

厚生労働科学研究費補助金
(食品の安全確保推進研究事業)

分担研究報告書

国内流通穀物におけるカビ毒複合汚染のリスク因子の解明

研究分担者 渡辺 麻衣子 (国立医薬品食品衛生研究所・衛生微生物部)

研究要旨

モニリフォルミン (MON) は、諸外国で飼育用または食用となる主要穀物を汚染していることが近年報告され、人々や家畜への健康への被害が懸念されている。一方で、MON の主要な産生菌は植物病原菌の一種である *Fusarium* 属菌が知られるが、過去の研究事例から *Fusarium* 属内でも MON 産生系統と非産生系統の存在が認知されている。さらに *Fusarium* 属では近年、種が細分化される傾向にあり、菌名の再編成等が多くなされていることから、現在の分類体系によって認識される各菌種において、改めて MON 産生能を再評価する必要がある。そこで本年度は、比較的高濃度の MON に汚染されていることをあらかじめ把握した穀物から *Fusarium* 属菌を分離し、前年度に確立した *Fusarium* 属菌株の高産生性 MON 培養法を用いて分離株の MON 産生性を確認することで、国内に流通する穀物の MON 汚染原因菌を特定した。国内に流通する主要穀物である小麦、大麦、ハト麦、ライ麦およびトウモロコシの 5 種の MON 汚染量を定量分析し、比較的高濃度の MON に汚染されていた 16 検体から 169 株の *Fusarium* 属菌の分離・同定を行った。SSA 液体培地を用いて分離株の培養を行い、HPLC-DAD を用いて株毎の MON 産生量を定量した。その結果、MON 産生菌として、小麦から *F. avenaceum* とその近縁種、ライ麦から *F. oxysporum*、トウモロコシから *F. fujikuroi* とその近縁種が検出された。今回分離された菌株の中で最も高産生性であったのはトウモロコシ由来の *F. fujikuroi* で 359 mg/L の MON 産生性を示した。今回、ハト麦および大麦からは MON 産生菌が検出されなかった。さらに、*Fusarium* 属における幅広い菌種が MON 産生性を持つとされる従来からの知見とは異なり、MON は特定の系統が産生する可能性が考えられた。これらの結果から、日本国内で流通する穀物の MON 汚染原因菌の菌種は穀物種毎に傾向があることが明らかとなった。今回判明した穀物毎の汚染原因菌の情報を元に、国内に流通する穀物における *Fusarium* 属菌の汚染状況を把握することで、MON 汚染のリスク評価に関する知見を蓄積することができた。

研究協力者

青木 渉 国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

Fusarium 属菌は、様々な農作物へ感染して稲ばか苗病 (*F. fujikuroi*) や赤かび病 (*F. graminearum*) 等の特徴的な表徴により植物体を病変させる植物病原菌として知られる (図 1)。そのような菌類に感染した農作物は *Fusarium* 属菌の二次代謝産物であるカビ毒に汚染され、人々の健康へ影響を与えるとともに、穀物を原料とした加工産業等への被害が度々報告されている¹⁾。近年では分析技術の発展に伴い、LC-MS や TOF-MS 等の高感度・高分解能の分析機器が登場している。これにより新たに様々な農産物を汚染することが判明したカビ毒を新興カビ毒と呼称するが、その一種であるモニリフォルミン (MON) が注目を浴びている (図 2)。

MON は *Fusarium* 属菌と *Penicillium melanoconidium* において産生例が報告されている四員環ジケトン構造を持つ水溶性の化合物で、他のカビ毒と比較して低分子な化合物として知られる。1973 年に病変したトウモロコシ実生に由来する *F. moniliforme* (= *F. fujikuroi* species complex) から発見された。近年、ヨーロッパ食品安全委員会 (EFSA) は欧州で流通している食用の小麦・大麦を含む過去 14 年間に渡る 1683 検体の汚染実態調査事例をまとめ、数多くの種類の穀物で MON による汚染が蔓延していることを報告している²⁾。穀物における MON 汚染の調査は MON 汚染リスク評価に重要な因子の一つと言える。

Fusarium 属菌での MON 産生能については、1970 年代から多くの確認実験がなされ、*F. verticillioides*、*F. subglutinans*、*F. sporotrichioides*、*F. culmorum*、*F. equiseti*、*F. semitectum*、*F. tricinctum*、*F. avenaceum*、*F. tricinctum*、*F. clamydosporum* の計 10 菌種で MON 産生の報告がある^{3,4)}。しかし未だに不明な点も多く、

文献によっては同一種であっても産生能が大きく異なるなど、*Fusarium* 属菌の系統内でも産生スペクトルには曖昧な点が見受けられる^{4,5)}。その上、*Fusarium* 属では近年では種が細分化される傾向にあり、分子系統分類学的手法により解析が進められ、新種報告が多くなされている^{6,7)}ことから、現在の分類体系によって認識される各菌種において、改めて MON 産生能を再評価する必要がある。日本国内で農作物の MON 汚染の原因となる *Fusarium* 属菌を特定することは、MON 汚染リスクの評価に重要な因子であると考えられる。

本年度は、比較的高濃度の MON に汚染されていることをあらかじめ把握した穀物から *Fusarium* 属菌を分離し、前年度に確立した *Fusarium* 属菌株の高産生性 MON 培養法を用いて分離株の MON 産生性を確認することで、国内に流通する穀物の MON 汚染原因菌を特定したので、その成果を報告する。

B. 研究方法

(1) 分離元検体の選抜

吉成ら (2023)⁸⁾の方法を参考に、ダイオードアレイ付き HPLC (HPLC-DAD) による MON 定量法から汚染量を把握した。国内のスーパーマーケットやオンラインショップで販売されている小麦、大麦、ハト麦、ライ麦、トウモロコシを含む計 109 の穀物検体を収集した。検体の約 50 g をミルミキサーにより破碎して実験に供するまで 4°C で保管した。破碎検体 5 g を 50 mL 容ファルコンチューブへ加え、ここに 85%アセトニトリル 25 mL を加えて 15 分振盪培養、その後 1,000 rpm で 5 分間遠心分離してから上清を 300 mL 容共栓付き三角フラスコへデカントで移す操作を三回繰り返した。得られた上清液約 75 mL をよく攪拌してから上清の 22.5 mL を 25 mL 容試験

管へ入れて窒素の吹付乾固をした。乾固物へ 2 mL のメタノールを加えてソニケーターで溶解後に平衡化した Bond Elut SAX (アジレント・テクノロジー社製) に通液して MON を吸着させ、カラム内を 0.1M リン酸と 10%アセトニトリルで洗浄した。吸着させた MON は 1.5 mL のイオンペア剤 (3.5%TBAHS 0.2 M KH₂PO₄) 1.5 mL で溶出し、試験溶液とした。試験溶液中のカビ毒を HPLC-DAD により定量した。MON の吸光波長は 229nm と 260nm で極大を示すためこれを特徴とした。HPLC 測定条件は以下の通りである；

