

もやしとその原料の腐敗・汚損菌類

佐 藤 豊 三

農業生物資源研究所

1. はじめに

もやしは主にリョクトウ（緑豆, mung bean, green gram, *Vigna radiata* (L.) Wilczek.）, ケツルアズキ（black matpe, black gram, *Vigna mungo* (L.) Hepper.）またはダイズ（大豆, soybean, *Glycine max* (L.) Merr.）を原料として製造され、日本を含む東アジアに一般的な生鮮食品である。もやしは安価な野菜として年間を通して中国・韓国・日本料理などによく利用されている。2008 年当時、国内では約 150 の生産者により 38 万トン以上のリョクトウもやしが生産された（沖縄税関, 2010）。近年、原料豆は全てアジア諸国から輸入されており、例えば、2009 年には 55,534 トン（全輸入量の約 90%）のリョクトウおよびケツルアズキが中国から、残りの 6,258 トン（同約 10%）がミャンマー、タイ、マレーシアおよびインドから輸入された（沖縄税関, 2010）。一方、毎年数トンの原料ダイズが主に中国とアメリカ合衆国から輸入されてきた（青木ら, 2000）。

もやし製造工程で原料豆は 25 ～ 30℃のもとで十分な水と湿度を与えられる。このような条件は、植物病原細菌・菌類等の増殖にとって好適である。*Cylindrocephalum* sp. によるリョクトウもやしの腐敗がアメリカ合衆国から報告されており（Cody and Maloy, 1984）、また、青木ら（1986）は国内で初めて 2 種の細菌、*Erwinia carotovora* (= *Pectobacterium carotovorum*) および *Pseudomonas fluorescens* Biotype II とともに、4 種の菌類、*Colletotrichum* sp., *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. および *Rhizoctonia solani* J. G. Kühn がリョクトウやケツルアズキのもやしに腐敗・汚損を引き起こすことを明らかにした。続いて、リョクトウやケツルアズキのもやしから分離した *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., *Fusarium oxysporum* Schltdl., *F. solani*, *M. phaseolina* および *Rhizopus oryzae* Went & Prins. Geerl., また、ダイズもやしから分離した *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. ならびに *Fusarium graminearum* Schwabe を用いてマイクロ波と蒸気を併用した殺菌法が開発された（青木ら, 2000）。他方、もやしの腐敗・汚損を抑える目的で *A. alternata*, *C. gloeosporioides* および *F. oxysporum* に対する allylisothiocyanate の抗菌活性が調べられた（古谷ら, 2002）。さらに、韓国において *Fusarium moniliforme* J. Sheld., *F. oxysporum*, *F. solani* および *Pythium deliense* Meurs がダイズもやしの腐敗菌として報告された（Oh and Park, 1996; Yun and Kim, 2003）。

以上のように国内外で腐敗あるいは汚損したもやしから様々な菌類が検出・分離されているが、最近、農業生物資源ジーンバンクに登録・保存されていたその他の国内産菌株とともに、それらの形態およびバーコード DNA に基づく同定が行われ、腐敗防止技術の開発や後発研究に利用できる菌株が提示された（Sato *et al.*, 2014）。本マニュアルでは、もやし製造の参考資料とするため、Sato *et al.* (2014) に基づきリョクトウ、ケツルアズキおよびダイズもやしとその原料の腐敗・汚損菌を検出・分離・同定する手法を解説するのみならず、実際に分離された各菌種の形態と DNA 塩基配列情報について紹介し、該当菌株を示す。また、それら菌類の既往の研究報告に基づき、もやし製造や植物保護に対するリスクのほか、健康に及ぼす影響について考察を加える。

2. 腐敗・汚損菌の検出・分離方法

腐敗・汚損もやし切片あるいはその原料豆を 70% エタノールに約 10 秒間浸漬後、1% 次亜塩素酸ナトリウム溶液に約 1 分間浸漬したものをブドウ糖加用ジャガイモ煎汁寒天平板培地 (PDA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) に置床し、1~2 日培養する。分離源から伸長した単菌糸をかき取り、あるいは分離源上や周辺培地上に形成された分生子などを用いて単孢子分離を行い、PDA 斜面培地に移植して純粋菌株を得る。同定した代表菌株は農業生物資源研究所の農業生物資源ジーンバンク (MAFF) など公的菌株保存機関に寄託することが望ましい。分離菌株の直径約 6 mm の菌叢ディスクを PDA 平板に置床し、25℃暗黒下で 7-14 日間培養した後、形成されたコロニーの表裏を観察・撮影する。*Fusarium* 属菌の観察には、表面に滅菌ろ紙片を置いた Synthetic low nutrient agar (SNA, Aoki & O'Donnell, 1999) を、その他のカビの観察には PDA 培地を用いる。分離菌株の PDA スラントからかき取った含菌糸寒天片を SNA または PDA 平板培地 (直径約 90 mm) に移植する。25℃暗黒下で 7-14 日間培養した後、子実体を形成していない菌株は 25℃、点灯した近紫外線ランプ (Toshiba FL20SBLB, peak emission 352 nm) の約 20 cm 下でさらに培養を続ける。*Rhizoctonia* 属菌の菌糸細胞内の核を観察するには、萩原ら (2008) に従って DAPI 染色を行い、蛍光顕微鏡で観察する。各菌株 30~50 個の増殖器官を光学顕微鏡の撮影装置に付随する 2 点間距離計測ソフトなどにより大きさ (長さ・幅) を測るとともに撮影する。立体的な構造の子実体は前処理せずに低真空タイプの走査型電子顕微鏡により撮影する。調査したデータを基に表 1 および 2 に挙げた文献や本マニュアルとの形態比較により菌株を同定する。

3. 腐敗・汚損菌の DNA 塩基配列解析および BLASTN 検索 (分子同定)

まず、いずれの分離菌株についても 5.8S rRNA 遺伝子を含む rRNA 遺伝子の ITS1 および ITS2 領域 (ITS) の塩基配列を解析する。*Colletotrichum*, *Aspergillus* および *Penicillium* 属の菌株については β -tubulin-2 遺伝子 (TUB2) の部分塩基配列も以下の手順で解析する。Sato & Moriwaki (2013) に準じてゲノム DNA を抽出し、両 DNA 領域を Sato & Moriwaki (2013) に倣って塩基配列を解析する。また、*Fusarium* 属の菌株については O'Donnell *et al.* (2004) に従い histone H3 遺伝子 (HIS3) の部分塩基配列を解析する。各 DNA 領域・遺伝子の PCR 増殖・ダイレクトシーケンス用プライマーを以下に示す。

rRNA (DNA) ITS1-5.8S rRNA -ITS2 (ITS)

ITS5: GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG

ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC

β -tubulin-2

PCR 増幅用

T1: AACATGCGTGAGATTGTAAGT

β t2b: ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC

ダイレクトシーケンス用 (右図参照)

T1: AACATGCGTGAGATTGTAAGT-3'

TB5: GGTAACCAGATTGGTGCTGCCTT

TBCA-2: GCACGTACTTGTTGCCGGA

β t2b: ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC

T1 → → TB5 → → → → → →

0 280 510 950 bp

← ← ← ← ← TBCA-2 ← ← ← ← β t2b

histone H3

H3F1: TGGCAAGGCCCTCGCAAGC

H3R1: GCGTGTACATCCAATCCAA

なお最近では、プライマー情報などとともに生菌株あるいは抽出ゲノム DNA を提供して塩基配列解析を専門業者に委託しても比較的安価にデータが得られる。

このマニュアルに記述した菌株の塩基配列データは、農業生物資源研究所農業生物資源ジーンバンクの Web 菌株カタログの各菌株詳細ページ (http://www.gene.affrc.go.jp/databases-micro_search_en.php) または DDBJ/EMBL/GenBank のデータベースに掲載されている (アクセシオンは表 1, 2 参照)。塩基配列データは形態による同定結果を確認するため NCBI のウェブサイトにある “Standard Nucleotide BLAST” を利用して類似度 (相同性) 検索を行う。それぞれの BLASTN 検索において 99-100% の類似度を示す信頼度の高いアクセシオンとその菌種名が形態による同定結果と一致しているか確認する。一致しない場合は、形態同定を見直すか BLASTN 検索の結果を再検討する。

4. 腐敗・汚損の特徴と原料の産地

腐敗・汚損したリョクトウもやしの写真は図 1-A, 図 2-A, 図 5-A, 図 7-A, 図 8-A, 図 9-A, 図 10-A, 図 15-A, 図 17-A, 図 18-A に示した。これらは全て中国産の原料豆から生じたものである。図 3-A に挙げた帯状褐変はタイ国産のケツルアズキに発生した腐敗である。腐敗・汚損したダイズ原料とそのもやしは図 19-A, 図 21-A, 図 22-A, 図 23-A に掲げた。アメリカ合衆国から原料供給会社が試験輸入した 2 例 (図 21-A, 図 22-A) のほかは全て中国産の原料である、次項で各腐敗・汚損の特徴は分離菌の記載とともに説明する。

5. リョクトウ・ケツルアズキから分離される菌類 (カビ)

これまで 15 属 18 種の菌類が国内のリョクトウ (*V. radiata*) またはケツルアズキ (*V. mungo*) もやしとその原料から分離されている。各種の形態を以下に記述し、BLASTN 検索の結果などを表 1 に示す。

Alternaria alternata (Fr.) Keissl. : 暗褐色～黒色に腐敗した幼根 (図 1-A) から分離される。培養コロニーの表側は綿毛状灰オリーブ色～褐色、裏面は表面より暗色 (図 1-B, C)。分生子は連鎖し倒棍棒形で縦横、しばしば斜めの隔壁をもち、淡褐色ないし褐色、表面は細かいいぼ状突起に覆われる、大きさ $22-87 \times 8-13.5$ (平均 52.4×11.0) μm , くちばし状突起は長さ $3-35.6$ (平均 14.4) μm (図 1-D)。

Alternaria sp. : 分生子は *A. alternata* のものに似ており、大きさ $11.5-31.6 \times 7-13.6$ (平均 21.3×10.5) μm , くちばし状突起は長さ $3.8-9.4$ (平均 6.4) μm (図 1-E)。

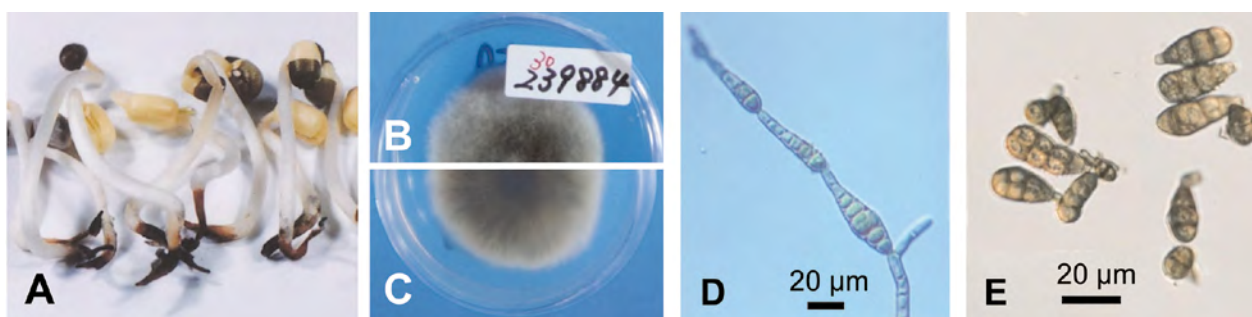


図 1. 腐敗・汚損リョクトウもやし (A) とその分離菌

A: 褐変した幼根, B-D: A の根から分離された *Alternaria alternata* (MAFF 239884), PDA 培養コロニー表面 (B) と裏面 (C) および分生子 (D), E: *Alternaria* sp. (MAFF 243775) の分生子。

