家畜飼料から分離したカビの変異原産生

坂本 京子・高鳥 浩介・岩原 繁雄*¹

K. SAKAMOTO, K. TAKATORI, S. IWAHARA*¹: Detection of mutagens
produced by fungi isolated from feed

近年、天然に存在する変異原の検索が精力的に行われているが、既知のカビ毒についても変異原性試験が数多く行われている。しかし、カビの代謝産物全般について変異原性の有無を検討した報告は少ない。そこで今回、筆者らは家畜飼料から多数分離したカビのなかから優先菌である *Fusarium* および *Eurotium* について培養抽出物を調整し、その変異原性を調べた。

実験方法

粗抽出物調製法：100 ml のモルトン栓付三角フラスコにエンバク 10 g, 蒸留水 15 ml を加え滅菌後、分離カビの孢子浮遊液を適量加え、*Fusarium* は 12°, *Eurotium* は 25° で14~21日間培養した。培養後、エタノールで各々のカビの代謝産物を抽出し減圧濃縮して粗抽出物とした。

突然変異誘発試験：*S. typhimurium* TA98, TA100 を用い、Ames らの方法¹⁾ に若干の改良を加えて、スポットテストおよび平板混入試験を行った。TLC および TLC プレート突然変異試験：1×20 cm に切った Kieselgel G プレート上に粗抽出物をスポットし、ベンゼン：アセトン (3:2) で展開した。TLC プレート上の変異原の位置を調べるために検定菌を撒いた角型シャーレ (10×20 cm) 上にシリカゲル面を下にして TLC プレートを置き、37° で2日間培養した。

実験結果

スポットテストの結果を表1, 2に示した。*Fusarium* では53株中13株、*Eurotium* は24株中1株の粗抽出物に変異性がみられ、陽性を示した粗抽出物はすべて TA100 において S.9 を添加した

Table 1. Results of spot test of *Fusarium* extracts

Species	Number of tested strains	Number of positive strains
<i>F. graminearum</i>	25	7
<i>F. nivale</i>	7	2
<i>F. tricinctum</i>	3	2
<i>F. semitectum</i>	1	1
<i>F. oxysporum</i>	1	1
<i>F. sporotrichioides</i>	1	0
<i>F. poae</i>	1	0
<i>Fusarium spp.</i>	14	0
total	53	14

* 食品薬品安全センター秦野研究所 (〒257 神奈川県秦野市落合729-5)

Hatano Reserch Institute, Food and Drug Safety Center (729-5 Ochiai, Hadano, Kanagawa, 257, Japan)

Table 2. Results of spot test of *Eurotium* extracts

Species	Number of tested strains	Number of positive strains
<i>E. repens</i>	7	1
<i>E. chevalieri</i>	6	0
<i>E. rubrum</i>	5	0
<i>E. amstelodami</i>	4	0
<i>E. mangini</i>	2	0
total	24	1

場合に変異活性の上昇がみられた。TA100 に対して強い変異原性を示すものは TA98 に対しても変異原性を示した。 *Fusarium* の中で最も強い変異原性を示した粗抽出物は平板混入法において、TA100 を用い S.9 ミックスを添加した場合、粗抽出物 2.5 mg で約 6,000 の変異コロニーを生じた。TLC において *Fusarium* 粗抽出物中の変異原の Rf 値は 0.30~0.35 の範囲にあり、365 nm 下で蛍光を持たず、254 nm 下で吸収を持つものと持たないものがあった。また標準カビ毒として同一条件で展開した trichothecene 系カビ毒 (T-2 toxin, nivalenol, neosolaniol, diacetoxyscirpenol, fusarenon-X, deoxynivalenol) で変異原の存在するスポットに相当するものはなかった。 *E. repens* の変異原は TLC プレート上で 2 つに分離しその Rf 値は 0.67 および 0.78 であり、どちらも紫外部における吸収および蛍光を持たなかった。

考 察

今回の13株の *Fusarium* からえた粗抽出物中に検出された変異原は TLC 突然変異試験の結果から、ほぼ類似の化合物と考えられ、また分離株総数の1/4で産生されることから *Fusarium* においてはほぼ普遍的に産生されるものと考えられる。この変異原がどのような物質であるかという点でまず考えられるのは *Fusarium* で産生される既知のカビ毒の1つではないかということである。しかし、trichothecene 系カビ毒をはじめ多くの *Fusarium* の既知のカビ毒について突然変異試験が行われているが²⁾³⁾、すべて変異原性を示さないことが知られている。また *Fusarium* 以外のカビで産生される変異原性を有するカビ毒として aflatoxin B₁, sterigmatocystin との関連化合物などがあるが、これらのカビ毒が *Fusarium* で産生されるという報告はなく、また TLC の結果からも、これら既知の変異原性カビ毒に該当しない。したがって、今回の *Fusarium* 粗抽出物から検出した変異原は未知物質と考えられる。 *Eurotium* 粗抽出物から検出した変異原も似たような変異原性を示す AFB₁, sterigmatocystin とは TLC の動向から該当しない。

引 用 文 献

- 1) Ames, B. N., McCann, J., Yamasaki, E.: Mutation Res., 31, 347 (1975).
- 2) Wehner, F. C., Marasas, W. F. O., Thiel, P. G.: Appl. Environ. Microbiol. 35, 659 (1978).
- 3) Ueno, Y., Kubota, K., Ito, T., Nakamura, Y.: Cancer Res., 38, 536 (1978).