HPLC : 1260 Infinity (Agilent Technology)

カラム : Intert Sustain Swift C18、
5 μm、4.6×250 mm (ジエールサイエンス社製)

移動相 : 水 : 7% TBAHS + 0.4M KH₂PO₄ (pH7.0):アセトニトリル(92:1:8)アイソクラティック溶出

流速 : 1 mL/min

注入量 : 100 μL

検出波長 : 229 nm

解析時には 10、30、100、300、1,000、3,000 μg/L の濃度段階で作成した標準品を用意した。229 nm の面積値より検量線を作成し、検体中の MON のピーク面積から培地中の濃度を算出した。解析結果から、100 μg/kg 以上の濃度で MON に汚染されている検体を選抜し、*Fusarium* 属菌分離実験に供した。

(2) 穀物からの *Fusarium* 属菌株の分離

(1) で選抜した MON 汚染穀物を材料として、各穀物検体 70 粒程度を滅菌済み 300 mL 容三角フラスコへ入れ、そこに約 60 mL の 70%エタノールを加えて 30 秒攪拌後、直ちに液体のみを廃棄して滅菌蒸留水 100 mL を

加え 30 秒程度攪拌し液体を廃棄した。この洗浄作業を 2 回繰り返した。得られた洗浄済み穀物は滅菌濾紙の上に広げ、水分を除去後、DRBC 平板培地上に 5 点等間隔に播種し、暗条件下で 25°C・5 日間程培養した。培養後に、菌糸を伸長する *Fusarium* 属様菌のコロニーを PDA 平板培地へと釣菌して 25°C・1 週間培養した。培養後に PDA 平板培地上で生育したコロニーを PDB へ接種して 2 日間・25°C培養を行い、培養後得られた菌糸体を DNA 解析試料とした。

(3) *Fusarium* 属菌の同定

DNA 抽出には DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen 株式会社) を用い、添付のプロトコルに従って実験を進めた。得られた DNA 抽出物は使用まで -80°Cディープフリーザー内で冷凍して保管した。PCR には TaKaRa EX Taq (タカラ株式会社) を用い、試薬組成は 1 サンプルあたり 10×Ex Taq Buffer 2.5 μL、dNTP mixture 2 μL、フォワードプライマー (5 pmol/μL) 1 μL、リバースプライマー (5 pmol/μL) 1 μL、ExTaq 0.12 μL、テンプレート DNA (50-100 ng) を加え、体積が 25.0 μL となるように DW を加えて調製した。各種プライマーについては、18S partial-ITS1-5.8S-ITS2-28S partial (ITS 領域) の増幅には ITS5 : 5'- GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3'⁹⁾および NL4 : 5'- GGT CCG TGT TTC AAG ACG G -3'¹⁰⁾を、elongation factor-1 alpha 遺伝子 (*EF-1α*) の増幅には EF1 : 5'- ATG GGT AAG GAR GAC AAG AC -3'¹¹⁾ および EF2new : 5'- GGA RGT ACC AGT SAT CAT GTT -3' (本研究においてデザインした) の組み合わせをそれぞれ用いた。サーマルサイクラーの反応プロトコルは初期変性 94°C・3 分ののち、変性 94°C・30 秒、再生 55°C・40 秒、伸長 72°C・50 秒の反応を 35 サ

イクル行い、最終伸長 72°C・5 分で反応させた。得られた PCR 産物は ExoSap 2 µL 添加し、37°C・15 分ののち、80°C・15 分で精製反応を進め、得られた精製産物をシーケンシング反応のテンプレートとして用いた。シーケンシング反応には BigDye Terminator v.3.1 (サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社) を用い、マスターミックスの組成は、BigDye Terminator 1 µL、フォワードもしくはリバースプライマー 1 µL、DW 6 µL および精製済 PCR 産物 2 µL の計 10 µL の条件とした。シーケンシング反応は、初期変性 95°C・5 分、変性 95°C・30 秒、再生 52°C・10 秒、伸長 60°C・4 分を 25 サイクル繰り返した。シーケンスサンプルの精製はエタノール沈殿法により行い、最終産物を 12 µL の HiDi ホルムアルデヒド (サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社) へ溶解した。サンガーシーケンスリードの取得には 3730xl DNAanalyzer (サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社) を用いた。得られた ab1 形式ファイルを ATGC (株式会社ゼネティックス) へ取り込み、波形データの補正および配列のアセンブリを行った。得られた各菌株の遺伝子塩基配列を FASTA 形式ファイルで出力した。

Han et al.⁷⁾および農業生物ジーンバンク¹²⁾を参考に、Genbank からダウンロードした *EF-1α* のリファレンス配列を本研究で得られた分離培養株の *EF-1α* の配列とともにマルチプロアライメントソフトウェア MAFFT ver. 7 (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/software/>) を用いて解析し、配列の 5'領域と 3'領域のトリミングを行ったものをアラインメントファイルとして分子系統解析に供した。分子系統解析には RAxML ver. 8¹³⁾ を用い、GTRGAMMAI model およびブートストラップ法 1000 反復の条件で系統樹を構築した。解

析結果の出力には Figtree ver. 1.44 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) を用いた。得られた系統解析結果を参照し、ブートストラップ値 85 以上でリファレンス配列と単系統を形成したことを同定の根拠として分離菌株群を同定し、それとは異なる系統に属した種については *Fusarium sp. #*とした。

(4) 培養株からの MON 産生性のスクリーニングと HPLC による定量方法

紙栓 (Steristoppers : Heinz Herenz 株式会社) をして滅菌した 100 mL 容三角フラスコ (AGC テクノグラス株式会社) へ Sucrose salt asparagine 液体培地 (SSA 培地 : 組成は表 1 に示す) 25 mL を加え、ここに (1) にて分離同定し、かつダニ等からの汚染を受けていないことを確認した 163 菌株 (表 3) について、1 週間の前培養後の PDA 半斜面培地の表面積 2 cm² に当たる体積の菌糸を接種し、25°C・暗条件で 10 日間静置培養した。培養後の培養液 300 µL を 1.5 mL マイクロチューブへ回収し、6N 塩酸 60 µL および酢酸エチル 300 µL を加えてボルテックス後、12,000 rpm で 5 分遠心し、上清液 200 µL を回収した。上清を取り去った下層の液に対してこの操作をさらに 1 回繰り返して上清液 300 µL を回収し、合計 500 µL の上清液を回収した。上清液は窒素吹付により乾固し、30 µL の酢酸エチルを加えて TLC 試料液とした。展開溶媒にはトルエン : アセトン : メタノール : 酢酸 = 4 : 3 : 2 : 1 混合液を使用した。TLC プレート (Aluminum TLC plate, silica gel coated with fluorescent indicator F254 : Merck) を用い、試料液を 2 µL ずつ 2 回スポットした。陽性対照には MON 濃度 100 ng/µL を 1 µL スポットした。展開して風乾後、UV イルミネーター (UV box : ベルトールドジャパン株式会社) を用いて波長 256 nm で Rf 値 4.5 に出現した