Arthrinium arundinis (Corda) Dyko & B. Sutton : 白色菌糸の絡んだ淡褐色の胚軸および幼根から分離される (図 2-A)。培養コロニーの表側はまばらな白色気生菌糸があり、クリーム色～淡黄色、裏面は表面より暗色 (図 2-B, C)。分生子柄は円筒形、無色、表面平滑、幅 $0.5 \mu\text{m}$ 長さ $4-14$ (-34) μm 。分生子は無隔壁、レンズ形、表面平滑、暗褐色で周縁部はクリーム色、大きさ $4.8-7.2 \times 3.6-4.6$ (平均 5.8×4.0) μm (図 2-D, E)。

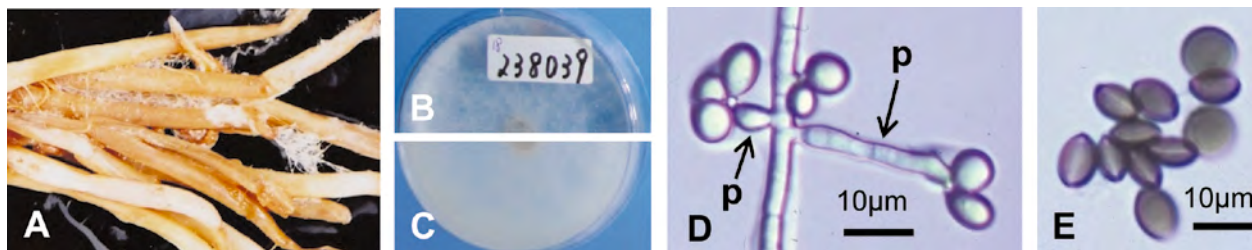


図2. 腐敗・汚損リヨクトウもやし(A)とその分離菌

A: 白色菌糸が絡んだ褐変腐敗もやし, B-E: 腐敗もやしAから分離された *Arthrrium arundinis* (MAFF 238039), PDA 培養コロニー表面 (B) と裏面 (C), D: 分生子母細胞 (左側の p), 分生子柄 (右側の p) と未熟分生子, E: 成熟分生子.

Aspergillus flavus Link : 培養コロニーの表側は黄緑色粉末状を呈する (図 3-A). 頂のうは放射状に密生するフィアライド (分生子形成細胞) を持ち, 分生子柄は円筒形で表面は粗く無色, 幅 $12\ \mu\text{m}$ (図 3-B, C). 分生子は無隔壁で球形ないし亜球形, 淡黄色, 大きさ $3.4\text{-}4.8$ (平均 4.1) μm (図 3-C).

Aspergillus niger Tiegh. : 培養コロニーの表側は黒褐色～黒色粉末状を呈する (図 3-D). 分生子柄は長く円筒形無色, 表面平滑, 幅 $14\mu\text{m}$ 長さ $200\mu\text{m}$ 以上, 分生子頭は亜球形で直径 $47\text{-}90\mu\text{m}$. 分生子は無隔壁で球形, 細かいいぼに覆われる, 淡褐色～褐色, 直径 $3.3\text{-}4.8$ (平均 4.1) μm (図 3-E).

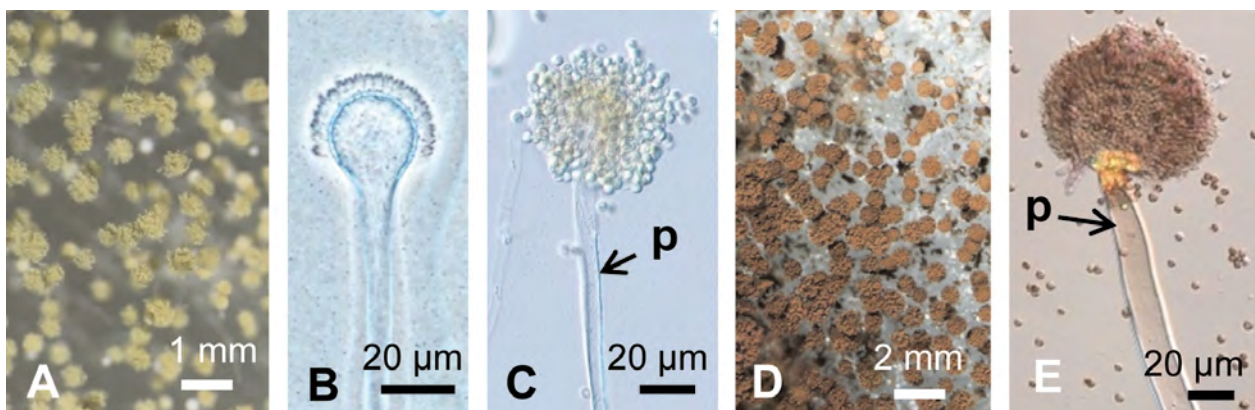


図3. 腐敗・汚損リヨクトウもやしの分離菌

A-C: *Aspergillus flavus* (MAFF 243495), A: 分生子頭 (PDA 平板上), B: 頂のう (位相差顕微鏡像), C: 分生子柄 (p) と分生子, D, E: *Aspergillus niger* (MAFF 243496), D: 分生子頭 (PDA 平板上), E: 分生子柄 (p) と分生子 (A, D: 実体顕微鏡像).

Chaetomium sp. : 培養コロニーの表側は淡橙色～黄色でベルベット状の気生菌糸に被われ, 裏面はチョコレート褐色で周縁が黄褐色を呈する (図 4-A, B). 子のう殻は球形ないし亜球形, 暗色, 周囲に湾曲した付属糸を持ち, 大きさ $72\text{-}94 \times 65\text{-}75$ (平均 81.0×70.0) μm (図 4-C). 子のう胞子は子のう殻の口孔外に連なって押し出され, 無隔壁でレモン形ないし楕円形, 灰緑色, 大きさ $8.4\text{-}11.6 \times 4.8\text{-}6$ (平均 10.0×5.4) μm (図 4-D).

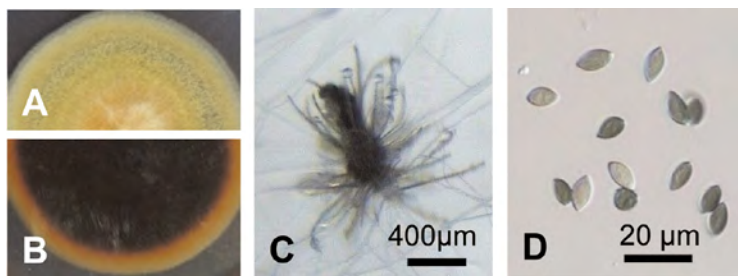


図4. 腐敗・汚損リヨクトウもやしから分離された菌類

A-D: *Chaetomium* sp. (MAFF 243477), PDA 培養コロニー表面 (A) と裏面 (B), C: 子のう殻 (実体顕微鏡像), D: 子のう胞子.

Colletotrichum chlorophyti S. Chandra & Tandon : 褐色斑の生じた胚軸 (図 5-A) から分離される。培養コロニーの表側は灰色の気生菌糸で密に被われ、裏面も灰色を呈する (図 5-B, C)。分生子層には褐色の剛毛があり (図 5-D)、分生子は鎌型で単細胞、無色、油滴を含み、大きさ $19.8\text{--}26.5 \times 3.6\text{--}5.2$ (平均 23.7×4.5) μm (図 5-E)。

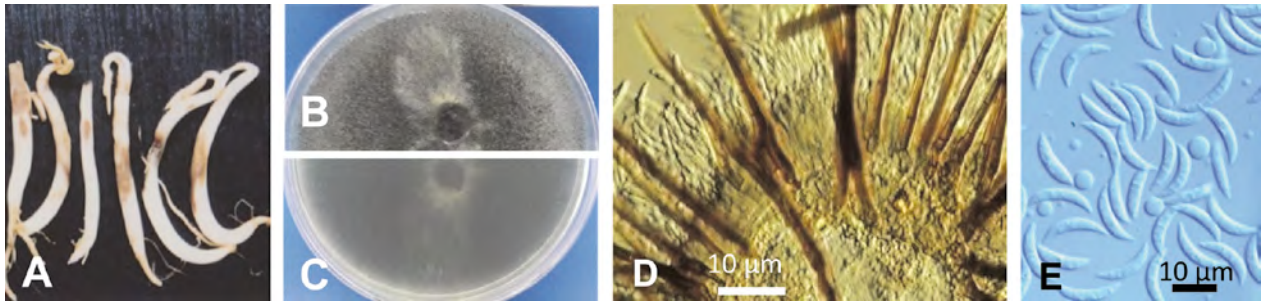


図 5. 腐敗・汚損リョクトウもやし (A) とその分離菌

A: 褐色斑の生じた胚軸, B-E: *Colletotrichum chlorophyti* (MAFF 305748), PDA 培養コロニー表面 (B) と裏面 (C), D: 分生子層の剛毛, E: 分生子。

Colletotrichum nymphaeae (Pass.) Aa : 褐色斑の生じた胚軸 (図 6-A) から分離される。培養コロニーの表側は白色～淡灰色綿毛状の気生菌糸で被われ、中央部に黄橙色～橙色の分生子塊が生じる。裏面は淡橙色を帯びた淡灰色を呈する (図 6-B ~ D)。分生子層には剛毛がなく、分生子は長楕円形ないし紡錘形で単細胞、無色、油滴を含み、大きさ $10.1\text{--}16.6 \times 3.6\text{--}5.6$ (平均 12.8×4.7) μm (図 6-E)。

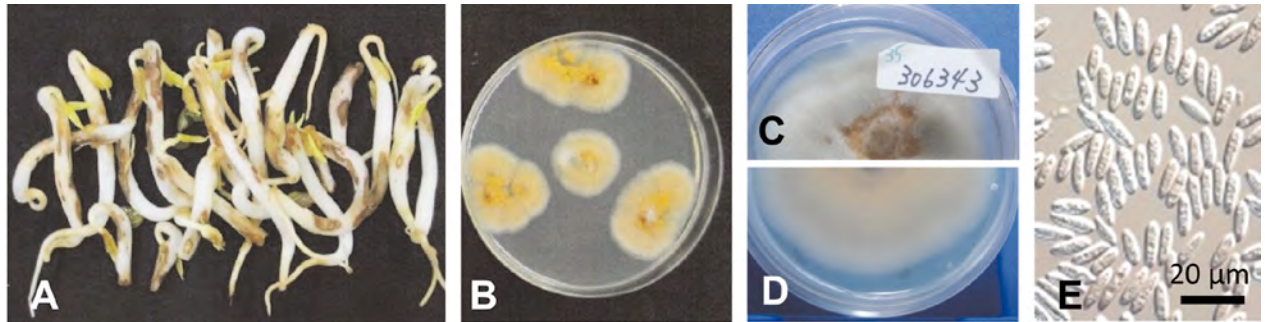


図 6. 腐敗・汚損リョクトウもやし (A) とその分離菌

A: 褐色斑の生じた胚軸, B-E: *Colletotrichum nymphaeae* (MAFF 306343), B: A から分離平板に生育したカビ, PDA 培養コロニー表面 (C) と裏面 (D), E: 分生子。

Fusarium equiseti (Corda) Sacc. : 胚軸が帯状に褐変したケツルアズキ (図 7-A) から分離される。培養コロニーの表側は白色～淡橙色のまばらな気生菌糸に被われ、裏面は表よりやや濃色を呈する (図 7-B, C)。

