

## 食管癌高发区林县井头村玉米样品的真菌区系分析

王颖\* 朱彤霞

(中国农业大学生物学院, 北京 100094)

**摘要** 经1994—1996连续3年调查食管癌高发区林县井头村口粮玉米样品的真菌区系发现,镰刀菌属、青霉属、交链孢霉属、芽枝霉属、曲霉属及毛霉属是当地常见的玉米污染真菌类群。其中镰刀菌属真菌的污染最为严重,并以串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme*)和*F. proliferatum*为主。3年间,口粮玉米中镰刀菌属的污染程度虽有逐年下降的趋势,但其污染水平在常见的真菌中为最高(>50%),且贮藏过程进一步加重了镰刀菌对玉米的污染。此外,通过病区和对照区北京的比较还发现,两地间玉米样品的真菌区系分析差异不显著。

**关键词** 食管癌;真菌区系分析;镰刀菌

**中图分类号** Q93-3-331

## Mycoflora Analysis in Staple Corn from Linxian Jingtoucun with High Incidence of Esophageal Cancer

Wang Ying Zhu Tongxia

(College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

**Abstract** From 1994 to 1996, investigation was carried out on mycoflora in staple corn from Linxian County Jingtoucun with high incidence of esophageal cancer. Results showed that *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus* and *Mucor* were the common fungi. It was *Fusarium* that heavily contaminated in corn and *F. moniliforme* as well as *F. proliferatum* was the predominant species. In this three years the contaminated rate of *Fusarium* decreased year by year. However, its contaminated level was the highest one among the common fungi groups, and the store made contamination of the *Fusarium* more heavier in staple corn. It was also found that the difference between Jingtoucun and Beijing was not statistically significant.

**Key words** esophageal cancer; mycoflora analysis; *Fusarium*

河南省林县是国内外公认的食管癌高发区之一,多年来对当地食管癌病因的研究已涉及到气候、地域环境、矿质元素、水源、居民饮食习惯、营养状况及遗传因素等多领域。曾有报道,发霉食物可能与食管癌有关,后通过诱癌实验证实,串珠镰刀菌的培养物可诱发大鼠食管上皮增生<sup>[1]</sup>。进一步研究培养物中致癌物质的性质,只发现它是一种耐热物质<sup>[2]</sup>。还有文献指出,林县食管癌的高发病率和高死亡率可能与某种致癌物质有关,这种致癌物质相对恒定,不受或很少受人类社会生活活动的影响<sup>[3]</sup>。由于食管癌属多病因诱发的地方性疾病,生物学致病因子可能是其诱病因素之一,因此深入研究生物学致病因子对该病的作用必然具有重要意义。

收稿日期: 2001-05-10

\* 王颖, 讲师, 研究方向为应用微生物发酵工程。

井头村是林县食管癌高发区之一,当地居民早晚均以玉米为主食。据1995年村卫生所统计,其食管癌的发病率达到0.08%。此前虽有人对林县玉米进行过分析研究,但能够连续几年跟踪调查当地玉米口粮中真菌污染状况的研究却无报道。本研究报告了连续3年采集井头村口粮玉米样品进行真菌污染调查的情况。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

根据随机取样的原则<sup>[5]</sup>,连续3年采集食管癌高发区林县井头村农户家中的口粮玉米样品。其中当年的新鲜口粮玉米包括1995年12份,1996年33份;贮存的口粮玉米包括1995年11份,1996年7份;1995年发霉玉米穗6份。在新鲜玉米样品中共有24份分别来自于13户同源户,即连续2年样品的采集来自同一户。以北京市海淀区东北旺乡玉米样品为对照,共采集1996年样品12份。

真菌区系分析选用高盐察氏培养基,真菌鉴定分别选用察氏培养基、马铃薯培养基(PDA)、香石竹叶培养基(CLA)及氯化钾培养基等<sup>[4]</sup>。

### 1.2 方法

**1.2.1 真菌区系分析** 根据《食品卫生微生物检验标准手册》<sup>[5]</sup>中霉菌计数标准检验方法和粒状粮食霉菌检验方法。

**1.2.2 真菌鉴定** 将不同形态镰刀菌分别接种到PDA,CLA及KCL培养基上进行培养、观察,依据Nelson系统<sup>[4]</sup>,根据厚垣孢子及分生孢子的有无、大小、形态、着生方式和分生孢子梗的形态、类型等特征进行种的鉴定。根据文献<sup>[6~8]</sup>将其他真菌鉴定到属。

