

诱发人眼角膜溃疡的一种镰刀菌的鉴定

閔幼农 俞大敏

(北京农业大学植物保护系普通微生物学教研组, 北京)

北京医学院孙鹤龄大夫等曾自患眼角膜溃疡的病人分离得一种镰刀菌并证知该菌确实是病原菌。在国外所报导诱发眼角膜溃疡的镰刀菌都是 *Fusarium oxysporum*, 而这个菌种, 经过作者鉴定为 *Fusarium solani*。根据该菌的寄生或形态及生理特性, 鉴定为一个新小种, 命名为 *Fusarium solani* (*sensu* Snyder et Hansen) f. *keratitis*. n. f.。本文详细描述了该菌种的形态和生理特性。该病的临床和病理记录以及防治措施由孙大夫等另行报告。

北京医学院第一附属医院孙鹤龄、王端礼和周祖德大夫等自患眼角膜溃疡的病人重复地分离得镰刀菌, 同时也进行了豚鼠接种等试验, 均证明该菌确系引起角膜溃疡的病原菌。

患者当时病情已较重, 在经过一般治疗无效情况下, 起初准备进行眼球摘出术, 后发现大蒜对该镰刀菌有强烈的抑制作用, 随即用口服及眼部滴大蒜汁治疗, 效果很好, 不久痊愈。关于该镰刀菌在患处的分布、症状及临床治疗等的详细情况, 将另有专门报导(中华眼科杂志, 待刊)。

本文将报导该菌的形态和培养特性, 并提出鉴定的学名。

以往记录

关于镰刀菌所诱发的眼角膜溃疡国内外曾有报导。1957年鞠明诚和杨湘娟^[1]在青岛曾报告由镰刀菌所引起的角膜溃疡一例, 病原菌定为镰刀菌, 但未定学名, 根据原文记载这菌在沙伯氏培养基上 22℃ 条件下培养, 菌落呈白色天鹅绒样, 表面无皱折, 背面呈桔黄色, 显微镜检查菌丝生出许多侧枝, 每一侧枝顶端各有大孢子一组, 数

目 7—22 个, 孢子形似纺锤或稍弯曲似皂荚状, 也有为卵圆形者, 孢子宽 3.85 微米, 长短不一, 7.70—15.40 微米, 短者无隔, 长者 1 或 3 隔。

同年 Sigtenhorst 和 Gingrich^[2]在美国报导诱发眼角膜溃疡的镰刀菌和帚霉菌 (*Scopulariopsis*), 他们仅分离、培养和鉴定为镰刀菌属, 但未曾鉴定其种名。

1958 年 Mikami 和 Stemmermann^[3]报导一菲律宾病人, 由于被乳牛尾巴击伤右眼后, 发生眼角膜溃疡。他们在五次分离中, 两次没有任何细菌或真菌生长而其他三次均分离得镰刀菌, 并在溃疡组织内看到有菌丝存在。这种菌根据 Snyder 和 Hansen^[4] 的镰刀菌分类系统定名为 *Fusarium oxysporum*, 产生许多镰刀状和纺锤状, 无色透明的大型分生孢子。孢子聚生成簇。成熟的孢子有 4—7 个分隔和其体积为 $30-70 \times 4-10$ 微米。菌体产生许多粘分生孢子团。偶尔看到有卵圆形的小型分生孢子 ($6-9 \times 3-5$ 微米)。

此菌在沙伯氏培养基上室温下生长迅

本文 1965 年 2 月 13 日收到。

速。菌落呈羊毛状,露霉状并扩展,开始为白色,其后菌四周变黄褐色,中央隆起,灰色和颗粒状。培养皿的腹面有稍带橙黄-黄色的色素。这些色素以后变为棕灰色。菌丝有分隔和分枝,无色透明,直径2—4微米,老熟后3—6微米。厚壁孢子菌丝间生。菌在室温下培养,所形成的菌落较大和产生很多羊毛状的气生菌丝;而在37℃下培养,所形成的菌落较小,呈颗粒状,仅产生少量的气生菌丝。菌在血液培养基上37℃下生长相当慢,黄褐色,很少菌丝生长,呈现 β 型溶血作用。菌落稍呈颗粒状,中央仅稍隆起,向四周逐渐平坦。在培养液内,菌生长如蛛状凝絮,一部分凝絮浮在培养液表面,并产生大量气生菌丝,而另一部分凝絮沉落到管底。