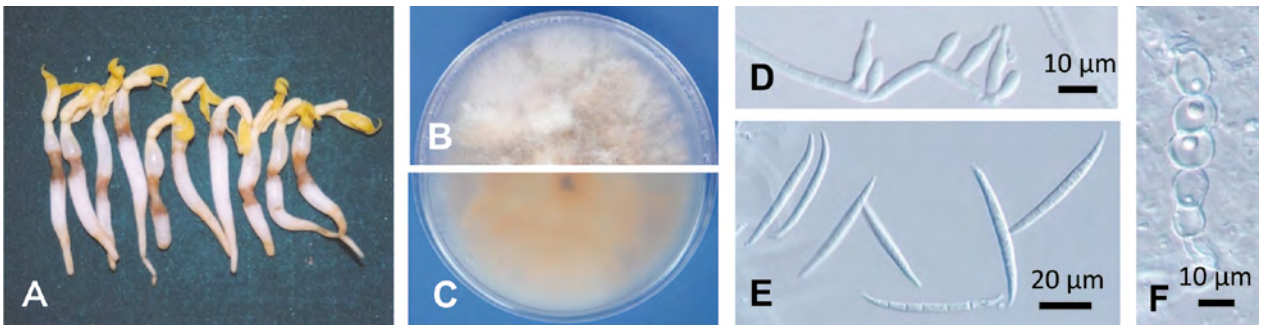


図 7. 腐敗・汚損ケツルアズキもやし (A) とその分離菌

A: 帯状褐変を呈した胚軸, B-F: A から分離された *Fusarium equiseti* (MAFF 239547), PDA 培養コロニー表面 (B) と裏面 (C), D: モノフィアライド, E: 大分生子, F: 厚壁胞子。

大分生子形成細胞はモノフィアライドで倒卵形ないし倒棍棒形 (図 7-D)．大分生子は先端が口吻状に突出し湾曲した鎌形で基部に脚胞をもち、4-6 隔壁、無色、大きさ $36.5-53.6 \times 2.8-4.5$ (平均 47.5×3.6) μm (図 7-E)．厚壁胞子も形成され、0-1 隔壁をもち連鎖する (図 7-F)．

Fusarium oxysporum Schltdl. : 褐変した初生葉 (図 8-A) から分離される．培養コロニーの表側は白色綿毛状の気生菌糸で密に被われ、裏面は中央部が濃紫色～淡紫色で周縁部は白色を呈する (図 8-B, C)．小分生子柄は短く枝分かれしない (図 8-D)．小分生子は楕円形、円筒形、卵形ないしボート形で隔壁はなく無色．大きさ $4.5-12 \times 2.5-4$ (平均 8.5×3.5) μm (図 8-D, F)．厚壁胞子は菌糸先端あるいは菌糸の細胞間に形成され、表面平滑で無色 (図 8-E)．大分生子はわずかに湾曲した鎌形で主に 3 隔壁をもち無色、大きさ $20.6-47 \times 2.8-4$ (平均 28.6×3.4) μm (図 8-F)．

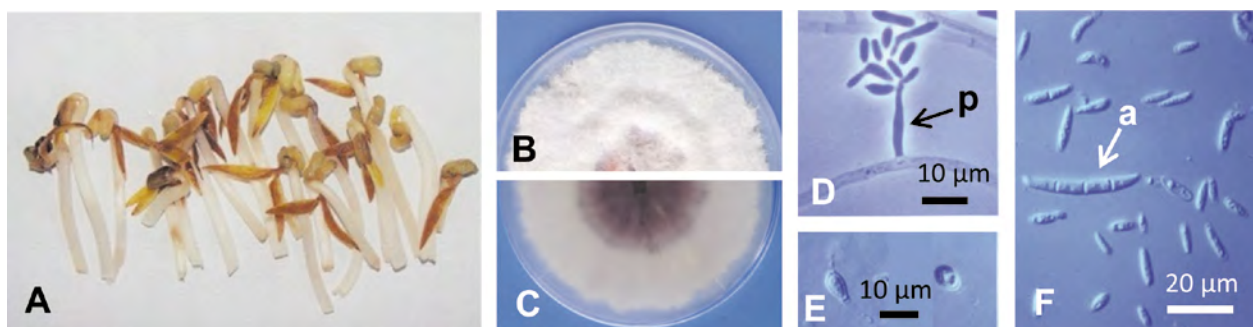


図 8. 腐敗・汚損リョクトウもやし (A) とその分離菌

A: 初生葉の褐変, B-F: A から分離された *Fusarium oxysporum* (MAFF 239895), PDA 培養コロニー表面 (B) と裏面 (C), D: 小分生子柄 (p) および小分生子 (位相差顕微鏡像), E: 厚壁胞子, F: 大分生子 (a) と小分生子.

Fusarium sp. : 大分生子は先端が尖りわずかに湾曲した鎌形ないしボート形で 3 隔壁をもち、無色、大きさ $15-26.2 \times 3.1-3.9$ (平均 20.0×3.6) μm .

Geotrichum candidum Link : 部分的に褐色の斑点が生じた胚軸と幼根 (図 9-A) や原料豆から分離される．培養コロニーの表側は白色の気生菌糸で被われ、裏面は白色～クリーム色を呈し (図 9-B, C), 強いフルーツ臭を発する．一次菌糸は二又あるいは三又状に分枝しながら伸張し、無色で表面平滑、太さは 8-10 (平均 8.7) μm (図 9-D)．分生子形成様式は菌糸の隔壁部で切れてそのまま分散する分節型で、分生子は短い円筒形ないし広楕円形、無色、表面平滑、大きさ $4-11 (-15.2) \times 3.4-8$ (平均 9.0×4.8) μm (図 9-E)．

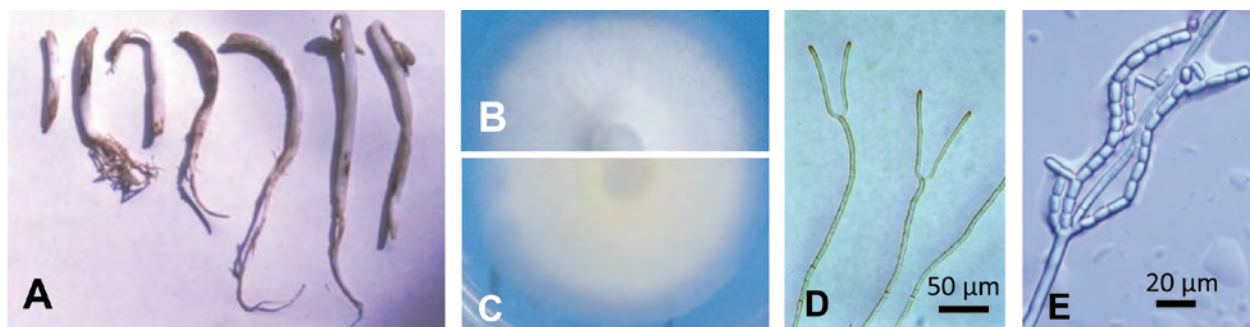


図 9. 腐敗・汚損リョクトウもやし (A) とその分離菌

A: 褐変した胚軸と幼根, B-E: A から分離された *Geotrichum candidum* (MAFF 239885), PDA 培養コロニー表面 (B) と裏面 (C), D: 二又分枝を呈する菌糸, E: 菌糸の分節により形成された分生子.

Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid. : 暗褐色～黒色に腐敗したもやし (図 10-A) や原料豆からしばしば分離される。培養コロニーは 35℃前後の高温で生育が早く、表側は淡灰色の気生菌糸で密に被われ、裏面は黒色を呈する (図 10-B, C)。分生子殻は黒色亜球形で直径は 250 μ m 以下、微小菌核は亜球形ないし広楕円形で直径は 150 μ m 以下 (図 10-D)。分生子は隔壁がなく、真直か時にやや湾曲し無色円筒形ないし長紡錘形、大きさ 13.6-24.1 \times 4.7-6.8 (平均 20.0 \times 5.6) μ m (図 10-E)。

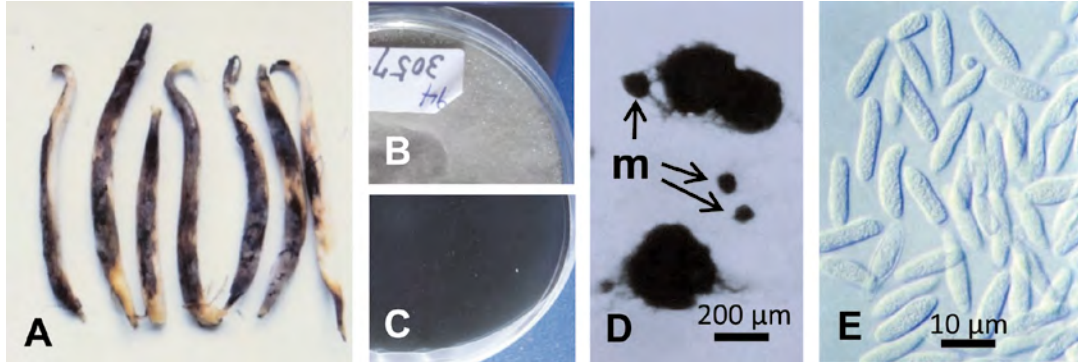


図 10. 腐敗・汚損リョクトウもやし (A) とその分離菌

A: 黒変した胚軸, B-E: A より分離された *Macrophomina phaseolina* (MAFF 305746), PDA 培養コロニー表面 (B) と裏面 (C), D: 分生子殻および微小菌核 (m), E: 分生子。

Phoma sp. : 培養コロニーの表側は淡灰色～白色の気生菌糸で被われ、裏面は中央部が淡灰色を帯び、白色～クリーム色を呈する (図 11-A, B)。分生子殻は亜球形で暗褐色の細胞で縁取られた一つの口孔をもつ (図 11-C)。分生子はレモン形ないし広楕円形で、無色、表面平滑、大きさ 2.7-4.9 \times 2-3.7 (平均 3.5 \times 2.7) μ m (図 11-D)。

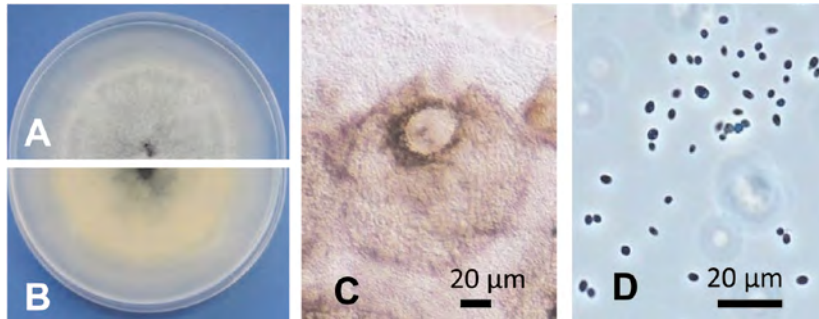


図 11. 腐敗・汚損リョクトウもやしの分離菌

A-D: *Phoma* sp. (MAFF 243774), PDA 培養コロニー表面 (A) と裏面 (B), C: 分生子殻, D: 分生子 (位相差顕微鏡像)。

Phomopsis phaseoli (Desm.) Sacc. var. *phaseoli* (*Diaporthe phaseolorum* (Cooke & Ellis) Sacc. var. *phaseolorum*) : 培養コロニーの表側は淡褐色～白色の気生菌糸で密に被われ、黒い粒点 (分生子殻) が散在する。裏面は淡褐色～ベージュ色を呈する (図 12-A, B)。分生子殻は子座上に密集して形成され、黒色で口孔より分生子粘塊を逸出する (図 12-C)。 α 型分生子は隔壁がなく楕円形ないし長楕円形または紡錘形で無色、通常 2 油滴を含み、大きさ 4.9-7 \times 2.1-3 (平均 6.0 \times 2.6) μ m (図 12-D), β 型分生子は見られない。