蛍光減退バンドから MON の陽性判定を行った (図 3)。

MON 陽性が確認された、もしくは疑いのある培養液は HPLC-DAD による MON 産生能の定量評価を行った。MON 陽性培養液 150 μL を新たな 1.5 mL マイクロチューブへ移し、分取した培養液をメタノール 1 mL と混合し、25 $^{\circ}\text{C}$ ・3,000 rpm で 5 分間遠心分離した。その後は穀物検体と同様の方法で前処理を行い、HPLC-DAD で検出・定量して培養液中 MON 濃度を算出した。

C. 研究結果

100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の濃度で MON に汚染されている検体として、計 16 検体の穀物を菌株分離元として使用した (表 2)。小麦からは *F. poae* が 6 株、*Fusarium* sp.1 (*F. avenaceum* species-complex に含まれるが 1 菌種に同定できない) が 3 株、*F. avenaceum* が 5 株、*Fusarium* sp. 2 (*F. incarnatum-F. equiseti* species-complex に含まれるが 1 菌種に同定できない) が 2 株が検出され、大麦からは *F. graminearum* が 1 株および *F. avenaceum* が 1 株、ハト麦からは *F. luffae* が 9 株と *F. verticillioides* が 1 株、ライ麦からは *F. oxysporum* が 1 株、トウモロコシからは *F. fujikuroi* が 65 株、*F. annulatum* が 8 株、*F. andiyazi* が 3 株、*F. temperatum* が 5 株、*F. nisikadoi* が 1 株、*Fusarium* sp.2 が 1 株、*F. verticillioides* が 50 株、*F. subglutinans* が 2 株および *F. luffae* が 5 株の計 169 株 14 菌種が分離された (表 2)。また、系統解析と形態観察による種同定の結果を図 4 に示した。MON 産生性を示した菌株は実験に供試した全 163 株中 83 株であった。*Fusarium* 属種毎の培地中の MON 濃度の平均値および MON 産生陽性株の比率は、*F. fujikuroi* (MON 平均濃度, MON 陽性株数/分離株数 : 83.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$,

62/65)、*F. annulatum* (21.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 4/8)、*F. temperatum* (1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 3/5)、*F. subglutinans* (1.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1/2)、*F. andiyazi* (39.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 2/2)、*F. oxysporum* (165.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1/1)、*F. nisikadoi* (88.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1/1)、*F. avenaceum* (6.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 8/9) および *Fusarium* sp.1 (25.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 3/3) であり、9 種で MON 産生性が確認された (図 5)。MON 産生性陽性株の比率については種によって差がある傾向が見られた。また、最も MON を産生性が高かった菌株は *F. fujikuroi* の Zea020-29 株で、359 mg/L の濃度で検出された。*F. verticillioides*、*F. luffae*、*F. poae*、*F. equiseti* および *F. graminearum* は供試したすべての分離株で MON 産生性が確認されなかった (表 4)。

D. 考察

各種 MON 汚染穀物から分離された MON 産生株を穀物の MON 汚染原因菌として考えた場合、その菌種は、小麦では *F. avenaceum* および *Fusarium* sp. 1、ライ麦では *F. oxysporum*、トウモロコシでは *F. fujikuroi*、*F. annulatum*、*F. temperatum*、*F. andiyazi*、*F. subglutinans* および *F. nisikadoi* であり、穀物によって MON 産生菌種は異なる傾向が見られた (表 3)。トウモロコシからは *F. fujikuroi* やその近縁種が多数検出され、*F. verticillioides* 以外の種のほとんどの分離株で MON 産生性を有していた。*F. fujikuroi* とその近縁種は稲や小豆等の農作物からの検出事例が多い菌類で、稲ばか苗病などの植物病原菌でもある¹⁴⁾。本研究では、*F. fujikuroi* では 300 mg/L 以上の高濃度 MON 産生菌株の存在が確認され、熊本県から山梨県まで、国内の幅広い地域のトウモロコシから MON 産生菌株が検出された (表 3)。*F. fujikuroi* とその近縁種は国内での主な MON 汚染原因菌であ

る可能性が高く、本菌の検出頻度の高い穀物は他の農産物に比べて MON 汚染リスクが高いと考えられた。

小麦では、*F. avenaceum* とその近縁種汚染原因菌が MON 汚染原因菌となっている可能性が示された。一方で、今回は大麦からは 2 株の *Fusarium* 属菌しか分離できず、*F. avenaceum* を含むこれらの分離株からは MON 産生性が確認されなかったため、大麦の MON 汚染原因菌に関しての情報は得られなかった。しかし、欧州等の小麦および大麦畑での *Fusarium* 属菌の菌叢解析調査において *F. avenaceum* 系統がしばしば検出されており¹⁵⁾、また *F. avenaceum* は赤カビ病の原因菌として日本国内に多く分布することが知られる。本研究の結果から MON 産生性が高いことが判明した *F. fujikuroi* でも MON を産生しない株が分離され (表 3)、一つの菌種においても MON 産生株と非産生株が混在するところを考慮すると、大麦の MON 汚染で *F. avenaceum* が原因菌となっている可能性はあると考えられた。今後の大麦での MON 汚染原因菌探索の継続が必要である。

MON 産生菌の識別に関しては、過去の報告を参照すると、トウモロコシから分離された *F. incarnatum* (文献中ではシノニムの *F. semitectum*) から MON が産生されたとの⁴⁾ 報告が存在するが、本研究ではこれとの近縁種である *F. luffae* や *Fusarium* sp.2 などの複数菌株から MON 産生性は一切確認されなかったことから、少なくとも国内に分布する *F. incarnatum* や *F. luffae* の系統は MON をほとんど産生しない可能性が考えられた。また、今回分離した *F. fujikuroi*、*F. andiyazi*、*F. annulatum*、*F. subglutinans* では MON 産生性が確認されたが、これらと近縁種の中では *F. verticillioides* のみで MON 産生性は一切確認されなかった (図 5)。これらのことから、

互いに近縁であっても系統によって MON 産生性は異なることが示唆された。また *Fusarium* 属における幅広い菌種が MON 産生性を持つとされる従来からの知見とは異なり、MON は特定の系統が産生する可能性が考えられた。

