

棒状杆菌 ps1 产生广谱抗真菌活性物质的初步研究^{*}

刘 阳, 戴玉容, 谭晓珊, 刘玉焕, 钟英长
(中山大学生命科学学院 // 生物防治国家重点实验室, 广东 广州 510275)

摘 要: 棒状杆菌 ps1 能产生广谱抗真菌活性物质, 对其活性物质的抗菌谱、产生条件和部分特性进行了初步研究。棒状杆菌 ps1 产生的活性物质 psch1 对白色念珠菌、丝核菌、镰刀菌等多种真菌均有强烈抑制作用, 并具有良好选择性。活性物质 psch1 耐热性好, pH 改变对其活性影响较明显, 酸性环境有利于其稳定但在碱性条件下容易失活。

关键词: 抗真菌; 棒状杆菌

中图分类号: Q935 文献标识码: A 文章编号: 0529-6579 (2003) 03-0120-02

近年来, 随着 AIDS 和外科手术后等免疫受损病人的增加, 真菌引起的深部感染病例也不断的增加^[1,2]。抗真菌药物是治疗真菌病的必要手段, 现有的抗真菌药物大多有抑菌活性而不能杀菌, 且具有不同程度的毒副作用, 常用的抗真菌药物中两性霉素肾毒副作用大, 咪唑类药物易产生抗药性^[3], 临床上真菌的耐药性已成为目前最严峻的问题。因此寻找新的抗真菌药物已成为药物开发的热点。此外植物病原菌对农业生产造成巨大损失, 农用抗真菌抗生素也具有巨大的经济效益。

本论文报道一株能产生广谱抗真菌活性物质的棒状杆菌, 对其活性物质的抗菌谱、产生条件和部分特性做初步研究的结果。我们分离到的菌株 ps1 是首次报道的能产生抗真菌活性物质的棒状杆菌, 其产生的抗真菌活性物质具有广谱性和选择性, 具有重要研究价值。

1 菌种和培养基

供 试 真 菌: *Candida albican*, *Verticillum alboatrum*, *Fusarium* spp., *Rhodotomila rubra*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus ficuum*, *Rhixoctonia solaai* 和 *Trichoderma viride* 均由本实验室保存。

产抗生素培养基 (w/%) : 蛋白胨 1, 酵母粉 0.1, 牛肉膏浸液 0.5, 淀粉 1.5。

2 方法与结果

2.1 菌株 ps1 抗菌谱实验 挑单菌落接入产抗生素培养基, 30 ℃、150 r/min 培养 48 h, 吸取 1.5 mL 于 12 000 r/min 离心 5 min。上清液用于体外抑菌试验, 采用琼脂扩散法。在 PDA 的平板中央接

入供试真菌 (见菌种与培养基), 28 ℃培养 24~48 h。等菌丝生长出小圈后, 在圈外用灭过菌的打孔器对称打 3 个孔, 用无菌镊子夹灭过菌的圆滤纸片, 每张纸片上小心加入不同浓度 ps1 培养物上清液, 第 3 个孔加入灭菌培养基作对照。室温下培养 24~48 h, 观察记录抑菌圈大小。结果表明, 菌株 ps1 产生的活性物质对供试真菌均有不同程度的抑制作用 (表 1)。

表 1 ps1 对各种真菌的抑制作用¹⁾
Tab 1 Inhibition activity of cultured broth of strains ps1 against some fungi

供试真菌	抑制作用	供试真菌	抑制作用
丝核菌	++	镰刀菌	+++
绿色木霉	++	黄萎轮枝霉	+++
黑曲霉	++	黄曲霉	++
白色念珠菌	++	黑根霉	++
深红酵母	+		

1) + : 有抑制作用; ++ : 有较强抑制作用; +++ : 有强烈抑制作用

2.2 培养时间对产活性物质 psch1 的影响 将菌株 ps1 接入产抗生素培养基, 在不同时间取菌液离心后用上清液进行抑菌谱实验, 测定培养时间对产活性物质的影响, 结果表明在培养 12h 后开始产生抗真菌活性物质, 32 h 达到最高峰。

2.3 温度、pH 值对 psch1 活性的影响

测定 psch1 在温度分别为 50.0, 60.0, 70.0, 80.0, 90.0, 100.0, 121.0 ℃下的活性, 结果表明 psch1 耐热性好, 100 ℃处理 30 min 不影响其活性, 121 ℃处理 30 min 仅丧失 35% 的活性; 用 pH 值分

^{*} 收稿日期: 2003-01-03
基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (001214)
作者简介: 刘阳 (1975 年生), 女, 博士生; 通讯联系人: 刘玉焕, E-mail: ls101@zsu.edu.cn
©1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

别为 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 9.5, 10.0, 11.0 的磷酸缓冲液处理 psch1, 发现 psch1 在酸性环境中极为稳定, 在碱性环境中容易失活, pH 值为 10.0 时 (处理 20 min) 活性保留 47%。

3 结 论

产生广谱抗真菌活性物质的菌株 ps1, 初步鉴定为 *Corynebacterium* spp., 是首次发现能在棒状杆菌属中产生抗真菌活性物质的菌株。菌株 ps1 产生的活性物质耐热性好, 在酸性条件下稳定, 对多种病原菌和植物病原真菌有较强抑制作用, 具有应用潜力和研究价值。下一步将进行活性物质 psch1 的

分离纯化以及抗真菌机理的研究, 为以后应用打下基础。

参考文献:

[1] DOMINIQUE S. Integrated antifungal drug discovery in *Candida albicans* [J] . Nature Biotechnology, 2001, 19: 212—213.

[2] DIDOMENICO B. Novel antifungal drugs [J] . Current Opinion in Microbiology, 1999, 2(5): 509—515.

[3] 盛春泉, 季海涛. 新型抗真菌药物的研究进展综述 [J] . 国外医学药学分册, 2001, 124: 78—94.

An Antifungal Compound Produced by *Corynebacterium* spp.

LIU Yang, DAI Yu rong, TAN Xiao-shan, LIU Yu-huan, ZHONG Ying-chang

(The School of Life Sciences //State Key Laboratory for Biocontrol, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: A bacterium which produced antifungal compound from cultured broth was isolated from the intestinal tract of an insect. The organism was initially identified as *Corynebacterium* spp. The compound has broad spectrum of antifungal activities. It is effective against *Candida albican*, *Verticillium alboatrum*, *Fusarium* spp., *Rhodotorula rubra*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus ficuum*, *Rhixoctonia solaii* and *Trichoderma viride*. It is stable at high temperature. After treatment at 121 °C for 30 min only 35% of the total activity is lost. However, pH has profound effect on the activity. It is stable in acidic conditions and unstable in alkaline conditions.

Key words: antifungal; *Corynebacterium*