子大小 Conidial size (μm)
<i>S. aurantiacum</i> ^[15]	淡黄灰色-棕灰色-白色	棉绒状	顶生-侧生-支撑细胞-菌丝	倒卵形-近柱形	(5.0-14.0)×(2.0-5.0)
EM12901	棕灰色-灰白色	细绒状	顶生-侧生-支撑细胞	椭圆形-倒卵形- 近柱状	(4.3-14.0)×(2.5-5.5)

构建的系统系统树上(图 2), 所有的供试赛多孢种能明显区分, 尖端赛多孢 *S. apiospermum* 以 98% 的支持率聚在一支, 德氏赛多孢 *S. dehoogii* 以 99% 的支持率聚为一支, 桔黄赛多孢 *S. aurantiacum* 以 100% 的支持率聚为一支, 多育赛多孢 *S. prolificans* 以 100% 的支持率聚在一支; 这与彭慧和郑岳臣^[16] 报道的 ITS 能快速诊断尖端赛多孢的结果相一致。

研究菌株 EM12901 与桔黄赛多孢 *S. aurantiacum* 以 100% 的支持率聚在一起, 与形态鉴定的结果相一致。综合形态特征和分子系统学分析, 菌株 EM12901 应鉴定为桔黄赛多孢 *Scedosporium aurantiacum* Gilgado, Cano, Gené & Guarro.

参 考 文 献

- [1] Guého E, Hoog GS de. Taxonomy of the medical species of *Pseudallescheria* and *Scedosporium*[J]. Journal de Mycologie Medicale, 1991, 1: 3-9.
- [2] Gilgado F, Cano J, Gene J, et al. Molecular and phenotypic data supporting distinct species statuses for *Scedosporium apiospermum* and *Pseudallescheria boydii* and the new species *Scedosporium dehoogii*[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2008, 46(2): 766-771.
- [3] Gilgado F, Serena C, Cano J, et al. Antifungal susceptibilities of the species of the *Pseudallescheria boydii* complex[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(12): 4211-4213.
- [4] Ponton J, Ruchel R, Clemons KV, et al. Emerging pathogens[J]. Medical Mycology, 2000, 38(Suppl 1): S225-8236.
- [5] Berenguer J, Diaz-Mediavilla J, Urra D, et al. Central nervous system infection caused by *Drosophila*

melanogaster: Case Report and Review[J]. Reviews of Infectious Diseases, 1989, 11: 890-896.

- [6] De Hoog GS, Guarro J, Gene J, et al. Atlas of clinical fungi[M]. 2nd edn. Washington DC.: American Society for Microbiology, 2000.
- [7] Nweze EI, Okafor JI. Comparative virulence of *Scedosporium* species in animal models[J]. Journal of Infectious Diseases, 2010, 14(3): 271-276.
- [8] 吕雪莲, 刘泽虎, 张晓利, 等. 赛多孢子菌病, 皮肤科教程[J]. 中华皮肤科杂志, 2009, 42(3): 218-222.
- [9] 尹秀云, 陈建魁, 俞志勇, 等. 急性白血病患者尖端赛多孢子菌与细菌多重感染的实验诊断及治疗[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(23): 3833-3835.
- [10] 周树生, 承韶晖, 刘宝, 等. 尖端赛多孢菌感染 1 例[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(6): 466-468.
- [11] 徐艳, 郝飞, 钟白玉, 等. 尖端赛多孢子菌所致肺部感染 1 例[J]. 中国真菌学杂志, 2008, 3(5): 292-294.
- [12] 孙继海, 王艳玲, 周秀珍, 等. 4 例少见丝状真菌深部感染实验室检测[J]. 中国感染控制杂志, 2010, 9(6): 414-418.
- [13] 韩燕峰, 王玉荣, 梁建东, 等. 来自青海农田土壤的金孢属一新种[J]. 菌物学报, 2013, 32(4): 606-611.
- [14] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [15] Gilgado F, Cano J, Gene J, et al. Molecular phylogeny of the *Pseudallescheria boydii* species complex: proposal of two new species[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2005, 43(10): 4930-4942.
- [16] 彭慧, 郑岳臣. rDNA ITS 序列在鉴定尖端赛多孢子菌中的应用[J]. 同济医科大学学报, 2000, 29(1): 26-28.