

# 炭素源資化性分析による糸状菌の同定

小沼ルミ<sup>\*1)</sup>、飯田孝彦<sup>\*1)</sup>、宮崎巖<sup>\*1)</sup>、浜野智子<sup>\*1)</sup>、瓦田研介<sup>\*1)</sup>

## 1. はじめに

糸状菌を含む真菌類の発生は住環境、食品、臨床、工業製品など広い分野で問題となっており、特にアレルギー原因真菌、マイコトキシン産生菌、病原性真菌、材料劣化原因菌などは菌種名を把握することが重要とされている。糸状菌の同定は、従来から形態観察を基本とするため、専門的な知識と習熟が必要であり、初心者が広範囲の糸状菌を対象に信頼性の高い同定を行うことは困難である。そこで、顕微鏡を用いた形態観察と併用し、95種類の炭素源を用いた糸状菌の資化性分析による同定を試みた。

## 2. 実験方法

供試菌として由来および属・種の明らかな菌株、*Cladosporium* 属 5 種 7 株、*Penicillium* 属 18 種 18 株、*Aspergillus* 属 16 種 16 株の計 3 属 39 種 41 株を用いた。炭素源資化性分析とは、供試菌による 95 種類の炭素源資化性パターンを資化性データベースで照合し、培養 72 時間以降では適合率 65%以上で菌種が決定するシステムである。まず供試菌株を麦芽エキス寒天平板培地（以後 MEA）に接種し、26、5~10 日間培養後得られた分生子の懸濁液を 96 ウェルマイクロプレートの各ウェルに 100  $\mu$ L ずつ接種し、培養時間 48 時間、72 時間、96 時間ごとにプレートリーダーによって資化性パターンを読み取り、適合率を求めた。形態観察による同定方法として MEA に生育したコロニーの大きさや色調を目視にて観察した後、顕微鏡を用いた分生子形成細胞等の観察を行った。

## 3. 結果・考察

炭素源資化性分析の結果、*Cladosporium* 属は 5 種中 3 種、*Penicillium* 属は 18 種中 14 種、*Aspergillus* 属は全ての菌種で適合率が 65%に達せず、菌種の決定に至らなかった。そこで、属・種の明らかな菌株 3 属 39 種 41 株を用いて資化性データベースを補正し、再度資化性分析を行った（図 1）。その結果 *Cladosporium* 属 4 菌種で培養 72 時間以降の適合率が 75%を上回ることを確認できた。同様の方法で *Penicillium* 属、*Aspergillus* 属についても適合率を増加させることができた。また図 1 から、*C. macrocarpum* や *C. herbarum* では、培養 48 時間で発育が弱く資化性データが得られなかったため、適合率が求められなかった。培養 48 時間で適合率にばらつきが見られる理由として、菌種による発育速度の違いが考えられる。なお、*Aspergillus* 属に含まれる好稠性の 5 菌種や *Cladosporium* 属の 1 菌種では MEA による発育が弱く、資化性分析に必要な量の分生子が得られないことがわかった。

## 4. まとめ

炭素源資化性分析による糸状菌の同定を行った結果、資化性データベースとの照合により適合率の低い属・種が認められたが、供試菌株によるデータベース補正の結果、適合率を増加させて、同定精度を向上させることができた。

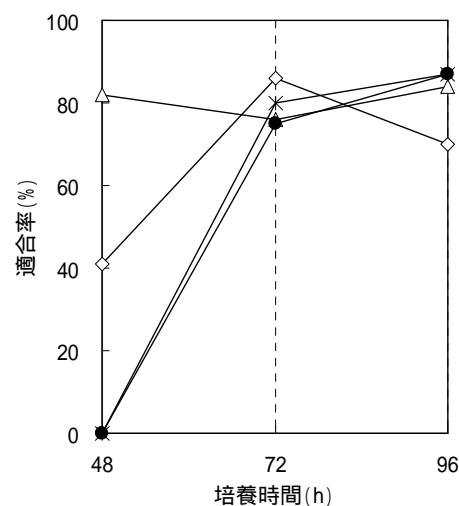


図1 補正後の資化性分析における培養時間と適合率の関係

◇ *Cladosporium cladosporium*  
△ *C. sphaerospermum*  
\* *C. macrocarpum*  
● *C. herbarum*

\*1) 資源環境グループ