材 料 和 方 法

菌种为北京医学院第一附属医院孙鹤龄大夫等自患眼角膜溃疡的病人所分离得的镰刀菌。

培养菌的培养基和鉴定菌种的方法,见前一报导^[5]。

实 验 结 果

一、培养特性

马铃薯块斜面培养基:

培养一个月,菌丝呈棉绒状,白色。有0.5毫米宽的菌丝组织(plectenchyma)所构成的军棕色(Army brown)^[6]及骨棕色(Bone brown)条纹,沿着条纹两边产生许多乳酪米色(Cream buff)及灰蓝绿色(Grayish blue-green)的分生孢子座,聚合成条纹。在斜面处产生许多弹筒米色(Cartridge buff),直径约0.5毫米的分生孢子座,聚合成片;间有直径约2毫米左右的分生孢子座,灰蓝绿色(实际是成团的孢子和子座渗混在一起的颜色)。未产生菌核。正常产生小型分生孢子。

燕麦洋菜培养基:

(1)斜面上 培养一个月。菌丝生长茂盛,呈白色棉绒状,或在较稀少的气生菌丝上长出许多弹筒米色,直径在0.5毫米左右的分生孢子座,聚合成片。斜面的腹面呈葡萄酒肉桂色(Vinaceous cinnamon)^[7]。下部为黑色。

(2)平板上 培养一个月。平板正面,在菌落中央有直径约0.5毫米左右,乳酪米色的分生孢子座,聚合成大片,其外环绕有基内菌丝,乌贼绿褐(sepia)至黑色,宽约1毫米左右的环。再向外为白色气生菌丝。最外边又为乌贼绿褐至黑色,无气生菌丝,只有基内菌丝的区带。平板背面呈葡萄酒肉桂色到橙-肉桂色(orange-cinnamon),色上有一黑色圈,最外边为黑色。

大量产生小型分生孢子。

马铃薯2%葡萄糖洋菜培养基:

培养一个月。

(1)斜面上 形成海绿-灰色(Glaucus-Gray)的粘性分生孢子团,几乎很少气生菌丝。

(2)平板上 在白色稀绒状菌丝上有直径约0.5毫米弹筒米色的分生孢子座。菌落背面呈延命菊黄色(Marguerite yellow),间有樱草黄色(Primrose yellow)斑点。正常产生小型分生孢子。无菌核。

马铃薯5%葡萄糖洋菜培养基:

培养一个月。

(1)斜面上 菌丝呈稀棉绒状,白色。有直径约0.1—0.5毫米的弹筒米色的分生孢子座。背面呈浓绿黄-绿色(Vetiver-green)及臆羚皮色(Chamois)。大量产生小型分生孢子。无菌核。

(2)平板上 菌落表现有扇状分离。一部分菌丝型呈稀棉绒状,白色,在气生菌

1) 指基内菌丝的颜色,没有可渗入培养基内的色素。

丝上长有直径约 0.1—0.5 毫米的弹筒米色的分生孢子座。另一部分为产生浓绿黄-绿色 (Vetiver-green) 的粘性分生孢子团区。

蒸米培养基:

培养一个月, 气生菌丝呈白色, 米粒边缘呈葡萄酒-米色 (Vinaceous-buff), 米粒内呈赤褐-葡萄酒色 (Russet-vinaceous)。在米粒间形成许多直径为 2 毫米的分生孢子座, 成团的孢子和子座混在一起呈灰蓝绿色。无菌核。

苜蓿茎:

培养一个月, 菌丝为棉绒状, 白色。形成许多直径约 0.5 毫米的分生孢子座, 弹筒米色、海绿-灰色到灰蓝绿色。产生小型分生孢子。无菌核。

三叶草茎:

气生菌丝棉绒状白色。培养一个月的菌形成许多直径约 0.5—2 毫米的弹筒米色和灰蓝绿色分生孢子座。产生小型分生孢子。无菌核。

槐茎:

菌丝呈棉绒状, 白色。培养半月的菌即产生大量的分生孢子座, 直径为 0.5—2 毫米, 弹筒米色, 乳酪米色和海绿-灰色。培养一月后, 菌丝为生长茂盛的次生菌丝所掩盖。产生小型分生孢子。无菌核。

