

## 糸状菌の生長における脂肪酸の利用

西 上 一 義・天 野 泰 子\*

(1969年11月30日受理)

Fatty Acid Utilization on Growth of Filamentous Fungi

Kazuyoshi NISHIGAMI Yasuko AMANO

Department of Biology, Shimane University, Matsue, Japan

### Abstract

*Mucor rouxianus*, *Mucor spinescens* and *Penicillium citrinum* were used for this study. By these filamentous fungi long-chain fatty acids were utilized as sole carbon source. The short-chain fatty acids had a little meaning as sole carbon source for these organisms. But formic acid, n-butyric acid and n-valeric acid inhibited the growth of these organisms. Among the long-chain fatty acids, the lauric acid only inhibited the growth of *P. citrinum*. This growth inhibition by fatty acids is due to the inhibition on the respiratory system. *M. rouxianus* formed so-called yeast-like cells in YP medium under aerobic condition. This phenomenon disappeared by exogenous addition of glucose or adequate carbon source. But, by the addition of valeric acid the formation of the yeast-like cells could not be discontinued. The growth inhibition by valeric acid was more conspicuously on n-valeric acid than iso-valeric acid.

糸状菌や放線菌が脂肪酸を炭素源として生長することは、すでに Eyre, Horowitz-Wassow, Reese(1), Sten(2), Erikson (3) その他多数の研究者達によって明らかにされている。著者達の研究室で以前から使用している糸状菌 *Mucor rouxianus* も、好气的条件下で細胞内に多量の脂質を蓄積することはすでに前報(4)において述べた。これら細胞内に蓄積された脂肪酸の種類と炭素源として利用度の高い脂肪酸の種類とはどのような関係にあるかをしらべ、また生長阻害効果を持つ脂肪酸の作用機作の一端にふれることを試みたのがこの報告である。

### 材料および方法

#### 材 料

糸状菌として、*Mucor rouxianus* IMA 6130, *Mucor spinescens* IMA 6071 および *Penicillium citrinum* IMA 7316の3種を使用した。

#### 培 養 基

(1) YPG 培地            Preculture に使用した。

\* 鳥取大学医学部薬理学教室

組成	}	酵母エキス	3 g
		ペプトン	10 g
		グルコース	20 g
		蒸溜水	1000 ml

## (2) YPF 培地

上記 YPG 培地のグルコースの代りに脂肪酸を加える。脂肪酸としては, formic acid, n-butyric acid, n-, iso-valeric acid, lauric acid, myristic acid, palmitic acid, oleic acid を使用した。

## 培養条件

静置培養および振盪培養をおこない, 培養時間は54時間, 温度は30°C。

## 生長量測定

300 ml 三角フラスコに培養液50 mlを入れて培養し, 培養後の菌体は熱蒸溜水で十分に洗って菌体表面に附着する脂肪酸を落した。

生長量は1 フラスコあたりの乾燥量でしめした。

ガス代謝測定にはワールブルグ検圧計を使用した。

## 実 験 結 果

## 糸状菌の脂肪酸利用比較

8種類の脂肪酸を炭素源とし, それぞれの脂肪酸を4段階の濃度にしてあたえた。その結果高級脂肪酸の利用度はよいが, 低級脂肪酸は生長阻害をする場合もあることがわかった(第1表)。3種類の菌にみられる傾向はだいたい似ている。しかし *P. citrinum* は lauric acid によって著しい生長阻害を受けることが注目すべき特徴である。

2% oleic acid を炭素源としてあたえられた *M. rouxianus* の生長を YPG の場合と比較した結果, 48時間までは炭素源として glucose がまきり, それ以後は脂肪酸が非常に有利だということがわかった(第2表)。この両条件のもとに培養した菌の呼吸活性をしらべた(第3表)。その結果,  $Q_{CO_2}/Q_{O_2}$  値の比較では, glucose で培養した菌のほうが大きな値をしめした。

*M. rouxianus* に対する n-butyric acid の影響

*M. rouxianus* の生長を阻害する n-butyric acid がその呼吸能にどのような影響をあたえているかをしらべた(第4表)。極めて低い濃度(0.25%)では酸素吸収および二酸化炭素の排出を促進するが, 0.75%ではやや阻害効果が認められ, 特に酸素吸収のほうに影響が大きく,  $Q_{CO_2}/Q_{O_2}$  値が増加した。

## myristic acid, lauric acid, valeric acid の呼吸に対する影響

3種の糸状菌に対して炭素源としての意味を持たない valeric acid は *M. rouxianus* および *P. citrinum* の呼吸と発酵に大きな阻害効果を持ち, lauric acid も *P. citrinum* の呼吸と