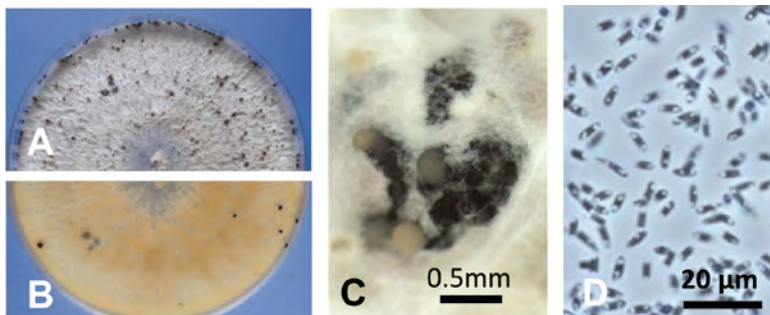


図 12. 腐敗・汚損リョクトウもやしの分離菌

A-D: *Phomopsis phaseoli* var. *phaseoli* (MAFF 242916), PDA 培養コロニー表面 (A) と裏面 (B), C: 黒い分生子殻から逸出した分生子塊, D: 分生子 (位相差顕微鏡像)。

Phomopsis sp. (*Diaporthe* sp.): 培養コロニーの表側は白色の気生菌糸で密に被われ、裏面は淡黄褐色で暗褐色のセクター（扇状変異部）を伴う（図 13-A, B）。 α 型分生子は隔壁がなく楕円形ないし長楕円形または紡錘形で無色、油滴を含み、大きさ $6-7.7 \times 2-3.1$ （平均 7.0×2.5 ） μm （図 13-C）， β 型分生子は見られない。

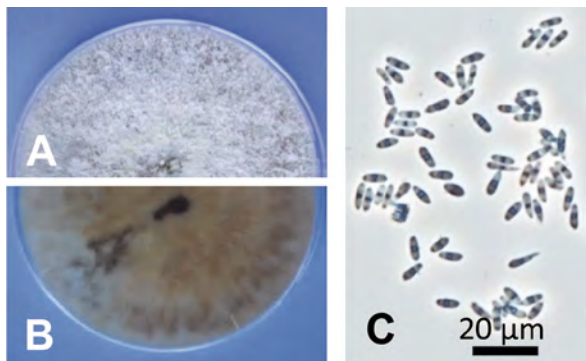


図 13. 腐敗・汚損リョクトウもやしの分離菌

A-C: *Phomopsis* sp. (MAFF 243678), PDA 培養コロニー表面 (A) 裏面 (B), C: 分生子（位相差顕微鏡像）。

Trichoderma sp.: 培養コロニーの表側周縁部は淡灰緑色の気生菌糸で蜜に被われ、裏面も表とほぼ同色（図 14-A, B）。分生子柄は円筒形で先端ほど細く無色、表面平滑、幅 $3-3.9 \mu\text{m}$ 、長さ $54-74 \mu\text{m}$ 。フィアライド（分生子形成細胞）は三又状に生じ、無色で表面平滑、大きさ $6.5-14.8 \times 2.6-3.3$ （平均 10.0×3.0 ） μm （図 14-C）。分生子はレモン形ないし広楕円形で無色、表面平滑、大きさ $4.5-6.3 \times 2.9-4.1$ （平均 5.4×3.5 ） μm （図 14-D）。

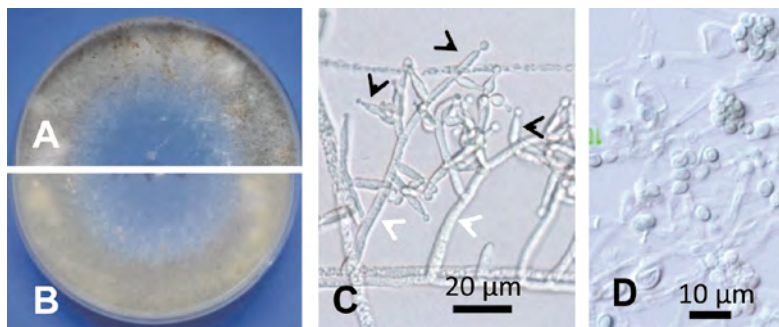


図 14. 腐敗・汚損リョクトウもやしの分離菌

A-D: *Trichoderma* sp. (MAFF 242918). PDA 培養コロニー表面 (A) と裏面 (B), C: 分生子柄（白矢尻）とフィアライド（黒矢尻），D: 分生子。

Rhizoctonia solani J.G. Kühn（菌糸融合群 AG-4, 培養型 HG-I）：部分的に褐変したもやし（図 15-A）あるいは原料豆から分離される。培養コロニーの表側は淡褐色～帯赤褐色で、褐色の色素を培地全体に分泌する（図 15-B）。菌糸細胞は多核で主軸菌糸に対してほぼ直角に分枝が伸び、分枝の基部で菌糸がくびれ、分枝の近くに隔壁が形成される。太さ $4.4-10.3$ （平均 7.7 ） μm （図 15-C）。

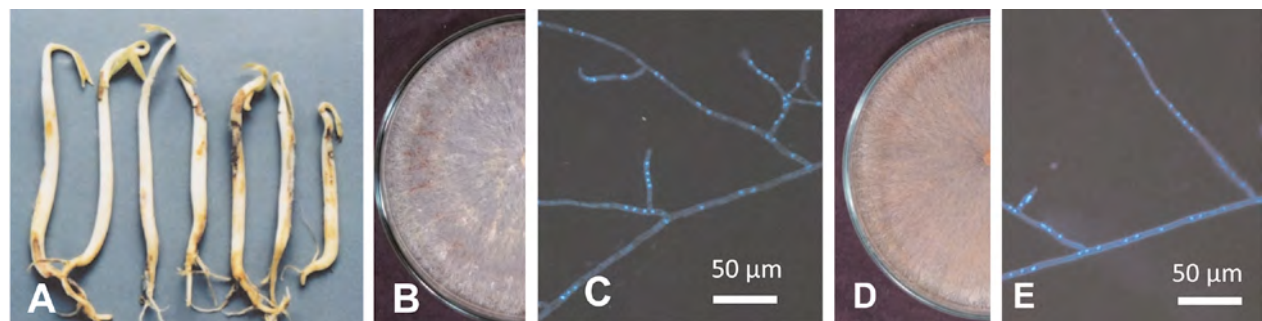


図 15. 腐敗・汚損リョクトウもやし (A) とその分離菌

A: 褐変した胚軸と幼根, B, C: A から分離された *Rhizoctonia solani* AG-4, HG-I (MAFF 239817), B: PDA 培養コロニー表面, C: DAPI 染色した菌糸中の核（淡青色の点）, D, E: *Rhizoctonia solani* AG-4, HG-III (MAFF 241477), D: PDA 培養コロニー表面, E: DAPI 染色した菌糸中の核（淡青色の点）(C, E: 蛍光顕微鏡像, B～E: 窪田昌春氏原図)。

Rhizoctonia solani J.G. Kühn (菌糸融合群 AG-4, 培養型 HG-III) : 培養コロニーの表側は気生菌糸に乏しくやや霜降り状, 淡赤褐色～帯赤褐色で, 羽毛状の菌糸に覆われた褐色の微小菌核を放射状に形成する (図 15-D). 菌糸細胞は多核で主軸菌糸に対してほぼ直角に分枝が伸び, 分枝の基部で菌糸がくびれ, 分枝の近くに隔壁が形成される. 太さ 5.4-10.3 (平均 7.7) μm (図 15-E).

Globisporangium ultimum var. *ultimum* (Trow) Uzuhashi, Tojo & Kakish. (*Pythium ultimum* Trow var. *ultimum*) : 培養コロニーの表側は白色でまばらな気生菌糸に被われ, 裏面も全体的に白色を呈する (図 16-A, B). hyphal swellings は菌糸細胞間あるいは菌糸先端に形成され, 広楕円形, 球形またはレモン形で無色, 表面平滑, 直径 (17.5-) 19.1-24.1 (-26.4) (平均 20.7) μm (図 16-C). 造卵器は菌糸先端か時に菌糸細胞間に形成され, 球形で表面平滑, 直径 20.2-23.6 (平均 21.9) μm . 造精器はのう状で造卵器当たり 1-3 個側着し, ほとんどの場合同菌糸性または異菌糸性, 直径 10.3-12.1 \times 5.5-8.7 (平均 10.9 \times 7.6) μm (図 16-C).

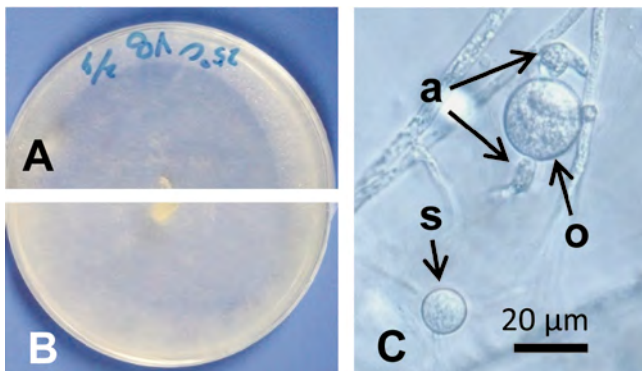


図 16. 腐敗・汚損リョクトウもやしの分離菌

A-C: *Globisporangium ultimum* var. *ultimum* (MAFF 241478), PDA 培養コロニー表面 (A) と裏面 (B), C: 造精器 (a) の付いた造卵器 (o) および hyphal swelling (s).

Lichtheimia ramosa (Zopf) Vuill. (*Absidia corymbifera* var. *ramosa* (Zopf) Coudert) : 塊になって腐敗したもやし (図 17-A) から分離される. 培養コロニーは 37℃ の高温でも生育が早く, 表側はまばらな毛足の長い淡褐色の気生菌糸に被われ, 裏面は淡灰ベージュ色を呈する (図 17-B, C). 仮根は単純で短い分枝から成る. 胞子のうの柄は湾曲し分枝することが多く表面平滑で無色, 太さ 6-18 μm , 長さ 165 μm 以下 (図 17-D). 胞子のうは球形ないし広卵形で灰褐色, 直径 38-74 (-104) (平均 55) μm . 柱軸は広楕円形ないし卵形で無色, 直径 30-54 (-64) (平均 42) μm (図 17-E). 胞子のう胞子は広楕円形ないし短円筒形, 無色～淡灰色で表面平滑, 大きさ 3.5-4.5 \times 2.8-4 (平均 4.1 \times 3.2) μm .

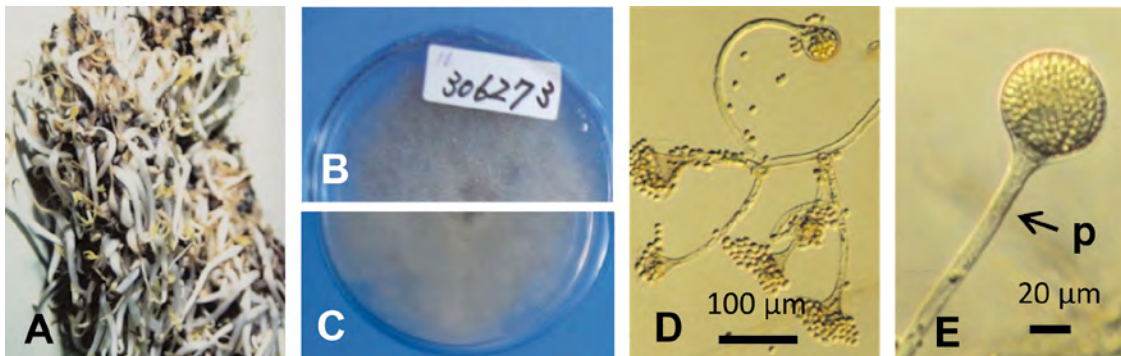


図 17. 腐敗・汚損リョクトウもやし (A) とその分離菌

A: 絡み合って腐敗したもやし, B-E: A より分離された *Lichtheimia ramosa* (MAFF 306273), PDA 培養コロニー表面 (B) 裏面 (C), D: 胞子のう柄 (p) および胞子のう, E: 分枝し湾曲した胞子のう柄 および胞子のう胞子.