玉米洋菜培养基:

培养一个月, 气生菌丝稀薄, 短羊毛状, 很透明, 白色。产生许多直径约 0.5 毫米弹筒米色的分生孢子座。培养基无色。产生小型分生孢子。无菌核。

沙伯氏培养基 (Sabouraud's dextrose agar):

在室温 (24—26℃ 左右) 下培养 4 天, 菌落直径约 3.5 厘米。菌丝茂盛, 绒状, 白色。背面呈淡米色 (Colonial buff), 边缘呈橄榄-黄褐色 (Olive-ocher)。

在 37℃ 下培养 4 天后, 菌落直径约

3.0 厘米。菌丝棉-粉状, 白色。培养基背面呈蜜黄色 (Honey yellow)。

血液培养基:

在室温下 (24—26℃ 左右) 培养 5 天, 菌落直径约 4 厘米, 菌丝棉绒状, 白色。培养基背面呈木棕色 (Wood brown), 边缘呈葡萄紫-米色。表现 β 型溶血反应。

在 37℃ 下培养 5 天, 菌落直径约 3.3 厘米, 菌丝紧密, 棉绒状, 白色。培养基背面中心呈暗紫罗兰色 (Dusky dull violet), 其余部分呈淡黄褐色 (Fawn color)。表现 β 型溶血反应。

二、各型孢子的大小

(一) 从不同培养基所形成的分生孢子座或粘性分生孢子团上所取下的大型分生孢子的隔数、长度和宽度核计如下:

马铃薯块斜面培养基 从培养 20 天所形成的分生孢子座上取下的大型分生孢子:

1-隔孢子, 6%, 22.1—27.0 \times 6.4—6.6 (23.8 \times 6.6) 微米

2-隔孢子, 12%, 27.0—34.3 \times 6.4—6.6 (30.9 \times 6.6) 微米

3-隔孢子, 68%, 31.9—41.7 \times 6.4—7.4 (36.5 \times 6.6) 微米

4-隔孢子, 14%, 39.2—49.3 \times 6.4—7.4 (40.2 \times 6.6) 微米

燕麦洋菜培养基 培养 30 天, 自分生孢子座上取下的大型分生孢子:

1-隔孢子, 8%, 22.1—24.5 \times 5.1—6.1 (23.3 \times 5.7) 微米

2-隔孢子, 4%, 29.4—31.9 \times 5.1—6.1 (29.4 \times 6.1) 微米

3-隔孢子, 84%, 43.3—41.7 \times 5.1—6.1 (37.3 \times 6.1) 微米

4-隔孢子, 4%, 41.7—46.6 \times 5.9—6.1 (45.4 \times 6.1) 微米

马铃薯 2% 葡萄糖洋菜培养基 培养

一个月, 由粘性分生孢子团上取下的大型分生孢子:

1-隔孢子, 15%, $20.9-31.9 \times 6.4-7.4(25.0 \times 6.6)$ 微米

2-隔孢子, 13%, $29.4-39.2 \times 6.4-7.4(34.3 \times 6.6)$ 微米

3-隔孢子, 63%, $31.9-49.0 \times 5.9-7.4(39.5 \times 6.6)$ 微米

4-隔孢子, 9%, $44.1-49.0 \times 6.4-7.4(47.1 \times 6.6)$ 微米

马铃薯 5% 葡萄糖洋菜培养基 培养 20 天, 由分生孢子座上取下的大型孢子:

1-隔孢子, 12%, $23.3-25.4 \times 5.2-6.2(25.3 \times 5.6)$ 微米

2-隔孢子, 8%, $31.4-33.1 \times 5.8-6.2(31.9 \times 6.2)$ 微米

3-隔孢子, 68%, $31.9-45.4 \times 6.1-7.4(37.3 \times 6.2)$ 微米

4-隔孢子, 12%, $41.7-49.0 \times 6.1-7.4(37.3 \times 6.2)$ 微米

蒸米培养基 培养 30 天, 由分生孢子座上所取下的大型分生孢子:

1-隔孢子, 2%, $23.3-29.4 \times 6.4-6.6(26.5 \times 6.6)$ 微米

2-隔孢子, 12%, $29.4-39.2 \times 6.4-6.6(33.8 \times 6.6)$ 微米

3-隔孢子, 73%, $34.3-46.6 \times 6.4-6.6(41.4 \times 6.6)$ 微米

4-隔孢子, 12%, $39.2-47.8 \times 6.4-6.9(42.7 \times 6.6)$ 微米

5-隔孢子, 1%, 49.0×7.4 微米

苜蓿茎 培养 20 天, 由分生孢子座上所取下的大型分生孢子:

2-隔孢子, 7%, $27.0-40.5 \times 6.4-6.9(33.1 \times 6.6)$ 微米

3-隔孢子, 65%, $31.9-49.0 \times 6.4-7.4(40.6 \times 6.9)$ 微米

4-隔孢子, 28%, $39.2-49.0 \times 6.4-$

$6.9(45.1 \times 6.9)$ 微米

三叶草茎 培养 20 天, 由分生孢子座上所取下的大型分生孢子:

1-隔孢子, 2%, $19.6-22.1 \times 6.4-6.6(20.8 \times 6.5)$ 微米

2-隔孢子, 8%, $29.4-34.3 \times 6.4-6.6(31.9 \times 6.5)$ 微米

3-隔孢子, 70%, $31.9-44.1 \times 6.1-7.4(37.8 \times 6.5)$ 微米

4-隔孢子, 2%, $36.8-40.5 \times 6.4-7.4(39.2 \times 6.6)$ 微米

槐茎 培养 20 天, 由分生孢子座上取下的大型分生孢子:

1-隔孢子, 1%, 24.5×6.1 微米

2-隔孢子, 1%, 28.2×6.2 微米

3-隔孢子, 89%, $39.2-49.0 \times 6.1-7.8(45.9 \times 6.9)$ 微米

4-隔孢子, 9%, $47.8-53.9 \times 6.9-7.4(50.3 \times 6.9)$ 微米

玉米洋菜培养基 培养 20 天, 由分生孢子座上取下的大型分生孢子:

1-隔孢子, 8%, $25.4-29.4 \times 5.4-6.4(27.7 \times 5.9)$ 微米

2-隔孢子, 8%, $31.9-41.7 \times 5.4-6.4(36.8 \times 6.4)$ 微米

3-隔孢子, 56%, $36.8-46.6 \times 5.9-6.4(40.2 \times 6.4)$ 微米

4-隔孢子, 28%, $44.1-53.9 \times 5.9-6.6(47.6 \times 6.4)$ 微米

不同培养基上大型分生孢子长度和宽度的限度以及其平均数字如下:

1-隔孢子, 6.4%, $19.6-31.9 \times 6.4-7.4(24.1 \times 6.3)$ 微米

2-隔孢子, 8.8%, $27.0-41.7 \times 6.4-7.4(32.8 \times 6.5)$ 微米

3-隔孢子, 72.3%, $31.9-49.0 \times 6.1-7.4(39.8 \times 6.5)$ 微米

4-隔孢子, 12.3%, $36.8-53.9 \times 6.4-$

7.4(43.2 × 6.5) 微米

5-隔孢子, 0.2%, 49.0 × 7.4 微米

(二) 从气生菌丝上所取下的大型分生孢子的隔数, 长度和宽度的核计:

1-隔孢子, 27.6%, 17.2—27.0 × 4.9—6.4(24.4 × 5.6) 微米

2-隔孢子, 20.7%, 27.0—35.6 × 4.9—6.4(32.6 × 5.6) 微米

3-隔孢子, 51.7%, 29.4—40.5 × 4.9—7.4(34.1 × 5.9) 微米

(三) 小型分生孢子的隔数, 长度和宽度的核计:

0-隔孢子, 74%, 7.4—17.2 × 4.7—6.9(12.0 × 5.6) 微米

1-隔孢子, 26%, 13.5—22.1 × 4.7—6.9(16.7 × 6.1) 微米

(四) 厚壁孢子的细胞数目、长度和宽度的核计:

一个细胞, 80%, 7.4—17.2 × 7.4—17.2(11.1 × 9.7) 微米

两个细胞, 20%, 14.7—17.2 × 7.6—9.8(15.9 × 8.6) 微米

三、形态特征

气生菌丝白色, 基内菌丝颜色因培养基而不同。小型分生孢子长椭圆形、卵圆形或肾形(图 1), 聚合成头状, 着生在气生菌丝所伸出的不分枝或分枝很少的分生孢子梗上(图 2), 大量产生, 多数为一个细胞 7.4—17.2 × 4.7—6.9(12.0 × 5.9) 微米, 少数为两个细胞。大型分生孢子腊肠形(图 3), 两端对称的稍微弯曲和比较突然的狭窄, 端部钝圆或有短喙, 没有足细胞。细胞壁较厚, 分隔清楚, 1—5 个分隔, 19.6—53.9 × 6.1—7.4 微米; 其中以三个分隔的孢子为数最多, 约占 72.3%, 31.9—49.0 × 6.1—7.4(39.8 × 6.5) 微米; 孢子成团时呈弹筒米色和乳酪米色, 常常和子座渗混在一起呈海绿-灰色和灰蓝绿色; 散生在气生

菌丝上, 着生在分生孢子座或粘性分生孢子团中。分生孢子梗在初期分枝较少, 后期大量繁复分枝。厚壁孢子菌丝顶生或菌丝间生, 表面光滑或粗糙, 单细胞的占多数, 约 80%, 菌丝顶生的单细胞厚壁孢子大都呈圆形, 菌丝间生的大都呈椭圆形; 双细胞的较少, 呈链球形, 浅色(图 4)。不产生菌核。

讨 论

鞠明诚和杨湘娟^[1], Sigtenhort 和 Gingrith^[2] 以及 Mikami 和 Stemmermann^[3] 先后报导了诱起眼睛角膜溃疡的病原镰刀菌。前面两篇报告仅鉴定病原菌为镰刀菌属的一个菌种, 未鉴定其学名。后者鉴定病原菌为 *Fusarium oxysporum*。但 Mikami 和 Stemmermann^[3] 有关菌种的形态和培养特性的记载均相当简单, 同时也没附大型分生孢子的插图, 因此难以完全认识该菌的形态实质。

本文所报导的眼角膜溃疡镰刀菌, 其大型分生孢子的两端多少是突然狭窄, 很少是逐渐狭窄的; 孢子顶端钝圆形或有短喙, 基部一般没有足细胞; 孢子壁和分隔膜均比较厚和明显; 聚集成团的大型分生孢子呈弹筒米色和乳酪米色; 分生孢子座常渗和有子座的颜色, 呈海绿灰色和灰蓝绿色。这些形态和培养特性指明这个菌是 *F. solani*, 当然和 Mikami^[3] 等所报导的 *F. oxysporum* 不是一个菌种。由于 Snyder 和 Hansen^[4] 所规定的 *F. solani* 是一种群体菌种, 且本文所报导的 *F. solani* 是眼角膜溃疡的病原菌, 为明确起见, 将该菌命名为 *F. solani* 的一个新的小种: *Fusarium solani* (*sensu* Snyder & Hansen) f. **keratitis** n. f. Mikami 和 Stemmermann^[3] 所报导的 *Fusarium oxysporum* 和本文所报导的 *F. solani* f. **keratitis** 在培养特性方面也不相