今回の MON 汚染原因菌探索によって、MON に高濃度汚染された穀物がどのような *Fusarium* 属菌に感染しているか、その実態が明らかとなった。さらに、多くの検体で単一の菌種に汚染されているわけではなく、多種の *Fusarium* 属に汚染されていた。過去の研究から、今回検出された *F. fujikuroi* とその近縁種はフモニシン類やフザレノン X、*F. avenaceum* とその近縁種はエンニアチン類等のカビ毒産生性が報告されている⁷⁾。また小麦や大麦からは、ジアセトキシシルペノール (DAS) やデオキシニバレノール (DON) などのトリコテセン系カビ毒を産生する *F. equiseti*、*F. poae* および *F. graminearum* などの菌も合わせて検出されている⁴⁾。したがって、1つの菌種が複数のカビ毒を産生する、または複数種の *Fusarium* 属菌が同時に感染しそれぞれが別個のカビ毒を産生する状況となる場合があり、穀物は MON 以外の様々なカビ毒にも複合的に汚染される可能性がある。他のカビ毒との複合的な健康影響¹⁶⁾も考慮する必要がある。

今年度の検討によって判明した穀物の MON 汚染原因菌の情報を元に、国内に流通する穀物における *Fusarium* 属菌の汚染状況を把握することで、MON 汚染のリスク評価に関する知見を蓄積することができた。一方で、今年度の検討では、MON 汚染ハト麦からは MON 汚染の原因と推定される MON 産生菌の検出ができなかった。これはハト麦が収穫されてから時間が経過したことや貯蔵中の農薬の使用等によって、汚染原因菌が死滅したことが

原因と考えられる。流通品における菌の分布調査を行うためには、死滅菌でも検出可能な方法を採用する必要がある。そこで今後は、今年度の研究で判明した菌種毎の MON 産生性の情報を有効に活用しつつ、試料に残留する DNA をテンプレートとして次世代シーケンサーを用いた菌総解析を行い、穀物に付着した MON 産生菌種を検出する予定である。

E. 結論

日本国内で流通する穀物の MON 汚染原因菌の菌種は穀物種毎に傾向があり、小麦および大麦では *F. avenaceum*、ライ麦では *F. oxysporum*、トウモロコシは *F. fujikuroi* とその近縁種および *F. nisikadoii* であることを明らかにした。また *Fusarium* 属における幅広い菌種が MON 産生性を持つとされる従来からの知見とは異なり、MON は特定の系統が産生する可能性が考えられた。今回判明した汚染原因菌の情報を元に、国内に流通する穀物における *Fusarium* 属菌の汚染状況を把握することで、MON 汚染のリスク評価に関する知見を蓄積することができた。今後は、さらなる MON 汚染原因菌の実態に関する情報を明らかにするため、調査を継続する必要がある。

F. 参考文献

- 1) 岩手県産小麦から「かび毒」検出「JA 全農いわて」が会見 | NHK | 農業 (2023/11/29). <https://www3.nhk.or.jp/news/html/20231129/k10014272631000.html>
- 2) EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Risks to human and animal health related to the presence of moniliformin in food and feed. 2018, EFSA Journal, 16, e05082.
- 3) Watanabe, M., Yonezawa, T., Sugita-Konishia, Y., Kamata, Y. Utility of the phylotoxigenic relationships among trichothecene-producing *Fusarium* species for predicting their mycotoxin-producing potential. Food Add. Contamin. A. 2013, 30, 1370–1381.
- 4) Abraham, ZJ. *Fusarium* Species: Their biology and toxicology. A Wiley-Interscience Publications. 1986.
- 5) Schütt, F., Nirenberg, HI., and Deml, G. Moniliformin production in the genus *Fusarium*. 1998, Mycotoxin Research, 14, 35-40.
- 6) Yilmaz, N. Sandoval-Denis, M., Lombard, L. Visagie CM., Wingfield, BD., Crous, PW. Redefining species limits in the *Fusarium fujikuroi* species complex. 2021, Persoonia, 46, 129-162.
- 7) Han, SL., Wang, MM., Ma, ZY., Raza, M., Zhao, P., Liang, JM., Gao, M., Li, YJ., Wang, JW., Hu, DM., Cai, L.: *Fusarium* diversity associated with diseased cereals in China, with an updated phylogenomic -assessment of the genus. 2023, Studies in Mycology, 104, 87-148.
- 8) 令和 4 年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）日本国内流通食品に検出される新興カビ毒の安全性確保に関する研究，分担研究報告書「国内流通穀物におけるカビ毒複合汚染のリスク因子の解明」渡辺麻衣子，2023 年
- 9) White, TJ., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J.: Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Edited by: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ. White TJ: Academic Press. pp. 315-322 (1990)
- 10) O'Donnell, K.: *Fusarium* and its near relatives, in The Fungal Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics, ed. by Reynolds DR and Taylor JW. CAB International, Wallingford, UK. pp. 225–233 (1993).

- 11) O'Donnell, K., Kistler, HC., Cigelnik, E., Ploetz, RC.: Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene sgenealogies. Proc Natl Acad Sci. USA 1998, 95(5):2044-2049.
- 12) 農業生物資源ジェーンバンク . https://www.gene.affrc.go.jp/index_j.php
- 13) Stamatakis, A. RAxML Version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. Bioinformatics. 2014, 30:1312-3.
- 14) Kushiro, M., Zheng, Y., Nagata, R., Nakagawa, H., and Nagashima, H. Limited Surveillance of Fumonisin in Brown Rice and Wheat Harvested in Japan. Journal of Food Protection. 2009, 72, 1327–1331.
- 15) Boutigny, AL., Gautier, A., Basler, R., Dauthieux, F. Leite, S., Valade, R., Aguayo, J., Ioos, R., Laval, V. Metabarcoding targeting EF1 alpha region to assess Fusarium diversity on cereals. 2019, PLOS One, 14, e0207988.
- 16) Fremy, JM., Alassane-Kpembé, I., Oswald, IP., Cottrill, B., and Van Egmond, HP. A review on combined effects of moniliformin and co-occurring Fusarium toxins in farm animals. 2019, World Mycotoxin Journal, 12, 281-291.
- オルミン産生能評価法の検討. 日本マイコトキシン学会第 90 回学術講演会. 2024. 1. 10.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
無し
2. 実用新案登録
無し
3. その他
無し

G. 研究業績

1. 論文発表 該当なし

2. 学会発表

- 1) 青木渉、吉成知也、工藤由起子、渡辺麻衣子. 新興カビ毒モニリフォルミン汚染穀物中の原因菌探索. 第 119 回食品衛生学会学術講演会. 2023.10.17-18.
- 2) 青木渉、吉成知也、工藤由起子、渡辺麻衣子. *Fusarium* 属におけるカビ毒モニリフ