Rhizopus oryzae Went & Prins. Geerl. : 黒いカビが絡みつき塊になったもやし (図 18-A) から分離される. 培養コロニーは 40℃ の高温でも生育が早く, 表側はまばらな毛足の長い暗灰色の気生菌糸に被われ, 裏面はクリーム色を呈する (図 18-B, C). 仮根は単純で複数の短い分枝から成る. 胞子のうの柄は表面平滑で

無色，太さ 12-20 (平均 15.2) μm ，長さ 1.5 mm 以下 (図 18-D)．胞子のうは球形で灰黒色，直径，100-160 (平均 125.0) μm (図 18-E)．柱軸は釣鐘形ではぼ無色，高さ (52-) 68-140 (平均 92.0) μm ．胞子のう胞子は亜球形ないし広楕円形または有角球形，淡褐色で表面は筋状模様を呈し，大きさ 4.5-10.5 (-15.6) \times 4-9 (平均 8.0 \times 6.2) μm (図 18-F)．

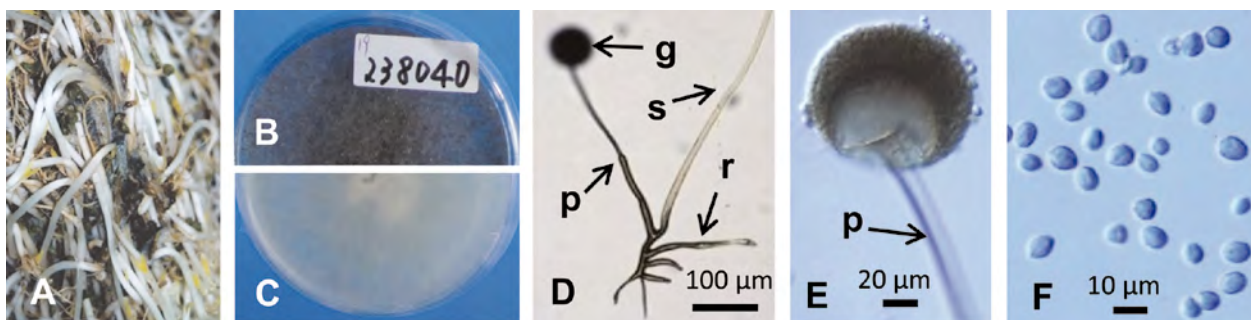


図 18. 腐敗・汚損リョクトウもやし (A) とその分離菌

A: 黒色菌糸が絡みついて腐敗したもやし，B-F: A から分離された *Rhizopus oryzae* (MAFF 238040)，PDA 培養コロニー表面 (B) と裏面 (C)，D: ほふく菌糸 (s)，仮根 (r)，胞子のう柄 (p) および胞子のう (g)，E: 胞子のう柄 (p) および胞子のう，F: 胞子のう胞子．

6. ダイズもやしから分離・検出される菌類 (カビ)

6 属 7 種の菌類が国内のダイズ (*G. max*) もやしとその原料から分離されている．各種の形態を以下に記述し，BLASTN 検索の結果などを表 2 に示す．

Cercospora kikuchii (Tak. Matsumoto & Tomoy.) M.W. Gardner : 紫褐色に変色した種皮 (図 19-A) から分離される．培養コロニーの生育は最適温度でも非常に遅く，表側は白色の気生菌糸で密に被われ，裏面は黄褐色周縁部を伴い暗赤褐色を呈する (図 19-B, C)．分生子は針形で真直ないしやや湾曲し無色，表面平滑で多隔壁をもち，基部は裁切状，大きさ (18-) 89-118 \times 2-3 (平均 97 \times 2.1) μm (図 19-D)．

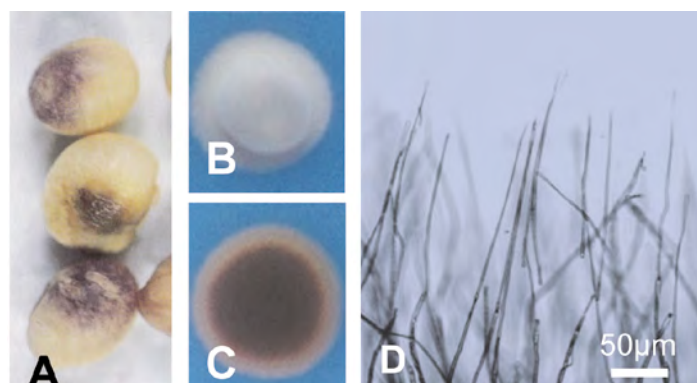


図 19. 腐敗・汚損ダイズもやし原料 (A) とその分離菌

A: 帯紫褐色の変色部の見られる原料豆，B-D: A の汚損種子より分離された *Cercospora kikuchii* (MAFF 239883)，PDA 培養コロニー表面 (B) 裏面 (C)，D: PDA 上に形成された針状分生子．

Diaporthe phaseolorum var. *caulivora* Athow & Caldwell : PDA 平板上で発芽させた汚染種子から生育する (図 20-A)．培養コロニーの表側は周縁部がまばらで中央部が密な白色～淡ベージュ色の気生菌糸で被われ，裏面は淡紅色を帯びたベージュ色を呈する (図 20-B, C)．子のう殻はフラスコ形で大き 194-299 \times 184-278 (平均 230.0 \times 211.0) μm で，長さ 270-560 μm の長い頸部を持つ (図 20-D)．子のうは棍棒形で頂環をもち 8 個の子のう胞子を含み，大きさ 24.7-42.6 \times 4.1-8.1 (平均 31.7 \times 5.8) μm (図 20-E)．子のう胞子は長楕円形ないし紡錘形，無色で中央 1 隔壁と数個の油滴をもち，大きさ 6.6-10.4 \times 3-4.5 (平均 8.2 \times 3.5) μm (図 20-E)．

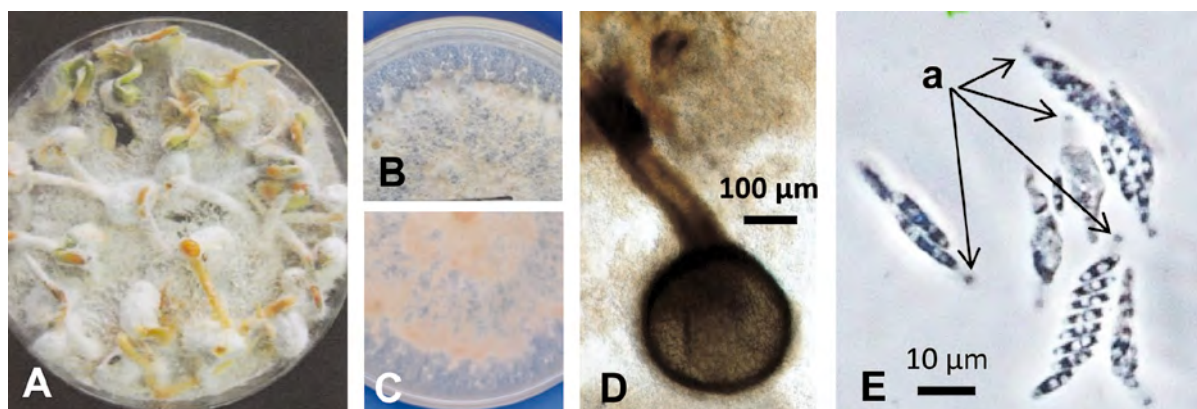


図 20. 汚染ダイズもやし原料(A)とその分離菌

A: 汚染原料種子より PDA 平板上に生育したカビ, B-E: 同定された *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*, PDA 培養コロニー表面 (B) と裏面 (C), D: 培地中に形成された子のう殻, E: 頂環 (a) をもつ子のう (位相差顕微鏡像)。

Fusarium graminearum Schwabe (*Gibberella zeae* (Schwein.) Petch) : 黒褐色の縦筋を伴って腐敗した胚軸,あるいは催芽させた際,赤褐色に変色した原料豆 (図 21-A) から分離される. 培養コロニーの表側は周縁部が白く中央部が深紅の密な気生菌糸で被われ,裏面は鮮やかな淡紅色を呈する (図 21-B, C). 大分生子形成細胞はモノフィアライドで長楕円形,分生子柄上に輪生する (図 21-D). 大分生子は先端の尖ったわずかに湾曲した鎌形で,基部に脚胞と (3-) 5-7 隔壁をもち,大きさ $40.1-70 \times 4.5-6.3$ (平均 52.4×5.2) μm (図 21-E). 厚壁孢子は広楕円形で数個連鎖し,無色で表面平滑,大きさ $7-13.6 \times 6-8.6$ (平均 9.0×8.6) μm . 子のう殻は亜球形,赤褐色で 3-4 細胞の子のう胞子を 8 個ずつ内生する多くの子のうを含む (図 21-F ~ I).

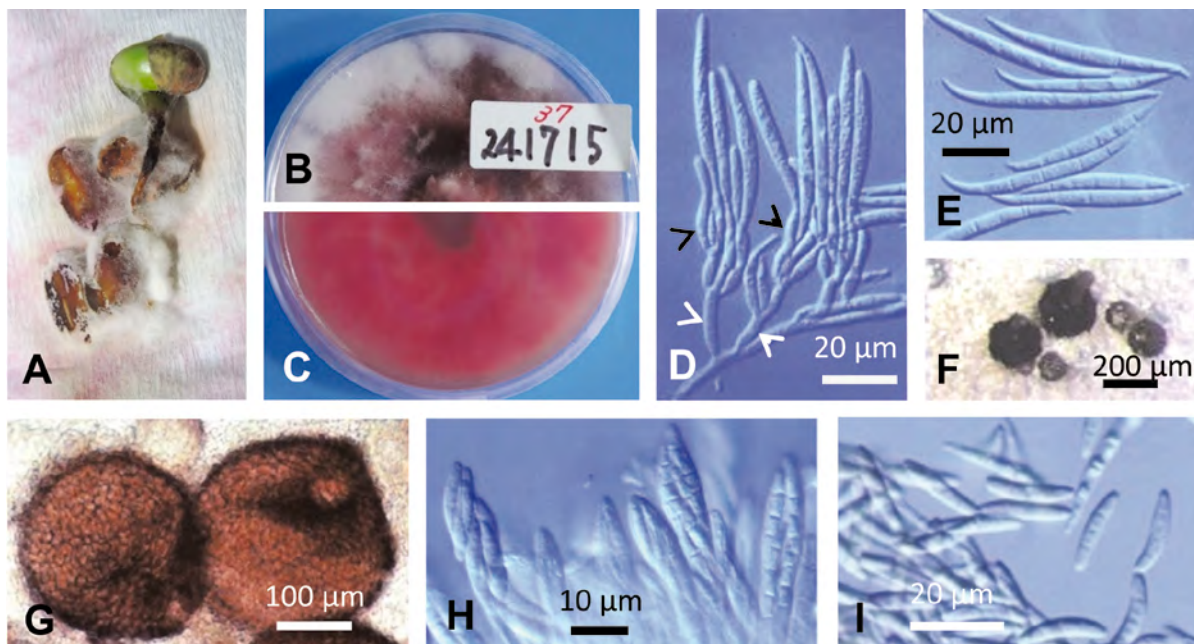


図 21. 汚染ダイズもやし原料(A)とその分離菌

A: 赤褐色に染まった腐敗もやし原料種子, B, C: 腐敗もやしより分離された *Fusarium graminearum* (MAFF 241715), PDA 培養コロニー表面 (B) と裏面 (C). D-I: *F. graminearum* (*Gibberella zeae*) (MAFF 238042), D: 分生子柄 (白矢尻), フィアライド (黒矢尻) および未熟大分生子, E: 成熟大分生子, F: ろ紙添加 SNA 上に形成された子のう殻, G: 成熟子のう殻, H: 子のう, I: 子のう胞子。

Fusarium oxysporum Schltdl. : 形態的特徴は前出のとおり. 小分生子の大きさ $5.8-11.5 \times 2.6-4$ (平均 8.7×3.4) μm . 大分生子の大きさ $23.8-42.8 \times 3-4.5$ (平均 26.8×3.9) μm . 厚壁孢子あり.