## 2 结果与讨论

### 2.1 1995—1996年林县井头村玉米样品的真菌区系分析结果(表1)

表1 1995—1996年林县井头村玉米样品真菌侵染率分析

样 品			<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Mucor</i>	<i>Cladosporium</i>	%
1995年	口粮玉米	新鲜	85.0	0.4	16.1	1.9	—	—	
		贮存	96.6	0.8	1.5	0.1	0.01	—	
1996年	口粮玉米	新鲜	34.1	23.1	0.5	0.3	5.5	35.9	
		贮存	56.1	7.2	1.6	—	10.6	19.9	
1995年	霉玉米		91.8	9.7	5.2	—	0.03	—	

2年间井头村口粮玉米的带菌量大多在 $10^2 \sim 10^6$  cfu·g<sup>-1</sup>范围,高出正常粮食带菌量标准( $10^2 \sim 10^3$  cfu·g<sup>-1</sup>)<sup>[9]</sup>近10~100倍,说明井头村口粮玉米受霉菌污染严重。通过区系分析发现镰刀菌属、青霉属、交链孢霉属、芽枝霉属、曲霉属及毛霉属是井头村玉米样品中常见的真菌类群,其中尤以镰刀菌属和青霉属最为常见,但镰刀菌是污染程度最严重的真菌菌群。1996年芽枝霉污染加重的情况可能与当年降雨量显著增多有关,因为1996年井头村地区发生过严重

的洪涝灾害。

比较新鲜和贮存样品可以发现,在贮存过程中几种常见真菌类群的污染程度均明显下降;而镰刀菌的污染程度则有上升趋势,说明贮存过程加重了镰刀菌属的污染程度。在霉玉米穗样品中,镰刀菌属也是最具优势的污染真菌。这些结果均表明井头村玉米受霉菌污染较为严重,其中镰刀菌属的污染最具优势,并以串珠镰刀菌(*F. moniliforme*)和 *F. proliferatum* 为主,而这 2 种镰刀菌均是镰刀菌毒素腐马素  $FB_1$  的主要产生菌。

## 2.2 1994—1996 年同源户玉米样品的区系分析结果比较(表 2)

表 2 1994—1996 年林县井头村 13 户同户玉米样品的真菌区系比较(检出率) %

农户 编号	1994				1995				1996			
	<i>Alt.</i>	<i>Clad.</i>	<i>Fus.</i>	<i>Pen.</i>	<i>Alt.</i>	<i>Asp.</i>	<i>Fus.</i>	<i>Pen.</i>	<i>Clad.</i>	<i>Fus.</i>	<i>Muc.</i>	<i>Pen.</i>
01	—	—	50.0	50.0	—	—	100	—	21.1	79.9	—	—
02	—	5.6	69.4	25.0	15.0	15.0	33.0	37.0	23.5	35.3	39.7	1.5
03	—	1.8	98.2	—	—	—	96.0	4.0	7.1	29.8	3.6	59.5
04	—	—	—	—	67.0	17.0	8.0	8.0	1.3	97.9	—	0.8
05	1.5	3.0	28.8	66.7	—	—	90.0	10.0	37.5	—	—	62.5
06	—	—	—	—	—	—	100	—	—	100	—	—
07	—	—	—	—	63.0	25.0	6.0	6.0	23.2	7.3	54.9	14.6
08	—	—	—	—	—	—	84.0	16.0	100	—	—	—
09	—	—	100	—	100	—	—	—	94.1	1.2	1.2	3.6
10	—	—	—	—	50.0	6.0	44.0	—	32.3	3.2	—	59.7
11	—	—	—	—	—	70.0	30.0	—	3.3	85.0	1.7	8.3
12	—	—	—	—	—	—	—	—	3.8	25.0	65.2	5.8
13	—	45.0	25.0	30.0	—	—	—	—	55.4	—	—	44.6
侵染率	0.003	2.0	97.4	0.7	12.7	1.8	85.1	0.4	22.0	53.4	6.8	18.9

注:另外,1996 年 10 号样品中曲霉属占 3.2%,11 号样品中曲霉属和交链孢霉属各占 0.8%。

1994—1996 年 3 年中井头村同源户口粮玉米的带菌量变化趋势不连续,其中以 1995 年为最低( $\text{cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ 在  $10^2\sim 10^5$  范围),而 1994 和 1996 两年则多在  $10^3\sim 10^6$  范围,推测这种现象可能与 1995 年当地的气候条件较为干燥有关。3 年中,曲霉属的污染没有明显变化且维持在较低水平;交链孢霉属的污染变化不连续,却以 1995 年为最高;青霉属、芽枝霉属及毛霉属的污染程度虽有逐年升高之势,但其污染水平均较低,最高不超过 20%;而镰刀菌属的污染虽有逐年下降的趋势,但其污染率始终高于 50%,远远超过其他各属真菌,成为井头村同源户玉米样品中最具污染优势的真菌类群。