表 1 蒸留水 1L あたりの Sucrose Salt Asparagine 培地の組成

化学物質	含有量 (g/L)
Sucrose	200
Asparagine	10
Ca-pantothenate	0.01
NaNO ₃	1
MgSO ₄ · 7H ₂ O	1
KH ₂ PO ₄	0.75
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.1
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.01
MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.001
CuSO ₄ · 7H ₂ O	0.001
Co(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	0.0001
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.001
NiCl ₂ · 6H ₂ O	0.001
Na ₂ B ₄ O ₇	0.001

表 2 本研究で使用した汚染穀物一覧

検体 ID	穀物種	産地	穀物中 MON ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
R5-Coi002	ハト麦	岩手県	23
R5-Coi004	ハト麦	富山, 栃木県	3109
R5-Coi008	ハト麦	中国	1569
R5-Sec009	ライ麦	北海道	1644
R5-Hor006	大麦	石川県	473
R5-Hor024	大麦	北海道	93
R5-Hor025	大麦	北海道	20
R5-Tri006	小麦	北海道	390
R5-Tri012	小麦	北海道	1218
R5-Zea004	トウモロコシ	アメリカ	1442
R5-Zea005	トウモロコシ	アメリカ	198
R5-Zea008	トウモロコシ	栃木県	877
R5-Zea010	トウモロコシ	山梨県	100
R5-Zea011	トウモロコシ	山梨県	1120
R5-Zea019	トウモロコシ	埼玉県	651
R5-Zea020	トウモロコシ	熊本県	271

表3 本研究で分離した *Fusarium* 属菌株一覧

株番号	同定種名	由来穀物	由来検体	MON 産 生 量 (mg/L) * ¹
Coi002-3	<i>F. luffae</i>	ハト麦	R5-Coi002	<0.1
Coi002-4	<i>F. luffae</i>	ハト麦	R5-Coi002	<0.1
Coi002-5	<i>F. luffae</i>	ハト麦	R5-Coi002	<0.1
Coi004-16	<i>F. luffae</i>	ハト麦	R5-Coi004	<0.1
Coi004-21-1	<i>F. luffae</i>	ハト麦	R5-Coi004	<0.1
Coi004-21-2	<i>F. luffae</i>	ハト麦	R5-Coi004	<0.1
Coi006-6	<i>F. luffae</i>	ハト麦	R5-Coi006	<0.1
Coi006-7	<i>F. luffae</i>	ハト麦	R5-Coi006	<0.1
Coi008-2	<i>F. verticillioides</i>	ハト麦	R5-Coi008	<0.1
Sec009-48	<i>F. oxysporum</i>	ライ麦	R5-Sec009	88.1
Hor025-17	<i>F. avenaceum</i>	大麦	R5-Hor025	0.00
Hor024-10	<i>graminearum</i>	大麦	R5-Hor024	<0.1
Tri006-6	<i>Fusarium</i> sp.2	小麦	R5-Tri006	<0.1
Tri006-7	<i>Fusarium</i> sp.2	小麦	R5-Tri006	<0.1
Tri006-9	<i>F. avenaceum</i>	小麦	R5-Tri006	21.7
Tri006-41	<i>Fusarium</i> sp.1	小麦	R5-Tri006	13.8
Tri012-1	<i>F. avenaceum</i>	小麦	R5-Tri012	8.5
Tri012-14	<i>Fusarium</i> sp.1	小麦	R5-Tri012	2.0
Tri012-15-1	<i>Fusarium</i> sp.1	小麦	R5-Tri012	60.4
Tri012-15-2	<i>F. poae</i>	小麦	R5-Tri012	<0.1
Tri012-20	<i>F. poae</i>	小麦	R5-Tri012	<0.1
Tri012-24	<i>F. poae</i>	小麦	R5-Tri012	<0.1
Tri012-25	<i>F. poae</i>	小麦	R5-Tri012	<0.1
Tri012-3	<i>F. poae</i>	小麦	R5-Tri012	<0.1
Tri012-7	<i>F. poae</i>	小麦	R5-Tri012	<0.1
Tri012-2-16	<i>F. avenaceum</i>	小麦	R5-Tri012	5.0
Tri012-2-19	<i>F. avenaceum</i>	小麦	R5-Tri012	0.5
Tri012-2-20	<i>F. avenaceum</i>	小麦	R5-Tri012	8.3
Zea008-1	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	n.t. * ²
Zea008-10	<i>F. luffae</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	<0.1
Zea008-12	<i>F. andiyazi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	29.0
Zea008-14	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	<0.1
Zea008-15	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	<0.1
Zea008-17	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	107.6
Zea008-18	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	39.7
Zea008-2	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	<0.1
Zea008-20	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	8.1
Zea008-21	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	77.7
Zea008-22	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	<0.1
Zea008-24	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	5.1
Zea008-25	<i>F. luffae</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	<0.1
Zea008-26	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	1.7
Zea008-27-1	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	n.t. * ²
Zea008-27-2	<i>F. luffae</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	<0.1
Zea008-29	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	8.8
Zea008-3	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	n.t. * ²
Zea008-30	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	<0.1
Zea008-31	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	112.8
Zea008-32	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	<0.1
Zea008-33	<i>F. andiyazi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	<0.1
Zea008-35	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	<0.1
Zea008-37	<i>F. andiyazi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	39.0
Zea008-4-1	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	50.9

*¹ 検出下限値は0.1 mg/L。*² 試験せず。

表3 本研究で分離した *Fusarium* 属菌株一覧 (続き)

株番号	同定種名	由来穀物	由来検体	MON 産 生 量 (mg/L) * ¹
Zea008-4-2	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	109.5
Zea008-5	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	n.t. * ²
Zea008-7	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	<0.1
Zea008-8	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	3.2
Zea008-9	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea008	31.3
Zea004-1-1	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea004	<0.1
Zea004-1-2	<i>F. subglutinans</i>	トウモロコシ	R5-Zea004	<0.1
Zea004-2-1	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea004	<0.1
Zea004-2-2	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea004	<0.1
Zea004-3	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea004	<0.1
Zea019-11	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-1-1	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-12	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-1-2	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-13	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-14	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-15	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-16	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-17	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-18	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-19	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-20	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-23	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-24	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-26	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-28	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-29	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-3	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-30	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-31	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-32	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	65.3
Zea019-33	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-34-1	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-34-2	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-4	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-5	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-6	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-7	<i>F. annulatum</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-8	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea019-9	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea019	<0.1
Zea011-1	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	41.4
Zea011-2	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	19.0
Zea011-3	<i>F. annulatum</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	17.0
Zea011-4	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	4.4
Zea011-5	<i>F. annulatum</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	<0.1
Zea011-6	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	25.2
Zea011-7	<i>F. temperatum</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	3.0
Zea011-8	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	164.2
Zea011-9	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	<0.1
Zea011-10	<i>F. luffae</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	<0.1
Zea011-11	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	<0.1
Zea011-12	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	21.0
Zea011-13	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	51.8