Penicillium oxalicum Currie & Thom : 黄褐色, 水浸状に腐敗したもやし (図 22-A) から分離される. 培養コロニーの表側は粉末状で最初は白色, 時間が経つと青緑色を呈する (図 22-B). 分生子柄は長い円筒形で無色, 表面平滑, 太さ $3.8\text{-}4.4\ \mu\text{m}$, 長さ $100\mu\text{m}$ 以上. ペニシリは2回輪生し, フィアライド (分生子形成細胞) は円筒形ないし倒棍棒形で無色, 表面平滑, 太さ $7.2\text{-}11.9 \times 2.8\text{-}3.8$ (平均 9.6×3.4) μm . 分生子はレモン形ないし楕円形で無色, 表面平滑, 大きさ $4.5\text{-}6.3 \times 2.9\text{-}4.1$ (平均 5.4×3.5) μm (図 22-C).

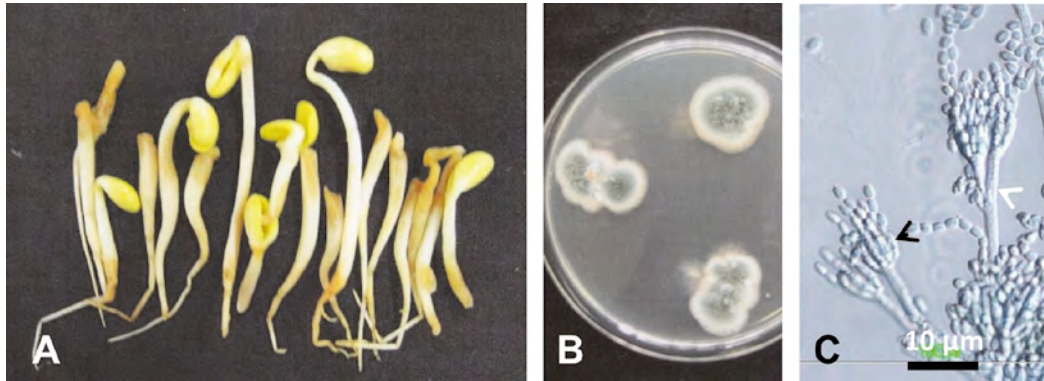


図 22. 腐敗・汚損ダイズもやし (A) とその分離菌

A: 水浸状に腐敗したもやし, B, C: A より分離された *Penicillium oxalicum* (MAFF 242579), B: 腐敗したもやし A より PDA 平板上に生育したカビ, C: 分生子柄 (白矢尻), フィアライド (黒矢尻) および分生子.

Phoma medicaginis Malbr. & Roum. : 全体が褐変した, あるいは褐色斑点のある種子上に形成された分生子殻から分離される (図 23-A, B). 培養コロニーの表側は周縁部が淡ベージュ色で中央部が淡褐色～オリーブ褐色の比較的まばらな気生菌糸で被われる (図 23-C). PDA 上の分生子殻は球形ないし亜球形または楕円形で1～数個の口孔をもつ, 直径 $83\text{-}233 \times 70\text{-}210$ (平均 170.0×125.0) μm で淡橙色の分生子塊を逸出する (図 23-D, E). 分生子は短いフィアライドから形成され, 楕円形ないし円筒形で無色, 大きさ $3.4\text{-}10.5 \times 1.7\text{-}4.4$ (平均 5.8×2.8) μm (図 23-F).

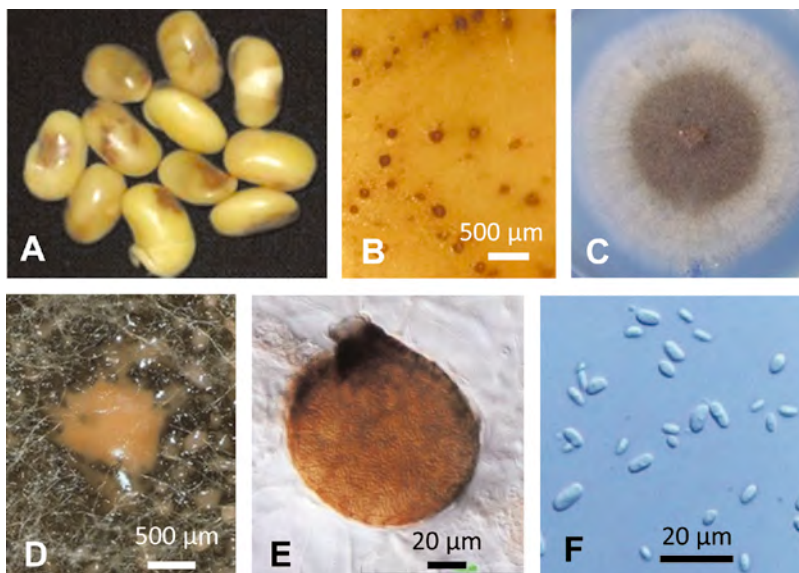


図 23. 腐敗・汚損ダイズもやし原料 (A) とその分離菌

A: 褐変した種子, B: A の褐変部に形成された分生子殻, C-F: 分生子殻 B より分離された *Phoma medicaginis* (MAFF 240348), C: PDA 培養コロニー表面, D: 分生子塊, E: 分生子殻, F: 分生子.

Phomopsis phaseoli var. *sojae* (Lehman) Sacc. (*Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* (Lehman) Wehm.) : 培養コロニーの表側は白色の気生菌糸で密に被われ, 裏側は淡褐色を呈する (図 24-A, B). α 型分生子は隔壁がなく楕円形ないし長楕円形または紡錘形で無色, 油滴を含み, 大きさ $5.8\text{-}8.3 \times 1.9\text{-}3.1$ (平均 7.0×2.4) μm (図 24-C).

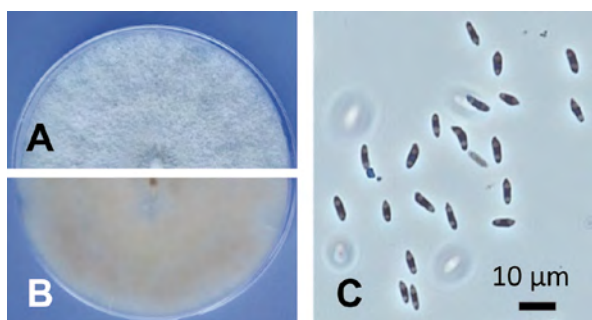


図 24. 腐敗・汚損ダイズもやしの分離菌

A-C: *Phomopsis phaseoli* var. *sojae* (MAFF 243679), PDA 培養コロニー表面 (A) と裏面 (B), C: 分生子 (位相差顕微鏡像).

Syncephalastrum racemosum Cohn ex J. Schröt.: 胞子のう柄の先端には直径 41-65 μ m の頂のうがあり、頂のうに大量の分節胞子のう (merosporangia) が房状に形成される。分節胞子のうは円筒形で 10 個以下の胞子を含み、長さ 14-25 μ m. 胞子のう胞子 (merospores) は球形ないし卵形で無色、表面平滑、大きさ 2.8-4.3 \times 2.5-3.4 (平均 3.5 \times 2.8) μ m (図 25).

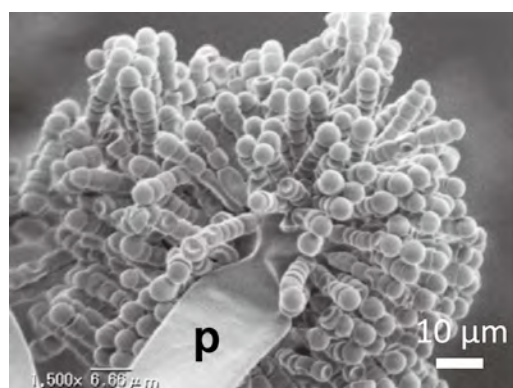


図 25. 腐敗・汚損ダイズもやしの分離菌

Syncephalastrum racemosum (MAFF 241792) の胞子のう柄 (p) および大量の分節胞子のう (走査電子顕微鏡像).

7. 検出・分離される腐敗・汚損菌の潜在的リスク

接合菌類の *Lichtheimia ramosa*, *Rhizopus oryzae* および *Syncephalastrum racemosum* が暗色菌糸の絡みついた塊状のもやし (図 17-A, 図 18-A) からよく分離されるが、これらはすべて高温多湿条件で極めて生育の早い菌であり、もやし生産では特に注意が必要である。リョクトウもやしから分離された卵菌の 1 種 *Globisporangium ultimum* var. *ultimum* (= *Pythium ultimum* var. *ultimum*) は以前、水環境に適応した *Pythium* 属菌であったところから (Plaats-Niterink, 1981; Uzuhashi *et al.*, 2010), もやし製造に用いられる水に混入していた可能性が高い。したがって、製造用水の水質にも気を配る必要がある。

Aspergillus flavus (MAFF 239890, MAFF 239891), *Aspergillus terreus* Thom (MAFF 239893) および *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson (MAFF 239892) がもやし製造工場の排水などから検出・分離されている (矢口貴志, 未発表)。このうち、もやしそのものからも分離され *A. flavus* は原料豆に付着あるいは侵入していることが考えられる。本来は腐生性と認識されていた *Penicillium oxalicum* (Pitt, 1979) がダイズもやしに病原性を発揮する可能性がある。また、リョクトウ、ケツルアズキおよびダイズから検出・分離された菌類の約 70% はすでに国内外で植物病原菌として認識されており (日本植物病理学会・農業生物資源研究所, 2012; Damm *et al.*, 2009; Kulik, 1989; Hartman *et al.*, 1999; 表 1, 2)。さらに、少なくとも 14 種が種子伝染性と報告されている (Malone *et al.*, 1997; Hartman *et al.*, 1999; 表 1, 2)。もやし原料豆のほとんどすべてが海外から輸入されていることから、これは植物防疫の観点から見逃せない事実である。例えば、北米産ダイズ種子から検出された *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* は南北アメリカ大陸の重要ダイズ病原菌として知られるが (Kulik, 1989; Hartman *et al.*, 1999; Costamilan *et al.*, 2008), 国内分布は未報告であり、侵入を阻止しなければならない菌種と言える。これらの汚染原料豆はもやし製造の脅威となるだけでなく、病原菌を媒介するため国内の植物保護上のリスクをはらんでいる。本マニュアルに示した一部菌株を用いたもやしの腐敗・汚損の予備的再現実験が行われたが (Sato *et al.*, 2008a, b), これらのリスクを検証するため、各菌種の

代表菌株を用いて接種試験を行う必要がある。いずれにしても、病原菌を保菌したもやし原料豆が輸入国に持ち込まれないように、生産国において十分に滅菌後輸出することが望ましい。