## 2.3 1996 年病区和对照区间真菌区系分析结果比较(表 3)

1996 年林县井头村和北京两地玉米样品的带菌量水平相近, $\text{cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ 均在  $10^3\sim 10^6$  范围,说明其间差异不显著。两地间除毛霉属和青霉属的检出率差异显著外,其余各属真菌的检出率和污染率均无显著差异。相同的是 1996 年两地玉米样品均以镰刀菌属和芽枝霉属的检出率为最高,而污染程度都以镰刀菌属居绝对优势,其中以串珠镰刀菌对玉米的侵染最为严重。说明在食管癌高、低发区间不存在真菌区系的显著差异。

表3 1996年10月林县井头村和北京地区玉米样品检出率(%)和侵染率(%)比较

检出真菌	林县井头村		北京		$P_{\text{检出率}}$	$P_{\text{侵染率}}$
	检出率(%)	侵染率(%)	检出率(%)	侵染率(%)		
<i>Alternaria</i>	18.2	0.5	25.0	0.6	>0.05	>0.05
<i>Aspergillus</i>	15.2	0.3	8.3	0.4	>0.05	>0.05
<i>Cladosporium</i>	93.0	35.9	91.7	10.5	>0.05	>0.05
<i>Mucor</i>	54.5	5.5	16.7	0.3	<0.05	>0.05
<i>Penicillium</i>	90.9	23.1	58.3	22.9	<0.05	>0.05
Yeast	—	—	33.3	11.0		
<i>Fusarium</i>	75.8	34.1	91.7	55.5	>0.05	>0.05
<i>F. moniliforme</i>	72.7	78.1	83.3	96.2	>0.05	>0.05
<i>F. proliferatum</i>	33.3	21.8	33.3	3.8	>0.05	>0.05
<i>F. graminearum</i>	3.0	0.01	—	—		
<i>F. subglutinans</i>	6.0	1.2	—	—		

综上所述,经过1994—1996连续3年对林县井头村口粮玉米的真菌区系分析发现,镰刀菌属是当地玉米中最具污染优势的真菌类群,其中尤以串珠镰刀菌的侵染最为严重。而串珠镰刀菌是产生镰刀菌毒素腐马素(fumonisin)主要菌株之一。已有研究表明在南非 Transkei 地区,腐马素在玉米中的污染水平与食管癌高发率之间存在着统计相关性<sup>[10,11]</sup>,那么林县井头村是否也存在类似情况呢? 还需进一步针对这些镰刀菌的产毒能力加以研究。

本研究中1994年数据引自陈鹏的部分工作。

### 参 考 文 献

- 1 食管癌病因研究组. 霉菌与肿瘤关系的研究. 林县食管癌防治研究(内部资料),1977,(2):37~40
- 2 食管癌病因研究组. 霉菌与肿瘤关系的研究. 林县食管癌防治研究(内部资料),1977,(2):32~36
- 3 刘金明等. 林县恶性肿瘤及其它死因分析,林县食管癌防治研究(内部资料),1982,(1):1~5
- 4 Nelson P E, Toussoun T A, Marasas W F O. *Fusarium* Species-An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University Press,1983
- 5 罗雪云主编. 食品卫生微生物检验标准手册. 北京:中国标准出版社,1995
- 6 Pitt J I. The Genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. New York: Academic Press Inc. (London)Ltd,1979
- 7 Raper K B, Fennell D I. The Genus *Aspergillus*. Baltimore: The Williams & Wilkins Company,1965
- 8 魏景超. 真菌鉴定手册. 上海:上海科技出版社,1979
- 9 殷蔚申主编. 粮食微生物学. 郑州:河南科技出版社,1983
- 10 Rheeder J P, Marasas W F O, Thiel P G, et al. *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. *Phytopathology*,1992,82:353~357
- 11 Sydenham E W, Thiel P G, Marasas W F O, et al. Nature occurrence of some *Fusarium* mycotoxins in corn from low and high esophageal cancer prevalence areas of the Transkei, Southern Africa. *J Agric Food Chem*,1990,38:1900~1903