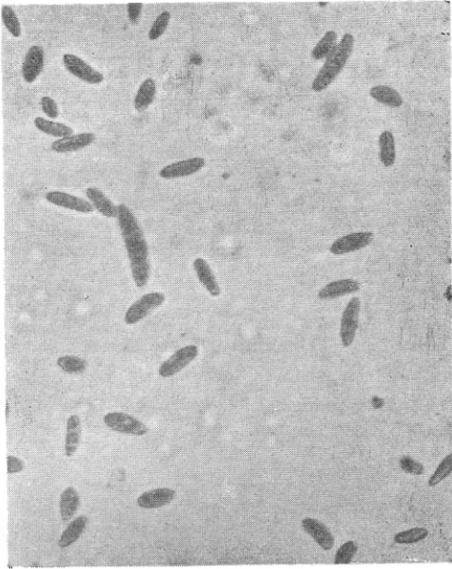


图 1 小型分生孢子

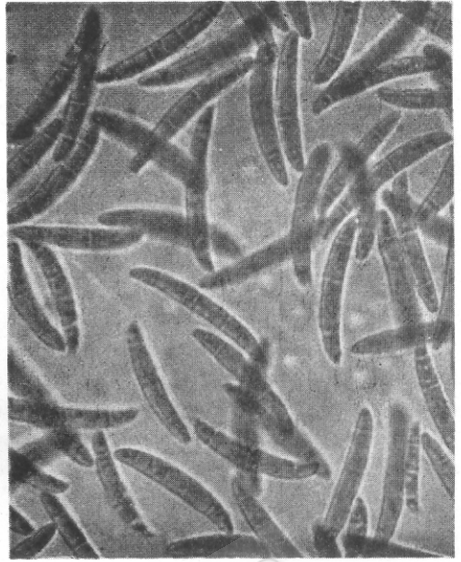


图 3 大型分生孢子

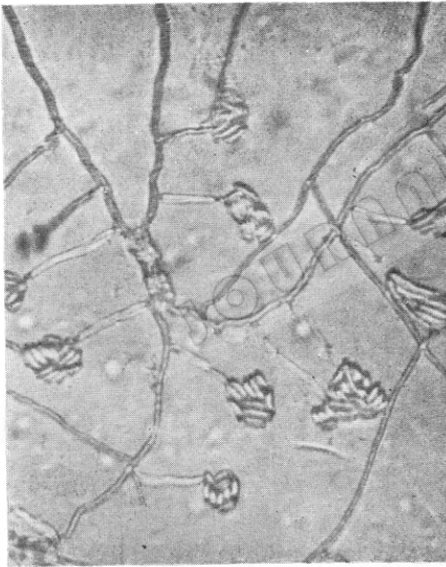


图 2 聚生如球状的小型分生孢子

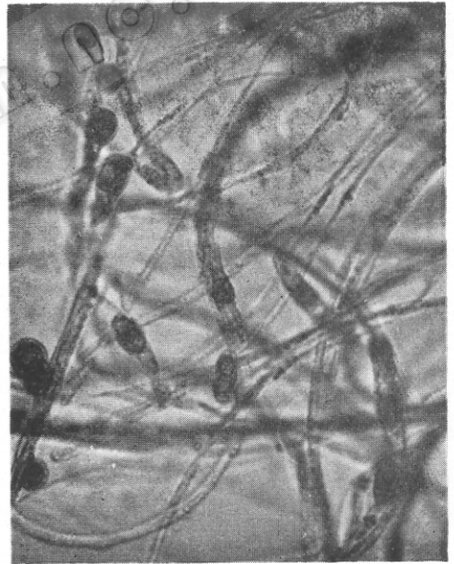


图 4 厚壁孢子

同。*F. solani* f. *keratitis* 在培养皿腹面不产生色素；在 37℃ 和在室温下菌落的外观和大小无甚差别，在血液培养基上的培养特性以及生长速度和 *F. oxysporum* 也不相同，仅溶血作用类型相同，都是 β 型的。

参 考 文 献

[1] 鞠明诚、杨湘娟：中华眼科杂志，4:310—312，

1957。
[2] Sigtenhorst, M. L. and Gingrich, E. D.: *South. Med. J.*, 50:346—350, 1957.
[3] Mikami, R. and Stemmermann, G. N.: *Amer. J. Clin. Path.*, 29:257—262, 1957.
[4] Snyder, W. C. and Hansen, H. N.: *Amer. J. Bot.*, 28:738—742, 1941.
[5] 闵幼农、俞大綬：微生物学报，10:409—416，1964。
[6] Ridgway, M. S.: *Color Standards and Color Nomenclature*, Washington, D. C. 1912.

IDENTIFICATION OF A *FUSARIUM* SPECIES, ISOLATED FROM CORNEAL ULCER

MING YOW-NUNG AND YU TA-FUH

(Division of General Microbiology, Department of Plant Protection, Peking
Agricultural University, Peking)

This paper deals with a *Fusarium* species isolated from human corneal ulcer by H. L. Sheng and his co-workers of Peking Medical College, Peking. The fungus is identified as *Fusarium solani* and, on account of its pathogenic nature, a new form

is accordingly proposed: *Fusarium solani* (*sensu* Snyder and Hansen) f. ***keratitis*** n. f.

The morphological and cultural characters of this fungus are fully described.