腐敗・汚損もやしから分離される複数の菌種がカビ毒 (mycotoxins) を作ることも知られている (Samson and Reese-Hoekstra, 1988)。ダイズから分離された *Fusarium graminearum* の菌株 MAFF 241713 は 45.4 ppm の、また、MAFF 238042 は 21.6 ppm の非常に高濃度の deoxynivalenol を産生することが報告されている (齊藤, 2009)。*Fusarium graminearum* を保菌する原料豆は発芽時に赤みを帯びるので (図 21-A)、製造初期にそのような豆を見つけた場合、ただちに除去する必要がある。また、リョクトウもやしから分離された *Aspergillus flavus* は aflatoxin 産生菌として名高い (Samson and Reese-Hoekstra, 1988)。上述の通り、本菌はもやし製造工場からも検出・分離されている。したがって、原料豆を滅菌するだけではなく、製造工場の施設・設備もすべて清潔に保つ必要がある。

冒頭に述べたように、腐敗・汚損菌を除去するため漂白液に浸ける、アンモニアやアリルイソチアネートのガスに暴露する、あるいは、水蒸気とマイクロ波により加熱するなど、原料豆の滅菌処理技術が国内で試みられてきた (青木ら, 1986, 2000; 古谷ら, 2002, 2003)。それらの実用性を正しく評価するためには、本マニュアルに掲載された菌株も用いてこれらの技術の滅菌効果を調査することが望まれる。

8. おわりに

もやしは安価で供給が安定しており、様々な料理の素材として利用できる、まさに庶民の強い味方であるが、価格が低く抑えられている要因の一つには原料豆の安さがある。リョクトウやダイズなどの原料は中国や東南アジア諸国でほぼ放任栽培により生産されているという (青木睦夫, 私信)。生産コストを抑えるために病害虫の防除にはほとんど経費と労力をかけず、収穫物の選別もおざなりという実態が想像に難くない。無防除で作物を生産すると病害虫が多発することは国内で実証済みである (日本植物防疫協会, 2008)。検出・分離される菌類の種子伝染性や病原性の記録を見ても、もよしの腐敗・汚損の元凶は不十分な原料生産技術にあると言っても過言ではなからう。

輸入された原料豆は製造工程の最初に徹底的に洗浄され、表面の微生物はほとんど取り除かれるが、種皮を含めて内部に潜む菌類までは除去できない。もちろん、洗浄だけでなく加熱などの滅菌処理を追加すれば、原料豆の内部に潜在する微生物もおおた除去できるはずであるが、製造コストがかさんでしまうため、通常は洗浄のみで次の工程に移ってしまう。ここに低価格のもう一つの要因があるが、皮肉にもそれが腐敗・汚損のリスクを高めており、しばしば減収と不良品の廃棄につながっている。昨今、主要輸出国でリョクトウやダイズが不作になると原料価格の高騰によりもやしが値上がりする事態も起きている。限られた原料でも無駄なく最大量のもやしが製造できるように、よりコストの安い原料豆の滅菌技術が一日も早く開発・実用化されることが望まれる。

本マニュアルの取りまとめにあたり、三富実業株式会社の青木睦夫博士には貴重な菌株や菌類の分離源をご提供頂いた。また、農研機構野菜・茶業研究所の窪田昌春博士、千葉大学真菌医学研究センターの矢口貴志博士、元理化学研究所微生物材料開発室の埋橋志穂美博士、農研機構近畿中国四国農業研究センターの富岡啓介博士および農業生物資源研究所の青木孝之博士には菌株の同定において有益なご助言を頂いた。そして、同研究所遺伝資源センターの甘利義江氏、阿部美保子氏、中島比呂美氏、井垣善美氏、桑 一恵氏および金澤智恵子氏には調査対象菌株の培養やコロニーの撮影などで多々ご支援を頂いた。末筆ながら記してこれらの方々に厚く御礼申し上げる。

9. 参考文献

- 青木睦夫・沼田邦夫・宮尾茂雄 (1986). もやし製造技術に関する研究. 東京農試研報 19: 103-119.
- 青木睦夫・美濃部富男・宮尾茂雄・丹後修一 (2000). マイクロ波及び蒸気併用によるもやし原料用種子の殺菌. エレクトロヒート 114: 25-30.
- Aoki, T. and O'Donnell, K. (1999). Morphological characterization of *Fusarium pseudo-graminearum* sp. nov., formerly recognized as the Group 1 population of *Fusarium graminearum*. Mycologia 91: 597-609.

- Boerema, G. H., Gruyter, J., Noordeloos, M. E. and Hamers, M. E. C. (2004). *Phoma* identification manual. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 281-282.
- Cody, Y. S. and Maloy, O. C. (1984). *Cylindrocephalum* rot of mung bean sprouts. Plant Dis. 68: 304-305.
- Costamilan, L. M., Yorinori, J. T., Almeida Á. M. R., Seixas, C. D. S., Binneck, E., Araújo, M. R. and Carbonari, J. A. (2008). First report of *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* infecting soybean plants in Brazil. Trop. plant pathol. 33: 381-385.
- Crous, P. W. and Groenewald, J. Z. (2013). A phylogenetic re-evaluation of *Arthrinium*. IMA Fungus 4: 133-154.
- Damm, U., Woudenberg, J. H. C., Cannon, P. F. and Crous, P. W. (2009). *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. Fungal Divers. 39: 45-87.
- 古谷香菜子・宮尾茂雄・一色賢司 (2002). アリルイソチオシアネート蒸気を用いた豆類もやしの病害軽減化. 食科工 49: 388-394.
- 古谷香菜子・宮尾茂雄・一色賢司 (2003). アンモニア蒸気による豆類もやしのカビ抑制効果. 食科工 50: 26-28.
- Gomes, R. R., Glienke, C., Videira, S. I. R., Lombard, L., Groenewald, J. Z. and Crous, P. W. (2013). *Diaporthe*, a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. Persoonia 31: 1-41.
- Gottwald, T. R. and Graham, J. H. (2000). Canker. In: Timmer, L. W., Garnsey, S. M. and Graham, J. H. [eds] Compendium of Citrus Diseases, 2nd ed. APS Press, St. Paul, MN, USA, pp. 5-7.
- 萩原奈央子・窪田昌春・西和文・加藤栄美 (2008). *Rhizoctonia solani* AG-4 HG-III によるオカヒジキの立枯病 (新称). 日植病報 74: 162-163.
- Hanlin, R. T. (1990). Illustrated genera of Ascomycetes. APS Press, St. Paul, MN, USA, 263 p.
- Hartman, G. L., Sinclair, J. B. and Rupe, J. C. (1999). Compendium of soybean diseases, 4th edition. APS Press, St. Paul, USA, 100 p.
- Holliday, P. (1980). Fungus disease of tropical crops. Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK, pp. 254-255.
- Hsieh, W.-H. and Goh, T.-K. (1990). *Cercospora* and similar fungi from Taiwan. Maw Chang Book Co., Taipei, Taiwan, pp. 168-170.
- Johnk, J. S. and Jones, R. K. (2001). Differentiation of three homogeneous groups of *Rhizoctonia solani* anastomosis group 4 by analysis of fatty acids. Phytopath. 91: 821-830.
- Kiffer, E. and Morelet, M. (2000). The Deuteromycetes, Mitosporic fungi, classification and generic keys. Science Publishers, Enfield, USA, 273 p.
- Kulik, M. M. (1984). Symptomless infection, persistence, and production of pycnidia in host and non-host plants by *Phomopsis batatae*, *Phomopsis phaseoli*, and *Phomopsis sojae*, and the taxonomic implications. Mycologia 76: 274-291.
- Kulik, M. M. (1989). Variation in pathogenicity among isolates of *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *caulivora*. Mycologia 81: 549-553.
- Malone, J. P., Muskett, A. E. and Sheppard, J. W. (1997). Seed-borne fungi: description of 77 fungus species. CAB Publishing, Wallingford, UK, 191 p.
- 日本植物防疫協会 (2008). 病害虫と雑草による農作物の損失. 東京. 40 p.
- 日本植物病理学会・農業生物資源研究所 編 (2012). 日本植物病名目録第2版. 東京. 1,524 p.
- O'Donnell, K., Ward, T. J., Geiser, D. M., Kistler H. C. and Aoki, T. (2004). Genealogical concordance between the mating type locus and seven other nuclear genes supports formal recognition of nine phylogenetically distinct species within the *Fusarium graminearum* clade. Fungal Genet. Biol. 41: 600-623.
- Oh, B.-J. and Park, W.-M. (1996). Histopathological observation and identification of *Fusarium* spp. causing soyabean sprout rot. Korean J. Pl. Pathol. 12, 471-475.
- 沖縄地区税関 (2010). 緑豆の輸入 (2015年4月9日), http://www.customs.go.jp/okinawa/07_tokei/tokyusyu/ryokuto.pdf
- Pitt, J. I. (1979). The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, London, UK, 275 p.
- Plaats-Niterink, A. J. van der (1981). Monograph of the

- genus *Pythium*. Stud. Mycol. 21: 1-242.
- 齊藤初雄 (2009). フザリウム毒素 (フザリウムトキシン). 微生物遺伝資源利用マニュアル No. 25: 1-15.
- Samson, R. A. and Reene-Hoekstra, E. S. van (1988). Introduction to food-borne fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn & Delft, The Netherlands, 299 p.
- Sato, T. and Moriwaki, J. (2013). Molecular re-identification of strains in NIAS Genebank belonging to phylogenetic groups A2 and A4 of the *Colletotrichum acutatum* species complex. Microbiol. Culture Collect. 29: 13-23.
- Sato, T., Aoki, M., Aoki, T., Kubota, M., Yaguchi, T., Uzuhashi, S. and Tomioka, K. (2014). Fungi isolated from spoiled bean sprouts in Japan. JARQ 48(3): 317-329.
- Sato, T., Aoki, M., Aoki T., Tomioka, K., Sawada, H., Hirooka, Y., Endo, M. and Nagai, T. (2008a). Spoilage of soybean sprouts by *Gibberella zeae* and *Phoma medicaginis*. J. Pl. Pathol. 90 (2, Supplement): 194.
- Sato, T., Aoki, M., Aoki T., Tomioka, K., Sawada, H., Hirooka, Y., Endo, M. and Nagai, T. (2008b). Spoilage and rot of mung bean sprouts by some fungi. J. Pl. Pathol. 90 (2, Supplement): 194.
- Uzuhashi, S., Tojo, M. and Kakishima, M. (2010). Phylogeny of the genus *Pythium* and description of new genera. Mycoscience 51: 337-365.
- Yun, S. C. and Kim, J. W. (2003). First report of hypocotyl and root rot disease caused by *Pythium deliense* on soybean sprouts in Korea. Plant Dis. 87: 1399.