*¹ 検出下限値は 0.1 mg/L。*² 試験せず。

表3 本研究で分離した *Fusarium* 属菌株一覧 (続き)

株番号	同定種名	由来穀物	由来検体	MON 産 生 量 (mg/L)* ¹
Zea011-14-1	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	<0.1
Zea011-14-2	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	<0.1
Zea011-15-1	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	66.1
Zea011-15-2	<i>F. temperatum</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	<0.1
Zea011-16	<i>F. annulatum</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	<0.1
Zea011-18	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	98.5
Zea011-19	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	88.1
Zea011-20	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	30.0
Zea011-22	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	69.7
Zea011-23	<i>F. annulatum</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	<0.1
Zea011-24	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	39.0
Zea011-25	<i>F. nisikadoi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	165.9
Zea011-26	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	<0.1
Zea011-27	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	185.8
Zea011-28	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	39.5
Zea011-29	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	19.7
Zea011-30	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	<0.1
Zea011-31	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	<0.1
Zea011-32	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	<0.1
Zea011-33	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	73.9
Zea011-35	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	20.2
Zea011-36	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	8.5
Zea011-37	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	6.5
Zea011-38	<i>F. verticillioides</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	<0.1
Zea011-39	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	40.5
Zea011-40	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	4.8
Zea011-41	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	124.7
Zea011-42	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	68.9
Zea011-43	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	34.3
Zea011-44	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea011	132.5
Zea020-2	<i>F. annulatum</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	35.3
Zea020-3	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	305.3
Zea020-5	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	309.2
Zea020-6	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	296.0
Zea020-7	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	53.2
Zea020-8	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	17.4
Zea020-9	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	57.2
Zea020-10	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	202.8
Zea020-11	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	58.1
Zea020-15	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	39.0
Zea020-16	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	60.3
Zea020-17	(未同定)	トウモロコシ	R5-Zea020	9.7
Zea020-18	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	274.7
Zea020-19	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	98.6
Zea020-21	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	153.0
Zea020-22	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	90.8
Zea020-25	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	227.1
Zea020-26	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	313.0
Zea020-27	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	52.3
Zea020-29	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	359.0
Zea020-30	<i>F. annulatum</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	91.7
Zea020-32	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	126.1
Zea020-34	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	147.0

*¹ 検出下限値は 0.1 mg/L。*² 試験せず。

表3 本研究で分離した *Fusarium* 属菌株一覧 (続き)

株番号	同定種名	由来穀物	由来検体	MON 産 生 量 (mg/L) * ¹
Zea020-36	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	53.9
Zea020-37	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea020	54.9
Zea005-3	<i>F. annulatum</i>	トウモロコシ	R5-Zea005	27.9
Zea005-4	<i>F. subglutinans</i>	トウモロコシ	R5-Zea005	3.7
Zea010-4	<i>F. luffae</i>	トウモロコシ	R5-Zea010	<0.1
Zea010-9	<i>Fusarium</i> sp. 2	トウモロコシ	R5-Zea010	<0.1
Zea010-2-1	<i>F. temperatum</i>	トウモロコシ	R5-Zea010	1.0
Zea010-2-2	<i>F. temperatum</i>	トウモロコシ	R5-Zea010	<0.1
Zea010-5-1	<i>F. temperatum</i>	トウモロコシ	R5-Zea010	0.9
Zea010-5-2	<i>F. fujikuroi</i>	トウモロコシ	R5-Zea010	16.9

*¹ 検出下限値は 0.1 mg/L。

*² 試験せず。

表 4 各 MON 汚染穀物から分離された *Fusarium* 属菌と汚染原因菌 (灰背景)の一覧

穀物検体	穀物種	産地	穀物中 MON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) ^{*2}	主要 MON 産生菌	検出 株数	MON 産生量 (Min-Max:mg/kg) ^{*3}
R5-Coi002	ハト麦	岩手県	22.59	<i>F. luffae</i>	3	N.D. ^{*1}
R5-Coi004	ハト麦	富山県, 栃木県	3109.26	<i>F. luffae</i>	3	N.D. ^{*1}
R5-Coi008	ハト麦	中国	1569.27	<i>F. verticillioides</i>	1	N.D. ^{*1}
R5-Sec009	ライ麦	北海道	1643.61	<i>F. oxysporum</i>	1	88.1
R5-Tri006	小麦	北海道	390.3	<i>F. avenaceum</i>	1	21.7
				<i>Fusarium</i> sp.1	1	13.8
				<i>Fusarium</i> sp.2	2	N.D. ^{*1}
R5-Tri012	小麦	北海道	1218.40	<i>F. avenaceum</i>	4	0.5-21.6
				<i>Fusarium</i> sp.2	2	2.0-60.4
				<i>F. poae</i>	6	N.D. ^{*1}
R5-Hor006	大麦	石川県	473.31	非検出	-	N.D. ^{*1}
R5-Hor024	大麦	北海道	93.2	<i>F. graminearum</i>	1	N.D. ^{*1}
R5-Hor025	大麦	北海道	20.4	<i>F. avenaceum</i>	1	N.D. ^{*1}
R5-Zea004	トウモロコシ	アメリカ	1441.58	<i>F. verticillioides</i>	4	N.D. ^{*1}
				<i>F. subglutinans</i>	1	N.D. ^{*1}
R5-Zea005	トウモロコシ	アメリカ	197.5	<i>F. annulatum</i>	1	27.9
				<i>F. subglutinans</i>	1	3.7
R5-Zea008	トウモロコシ	栃木県	877.00	<i>F. fujikuroi</i>	14	1.7-112.8
				<i>F. andiyazi</i>	3	21.0-50.9
				<i>F. verticillioides</i>	8	N.D. ^{*1}
				<i>F. luffae</i>	3	N.D. ^{*1}
R5-Zea010	トウモロコシ	山梨県	100.0	<i>F. luffae</i>	1	N.D. ^{*1}
				<i>Fusarium</i> sp.2	1	N.D. ^{*1}
				<i>F. temperatum</i>	3	0.9-1.0
				<i>F. fujikuroi</i>	1	16.9
R5-Zea011	トウモロコシ	山梨県	1120.29	<i>F. fujikuroi</i>	27	4.4-185.8
				<i>F. annulatum</i>	4	17.0
				<i>F. temperatum</i>	2	3.0
				<i>F. verticillioides</i>	7	N.D. ^{*1}
				<i>F. luffae</i>	1	N.D. ^{*1}
R5-Zea019	トウモロコシ	埼玉県	651.39	<i>F. fujikuroi</i>	1	65.3
				<i>F. annulatum</i>	1	N.D. ^{*1}
				<i>F. verticillioides</i>	25	N.D. ^{*1}
R5-Zea020	トウモロコシ	熊本県	270.5	<i>F. annulatum</i>	2	35.3-91.7
				<i>F. fujikuroi</i>	23	17.4-36.0

