Penicillium 属 Asymmetrica-Fasciculata group 中の *P. ochraceum* 及び *P. carneo-lutescens* の形態及び培養について I

角田 廣・岸 菊子*1・大久保 薫*2・辰野 高司*3・大坪浩一郎*4

H. TSUNODA, K. KISHI*1, K. OKUBO*2, T. TATSUNO*3, and K. OHTSUBO*4:

Morphology and culture of *P. ochraceum* and *P. carneo-lutescens*
in *Penicillium*, *Asymmetrica-Fasciculata* Group. I

1973年より1976年にかけて家畜飼料中毒事故が所々に発生した。すなわち、1973年の事故例は鳥取県日南町周辺の仔牛急死(マイコトキシン, No. 1), 1975年は栃木配合飼料による若ヒナ中毒(マイコトキシン, No. 2), 1976年は埼玉配合飼料での鶏産卵中止(未発表)等の中毒事件が挙げられる。これらの中毒事件の原因をマイコトキシンの面から解明する目的で、各飼料のマイコフローラにつき調査した。

その中で *Penicillium ochraceum* 及び *P. carneo-lutescens* は現今まで貯蔵穀類にあまり見うけないため産生する物質もまた明らかでない関係から毒性試験に着手した。その結果、*P. ochraceum* は菌蓋投与で腎に腫瘍形成を暗示さす像が表われ、40週程度で胃の幽門癌を形成するに至った。*P. carneo-lutescens* はかび米投与で著しい消化器出血を認めたので、この2菌種について菌学、化学、医学的に研究を進めることにした。

菌の分布

P. ochraceum: 本菌は穀類及び家畜の餌に分布している状態及び寄生率などは明らかでないが、圧片麦、虫害米、切藁、玄米、米糠、麩、配合飼料から検出さ

れている。最近市販米及び家庭の餅からも分離されているので、食品上の分布を詳細に調べれば日本人の胃癌との関連性が明確になるものと思われる。

P. carneo-lutescens: 本菌の分布については明らかではない。発育当初は *P. ochraceum* によく似た特徴のため、鳥取の家畜飼料の研究結果では両者混合で表示されている。栃木での若ヒナ中毒飼料では出現数は少ないが分布を示している。この菌の寄生はとうもろこしが主であるようで、米及び餅にはまだ検出されていない。

本菌の分離及び分類

P. ochraceum 及び *P. carneo-lutescens* を寄主から分離するには Czapek-Yeast extract 寒天培地を用いた。

この組成は、KCl 0.5g, MgSO₄ 0.5g, K₂HPO₄ 1.0g, NaNO₃ 2.0g, 粉末酵母エキス 2.0g, ショ糖 50g, 寒天 15~20g, 水 1L である。

試料が粒状のものは粒のままアクロマイシン1×10⁻⁴液に2時間浸し、ペトリ皿平板培地上に5個の検体をおき、かびの発育をまった。粉体は1gを秤取し、アクロマイシン処理を行いその1部を、流しこみ培養して菌分離を行った。

分離結果はマイコトキシン 1, 18 (1975) 表の3, 及び同 2, 28 (1976) 表1の通りである。

P. ochraceum: 培地上での集落は円形、じゅうたん状ゆるやかな環状帯を形成し、grayish blue green の菌そうとなる。裏面は dull yellow の色素を溶出する。形態は *Asymmetrica-Fasciculata* 群に入り、分生子は円形で直径 3.0~3.5μ あり、分生子柄、メトレに突起があるので *P. ochraceum* と同定した。

P. carneo-lutescens: 培地上では周囲に出入の多いじゅうたん状の集落を形成し、明りょうな環状帯を有し、dull green である。裏面は dull reddish orange で

*1 群馬大学教育学部 (〒371 前橋市荒牧)
Gunma University (Aramaki, Maebashi-city, Gunma 371)

*2 埼玉医科大学第1病理学教室 (〒350-04 埼玉県入間郡毛呂山町)
1st Dept. of Pathology, Saitama Medical School (Moroyama-cho, Iruma-Gun, Saitama 350-04)