表1. リョクトウ (*Vigna radiata*) およびケツルアズキ (*V. mungo*) の腐敗・汚損もやしおよび汚染原料から分離された菌類

門 ^{a)} 種名 ^{b)}	分離源 ^{c)} 採集地	原料 生産国	分離 年	MAFF 番号 ^{d)}	DNA 塩基配列 ^{e)}	BLASTN 検索結果		該当種	参考文献 ^{g)}
						登録番号	類似度 ^{f)}		
A <i>Alternaria alternata</i> ^{*S}	G Tokyo	China	1986 239884	I	HQ263343	100/100	100/100	<i>A. alternata</i>	SR
A <i>Alternaria</i> sp.	G Tokyo	China	1998 239887	I	HQ263343	100/100	100/100	<i>A. alternata</i>	SR
A <i>Arthriniium arundinis</i>	G Tokyo	China	2012 243775	n					KM
A <i>Aspergillus flavus</i> [*]	S Miyagi	China	1997 238039	I	KF144888	100/100	100/100	<i>A. arundinis</i>	C, G
A <i>Aspergillus flavus</i> [*]	S Tokyo	China	2012 243495	T (AB849500)		JX627689	100/100	<i>A. flavus</i>	SR
A <i>Aspergillus niger</i> [*]	R Miyazaki	Thailand	2005 239777	n					SR
A <i>Chaetomium</i> sp. ^S	S Tokyo	China	2012 243496	n					Ha
A <i>Colletotrichum chlorophyiti</i> ^{**S}	S Tokyo	China	2012 243477	n					D
A <i>Colletotrichum chlorophyiti</i> ^{**S}	S Tokyo	China	1984 305748	T	GU228189 JX126475	99/66 99/94	100/100	<i>C. chlorophyiti</i>	SM
A <i>Colletotrichum nymphaeae</i> ^S	S Tokyo	China	1988 306157	T	AB697050 AB618089	100/100 100/96	100/100	<i>C. nymphaeae</i>	
A <i>Colletotrichum nymphaeae</i> ^S	S Tokyo	China	1992 306343, 306344	T	AB697050 AB618089	100/100 100/96	100/100	<i>C. nymphaeae</i>	
A <i>Fusarium equiseti</i>	R Tokyo	Thailand	2002 239547, 239918	n					SR
A <i>Fusarium oxysporum</i> ^{*S}	S Chiba	China	1998 238041	H	AF150832	100/100	100/100	<i>F. oxysporum</i>	SR
A <i>Fusarium</i> sp.	G Niigata	China	2005 239895	n					KM
A <i>Geotrichum candidum</i> (<i>Galactomyces geotrichum</i>) [*]	S Miyagi	China	2013 244040	n					
	G Miyagi	China	1997 238038	I	JQ668740	100/100	100/100	<i>G. geotrichum</i>	
	S Niigata	China	1997 239885	I	KC143429	99/100	99/100	<i>Galactomyces</i> sp.	SR
	S Niigata	China	2004 239771	I	JQ668739	99/100	99/100	<i>G. geotrichum</i>	

^{a)} A: 子のう菌門 (Ascomycota), B: 担子菌門 (Basidiomycota), O: 卵菌門 (Oomycota), Z: 接合菌門 (Zygomycota).

^{b)} *: 国内で植物病原として報告されている分類群 (日本植物病理学会・農業生物資源研究所, 2012), **: 海外で植物病原として報告されている分類群 (Damm *et al.*, 2009), ^S: 種子伝染性と報告されている分類群 (Malone *et al.*, 1997).

^{c)} G: リョクトウ (*Vigna radiata*) のもやし原料子実, S: リョクトウ (*V. radiata*) のもやし, R: ケツルアズキ (*V. radiata*) のもやし.

^{d)} 農業生物資源研究所 農業生物資源ジェンバンクに保存されている菌株.

^{e)} I: rDNA-ITS 領域, T: β-tubulin-2遺伝子部分塩基配列, H: Histone H3, n: 未シーケンス, (): DDBJ/EMBL/GenBank の塩基配列データベースのアクセション.

^{f)} 塩基配列の類似度 (%) / 比較塩基数の対照塩基配列に対する割合 (%).

^{g)} C: Crous & Groenewald (2013), D: Damm *et al.* (2009), G: Gomes *et al.* (2013), Ha: Hanlin (1990), KM: Kiffer & Morelet (2000), SM: Sato & Moriwaki (2013), SR: Samson & Reene-Hoekstra (1988).

表1 (続き). リヨクトウ (*Vigna radiata*) およびケツルアズキ (*V. mungo*) の腐敗・汚損もやしおよび汚染原料から分離された菌類

門 ^{a)} 種名 ^{b)}	分離源 ^{d)}	採集地	原料 生産国	分離 年	MAFF 番号 ^{e)}	DNA 塩基配列 ^{f)}	BLASTN 検索結果		該当種	参考文献 ^{h)}
							登録番号	類似度 ^{g)}		
A <i>Macrophomina phaseolina</i> * ^s	S	Tokyo	China	1984	305746	I	FJ395247	100/100	<i>M. phaseolina</i>	Ho
	G	Tokyo	China	1986	239878	I	FJ415067	99/98	<i>M. phaseolina</i>	
	S	Niigata	China	2005	239772, 239898	I	FJ415067	99/98	<i>M. phaseolina</i>	
	G	Niigata	China	2005	239894	I	FJ415067	99/98	<i>M. phaseolina</i>	
A <i>Phoma</i> sp.	G	Tokyo	China	2012	243774	n				KM
<i>Phomopsis phaseoli</i> var. <i>phaseoli</i> (<i>Diaporthe phaseolorum</i> var. <i>phaseolorum</i>)* ^s	G	Tokyo	Myanmar	2011	242916, (242917)	I	JF896458	99/97	<i>Diaporthe phaseolorum</i>	K, G
A <i>Phomopsis</i> sp. (<i>Diaporthe</i> sp.)	S	Tokyo	China	2012	243678	n				KM
A <i>Trichoderma</i> sp.	G	Tokyo	Canada	2011	242918	n				SR
B <i>Rhizoctonia solani</i> (<i>Thanatephorus cucumeris</i>)*	S	Tokyo	China	1984	305749	n				
B <i>R. solani</i> (AG-4, HG-I)*	S	Niigata	China	2005	239817	I	EU591781	99/100	<i>R. solani</i>	JJ
B <i>R. solani</i> (AG-4, HG-III)* <i>Globisporangium ultimum</i> var. <i>ultimum</i> (<i>Pythium ultimum</i> Trow var. <i>ultimum</i>)*	G	Tokyo	China	2008	241477	I	DQ102449	99/100	<i>T. cucumeris</i>	
O <i>ultimum</i> (<i>Pythium ultimum</i> Trow var. <i>ultimum</i>)*	G	Tokyo	China	2008	241478	I				P, U
Z <i>Lichtheimia ramosa</i> (<i>Absidia corymbifera</i> var. <i>ramosa</i>)	S	Tokyo	China	1992	306273	I	FJ719373	100/98	<i>L. ramosa</i>	SR
Z <i>Rhizopus oryzae</i> * ^s	S	Tokyo	China	1997	238040	I	AY213684	100/98	<i>R. oryzae</i>	SR
	G	Miyagi	China	1997	239882	I	AY213684	100/98	<i>R. oryzae</i>	

^{a)} A: 子のう菌門 (Ascomycota), B: 担子菌門 (Basidiomycota), O: 卵菌門 (Oomycota), Z: 接合菌門 (Zygomycota).

^{b)} *: 国内で植物病原として報告されている分類群 (日本植物病理学会・農業生物資源研究所, 2012), ^s: 種子伝染性と報告されている分類群 (Malone et al., 1997).

^{c)} AG: 菌糸融合群, HG: homogeneous group.

^{d)} G: リヨクトウ (*Vigna radiata*) のもやし原料子実, S: リヨクトウ (*V. radiata*) のもやし.

^{e)} 農業生物資源研究所 農業生物資源ジェノバンクに保存されている菌株.

^{f)} I: rDNA-ITS 領域, n: 未シーケンス.

^{g)} 塩基配列の類似度 (%) / 比較塩基数の対照塩基配列に対する割合 (%).

^{h)} G: Gomes et al. (2013), Ho: Holliday (1980), JJ: Johnk & Jones (2001), K: Kulik (1984), KM: Kiffer & Morelet (2000), P: Plaats-Niterink (1981), SR: Samson & Reene-Hoekstra (1988),

U: Uzuhashi et al. (2010).

表2. ダイズの腐敗・汚損もやしおよび汚染原料から分離された菌類

門 ^{a)} 種名 ^{b)}	分離源 ^{c)}	採集地	原料 生産国	分離 年	MAFF 番号 ^{d)}	DNA 塩基配列 ^{f)}	BLASTN 検索結果		該当種	参考文献 ^{b)}
							登録番号	類似度 ^{e)}		
A <i>Cercospora kikuchii</i> ^s	G	Tokyo	China	1986	239883	I	JX143619, HM631726	99/97	<i>C. kikuchii</i>	HG
A <i>Diaporthe phaseolorum</i> var. <i>caulivora</i> ^{**s}	G	Tokyo	USA	2009	— ^{e)}	I	KC343046	100/100	<i>D. caulivora</i>	K, G
A <i>Fusarium graminearum</i> (<i>Gibberella zeae</i>) [*]	G	Tokyo	USA	2008	241713- 241717	I	DQ459827	100/99	<i>G. zeae</i>	SR, Ha
	S	Tokyo	China	1998	238042	H	AY452853	100/100	<i>G. zeae</i>	
	G	Tokyo	China	2012	243773	n				
	G	Tokyo	China	1998	239879	n				SR
A <i>Fusarium oxysporum</i> [*]	S	Ibaraki	China	2009	242580	I	KC196121	100/100	<i>F. oxysporum</i>	
A <i>Penicillium oxalicum</i> [*]	S	Ibaraki	China	2009	242579	I, T (AB849501)	JQ446378 KC344992	100/98 99/99	<i>P. oxalicum</i>	SR
A <i>Phoma medicaginis</i> ^s	G	Tokyo	China	2004	239889	I	HQ630963	99/100	<i>Phoma</i> sp.	B
	G	Tokyo	China	2007	240348	I	EU273521	99/100	<i>Phoma</i> sp.	
A <i>Phomopsis phaseoli</i> var. <i>sojae</i> (<i>Diaporthe phaseolorum</i> var. <i>sojae</i>) ^{*s}	S	Tokyo	China	2012	243679	n				K, G
Z <i>Syncephalastrum racemosum</i>	S	Tokyo	China	2009	241792	n				SR

^{a)} A: 子のう菌門 (Ascomycota), Z: 接合菌門 (Zygomycota).^{b)} *: 国内で植物病原として報告されている分類群 (日本植物病理学会・農業生物資源研究所, 2012), **: 海外で植物病原として報告されている分類群 (Kulik, 1989; Hartman *et al.*, 1999; Costamilan *et al.*, 2008), ^s: 種子伝染性と報告されている分類群 (Malone *et al.*, 1997; Hartman *et al.*, 1999).^{c)} G: 原料子実, S: もやし.^{d)} 農業生物資源研究所 農業生物資源ジェノバンクに保存されている菌株.^{e)} ガス滅菌済み乾燥コロニー標本.^{f)} I: rDNA-ITS 領域, T: β -tubulin-2 遺伝子部分塩基配列, H: Histone H3, n: 未シークエンス, (): DDBJ/EMBL/GenBank の塩基配列データのアクセション.^{g)} 塩基配列の類似度 (%) / 比較塩基数の対照塩基配列に対する割合 (%).^{h)} B: Boerema *et al.* (2004), G: Gomes *et al.* (2013), Ha: Hanlin (1990), HG: Hsieh & Goh (1990), K: Kulik (1984), SR: Samson & Reene-Hoekstra (1988).

生 物 研 資 料

平成 27 年 11 月
November, 2015

微生物遺伝資源利用マニュアル (37)

2015 年 11 月 2 日 印刷
2015 年 11 月 4 日 発行

編集兼
発行者 国立研究開発法人 農業生物資源研究所

National Institute of Agrobiological Sciences
〒 305-8602 茨城県つくば市観音台 2-1-2

もやしとその原料の腐敗・汚損菌類

佐 藤 豊 三
農業生物資源研究所

目 次

1. はじめに	1
2. 腐敗・汚損菌の検出・分離方法	2
3. 腐敗・汚損菌の DNA 塩基配列解析および BLASTN 検索 (分子同定)	2
4. 腐敗・汚損の特徴と原料の産地	3
5. リョクトウ・ケツルアズキから分離される菌類 (カビ)	3
6. ダイズもやしから分離・検出される菌類 (カビ)	10
7. 検出・分離される腐敗・汚損菌の潜在的リスク	13
8. おわりに	14
9. 引用文献	14
表1 リョクトウ (<i>Vigna radiata</i>) およびケツルアズキ (<i>V. mungo</i>) の腐敗・汚損もやしおよび 汚染原料から分離された菌類	17
表2 ダイズの腐敗・汚損もやしおよび汚染原料から分離された菌類	19

2015 年 11 月
編集兼発行者 国立研究開発法人 農業生物資源研究所