*1 非検出

*2 検出下限値は 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$

*3 検出下限値は 0.1 mg/kg

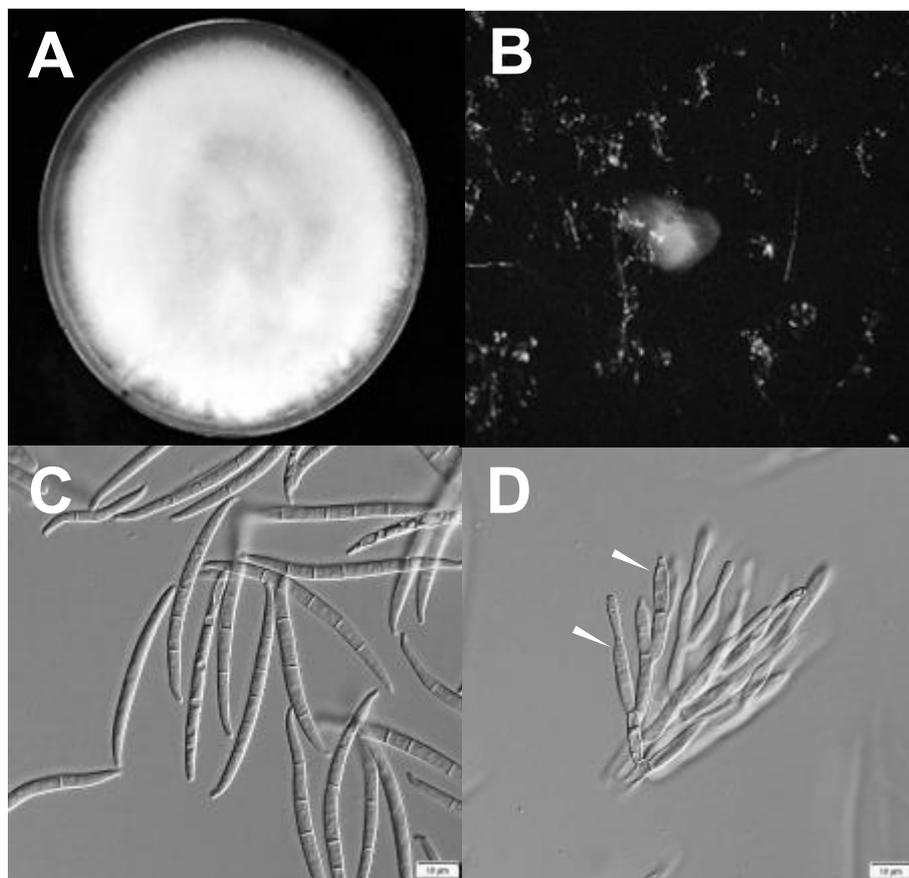


図1 *Fusarium* 属 (*F. fujikuroi*: Zea008-17) の形態

A) コロニー形態 (1週間), B) 分生子座, C) 分生子, D) フィアライドと未成熟分生子 (白矢印)