*3 理化学研究所 (〒351 埼玉県和光市広沢2)
Institute of Physical and Chemical Research (Hiro-sawa, Wako-city, Saitama 351)

*4 東京都老人病研究所 (〒173 東京都板橋区栄町35-2)
Department of Clinical Pathology, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology (Sakae-cho, Itabashi-ku, Tokyo 173)

赤紫色の色素を培地中に拡散溶出する。

本菌は *Asymmetrica-Fasciculata* に入り、メトレの先端に突起物が密に付着し、分生子は円形で $3.0 \sim 3.5 \mu$ あり、*P. carneo-lutescens* と同定した。

菌株の性質

P. ochraceum: 本菌の分離当初はペニシリン酸(penicillic acid)を Czapek-Yeast extract 培地で汙液 20 L

から $15 \sim 16 \text{ g}$ 産出するので、ペニシリン酸生産株として取扱っていたが、培地上で継代培養を行うと急速にペニシリン酸の生産量が低下し、20 L で $2 \sim 3 \text{ g}$ 程度の産出量となり、ペニシリン酸を得る菌株としては不向きとなった。しかし、この培養の際に得られた多量の菌蓋裏面には多くの黄色々素が付着しており、この色素が mycotoxin の物質であるかも知れないと思われるので、菌蓋を 60° で加熱乾燥して粉末とし、マウスの食餌に混合投与した。その結果、腎及び胃に興味ある結果を得たので菌蓋からも toxin を抽出することにした (第 5 回マイコトキシン研究会講演発表、52. 1. 29. 大久保薫等)。

P. carneo-lutescens: 本菌の産出する出血性毒素は botryodiploidin (辰野高司報告) と判明したが、本品は前者のペニシリン酸より容易に産出低下をおこし、分離当初の菌株でも 3 カ月程度保存すると生産量は著しく低下し、継代培養していると全然産出しなくなる。しかし、玄米上に培養しておく毒素の生産力に変性がないことが判ったので、菌の保存は玄米に接種し、かび米で保存することにした。

以上の工程で種かび米を作成し、毒素抽出用種菌とした。両菌共に玄米上に培養しておけば変性少なく、冷所に保存すれば 2 年程度、種菌は生きているので、このカビ米から液体培地に移し生産物を抽出することにした。

培養及び生産物

P. ochraceum 及び *P. carneo-lutescens* から菌蓋及び生産物の抽出を次のように行った。

Czapek-Yeast extract 培地を調製し、20 L を 1 単位とし、60 個の扁平培養フラスコ (400 ml) に (1 個当り約 330 ml) 分注し、殺菌後前記かび米 1 粒宛接種、 25° で 20 日間培養して得た菌蓋及び汙液から生産物を抽出した。抽出工程は次の通りである。

P. ochraceum の培養汙液 20 L から 15 g 程度のペニシリン酸が抽出できたが、温ベンゾールでは、 $1/2$ 程度しか抽出できないので、あまりよい抽出とはいえない。菌蓋をマウスに投与すると、20 週で腎に腫瘍初期像が認められ、40 週になると胃幽門部に腫瘍発生が認められたが、その原因物質はまだ不明である。

P. carneo-lutescens の培養汙液からは mycophenolic acid と botryodiploidin が抽出できる。

Botryodiploidin は *Botryodiplodia theobromae* Pat. (べと病菌の 1 種) から抗生物質として取り出されているが、動物に対する毒性研究はあまり行なわれていないようである。いずれにしても、botryodiploidin を *Penicillium* 属菌が生産することを認めたのは最初である。

むすび

P. ochraceum は食品原料に一般的に分布していて、群馬県の餅には多発する。本菌はペニシリン酸生産菌であり、沝液から容易に抽出できる。菌蓋をマウスに投与すれば、腎に腫瘍発生を思わせる初期像を形成し、

胃に腫瘍発生を認めた。

P. carneo-lutescens は家畜の飼料に一般的に分布しているようで、菌の変性著しく、変性しないものは botryodiploidin を産出し、消化器の粘膜に出血をおこす。