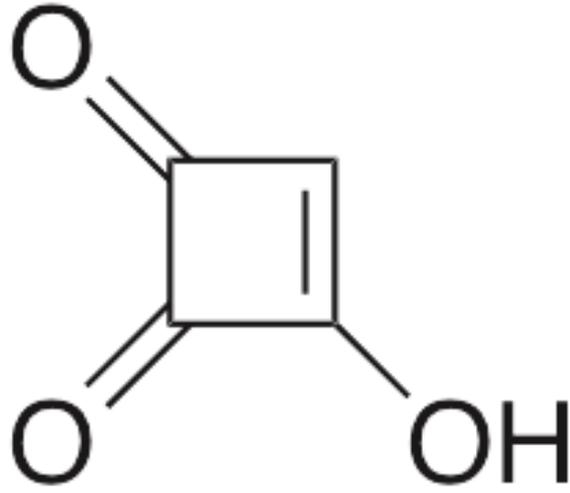


図2 モニリフォルミン(MON)化学構造式

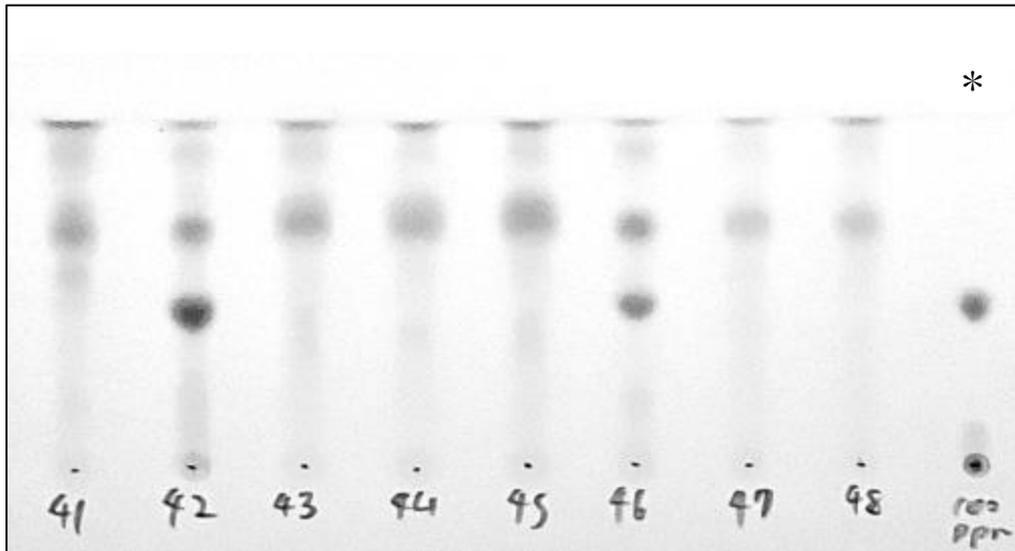


図3 256 nm 下での TLC 展開図の例

* : 陽性対象は 100 mg/L 濃度の MON を展開

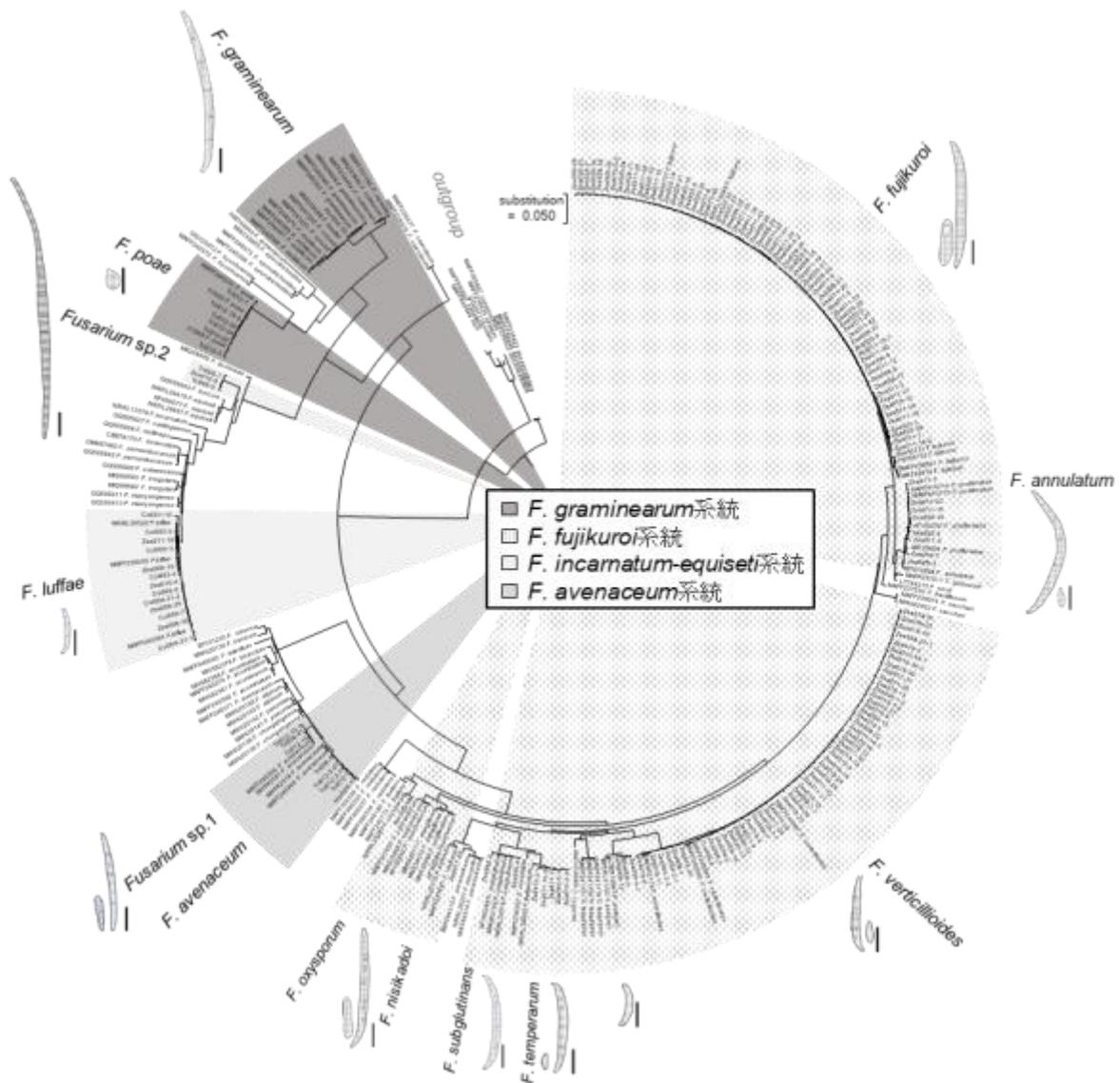


図4 *EF-1α* 遺伝子の塩基配列に基づいた *Fusarium* 属菌の最尤系統樹

本研究で識別された系統は灰背景で表示。各系統の大孢子および小孢子形態の線画に示したスケールバーは全て 10 μm の長さを示す。

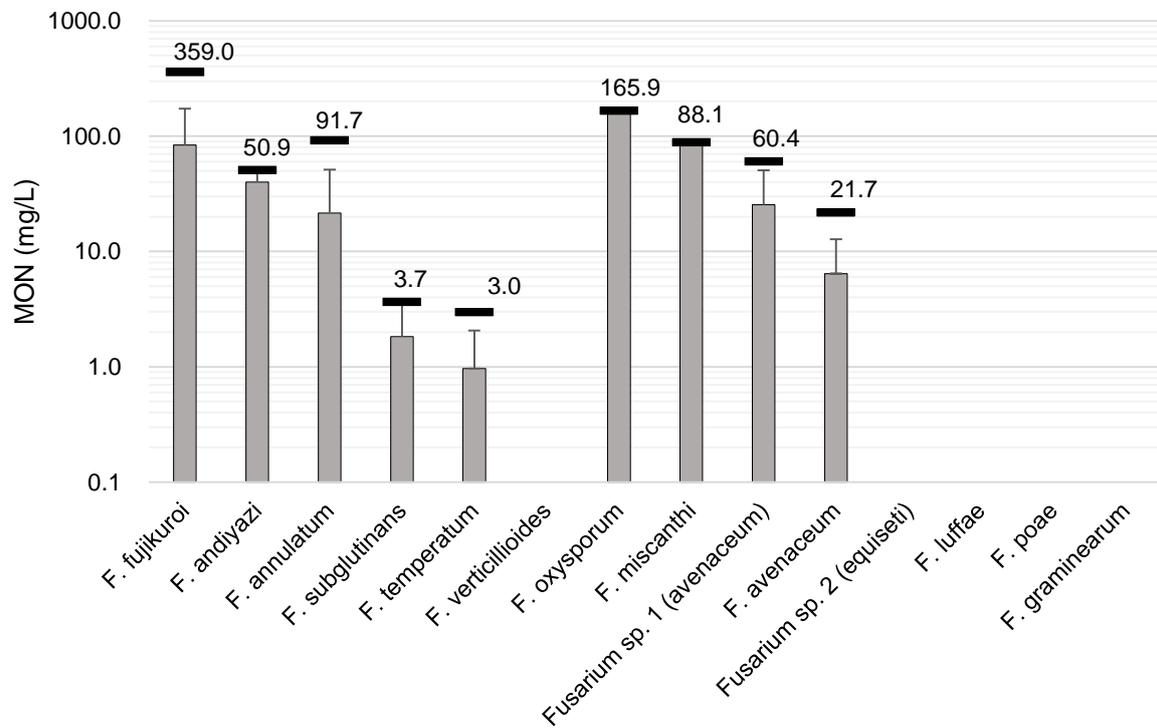


図5 本研究で分離された *Fusarium* 属菌株の MON 産生量の比較

縦軸は対数表示である。縦棒は平均値を示し、横棒と数字は最大値を示す。T 字のバーは標準偏差を示す。検出下限値は 0.1 mg/L。