Table 1. Growth of Filamentous Fungi in YPF Medium\*

	dry wt. (mg)			
	%	<i>M. rouxianus</i>	<i>M. spinescens</i>	<i>P. citrinum</i>
Control (YP)	0	80.1	71.3	79.4
Formic Acid (C <sub>1</sub> )	0.2	68.8	58.4	84.1
	1.0	65.3	1.1	24.8
	2.0	18.4	0.1	26.4
	4.0	0.1	62.6	30.4
Acetic Acid (C <sub>2</sub> )	0.2	83.3	79.7	102.0
	1.0	123.7	114.0	116.9
	2.0	174.9	154.2	185.1
	4.0	79.2	192.3	181.4
n-Butyric Acid (C <sub>4</sub> )	0.2	103.1	98.6	68.5
	1.0	135.6	0	0.5
	2.0	0.3	0	0.2
	4.0	0.3	0.4	0
n-Valeric Acid (C <sub>5</sub> )	0.2	59.7	95.9	119.2
	1.0	0.2	0.2	0
	2.0	0.7	0.3	0.1
	4.0	0.7	0.2	0.1
Lauric Acid (C <sub>12</sub> )	0.2	114.8	127.6	1.7
	1.0	333.7	397.1	0.9
	2.0	389.1	464.6	0
	4.0	325.6	45.0	0
Myristic Acid (C <sub>14</sub> )	0.2	126.8	122.2	75.0
	1.0	243.9	331.5	237.4
	2.0	442.1	408.1	154.0
	4.0	451.0	506.4	244.2
Palmitic Acid (C <sub>16</sub> )	0.2	139.0	133.4	137.1
	1.0	356.7	308.4	328.7
	2.0	459.7	378.9	193.7
	4.0	341.7	415.0	170.9
Stearic Acid (C <sub>18</sub> )	0.2	74.2	63.0	74.6
	1.0	146.4	162.4	39.6
	2.0	195.7	253.4	275.2
	4.0	194.4	400.2	453.1

\*In these experiments, cells of three species of fungus grown aerobically in YPF medium were harvested, washed by hot distilled water and dried.

発酵に対して顕著な阻害効果をしめした (第1図, 第2図)。

lauric acid, myristic acid, palmitic acid, valeric acid による糸状菌の形態的变化

myristic acid および palmitic acid は濃度1%において3種の糸状菌にあまり顕著な形態変化をあたえなかった。lauric acid は同じ濃度で菌糸の生長を非常に悪くした。valeric acid はほとんど生長を抑制し、0.2%の場合には YP 培養基 (炭素源次除) よりわずかに生長促進が認められる程度であった (第3図)。また iso-valeric acid に比して n-valeric acid が著しい生長阻害をすることがわかった。

*M. rouxianus* の形態变化

*M. rouxianus* は YP 培養基で好氣的に生長した場合、いわゆる Yeast-like cell を作った。

Table 2. Comparison of Growth of *M. rouxianus* in YPG\* and YPO\*\* Medium

culture time	dry weight	
	YPG	YPO
hrs	mg	mg
12	5.0	0.6
24	165.7	22.3
36	283.7	299.3
48	380.8	304.6
60	380.8	437.0
72	302.3	419.9
84	344.6	543.4
96	314.2	515.7
108	284.5	494.9

\* Sole carbon source is glucose.

\*\* Sole carbon source is oleic acid.

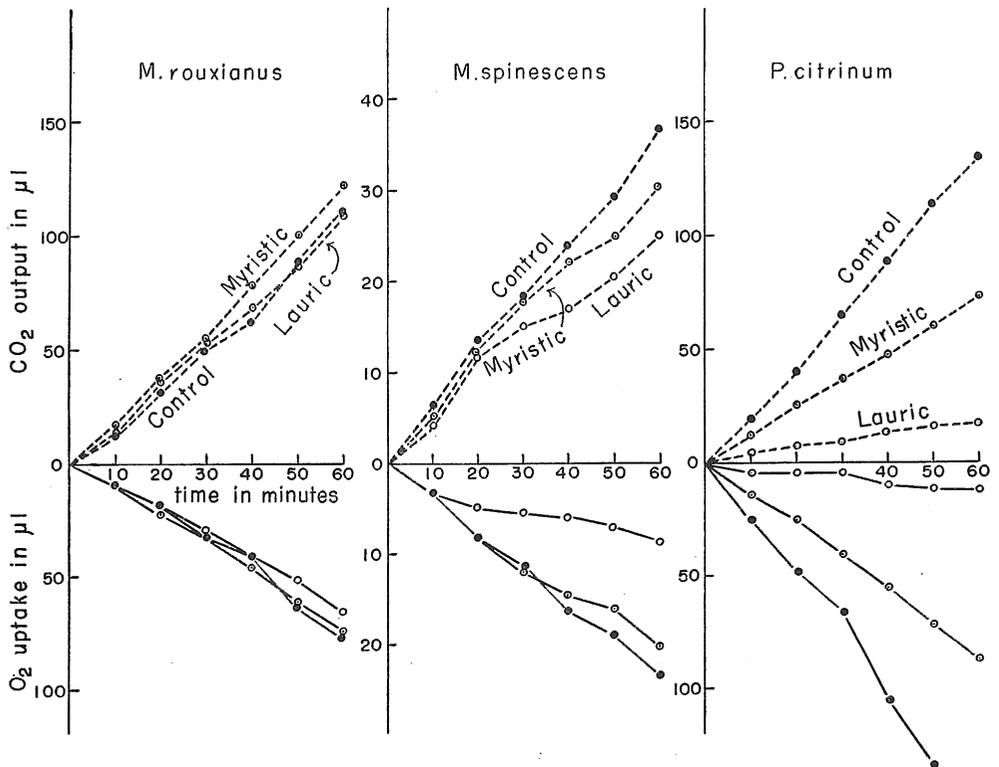


Fig. 1. Effects of lauric acid and myristic acid on oxygen uptake and carbon dioxide output by three species of fungus.

Cells of three species of organism grown in YPG medium were harvested, washed and transferred to Warburg flasks. Cells of *M. rouxianus* were added at 31.8 mg dry wt./2.0 ml to Warburg flasks. Cells of *M. spinescens* were added at 37.8 mg dry wt./3.0 ml. Cells of *P. citrinum* were added at 31.3 mg dry wt./2.0 ml.

Table 3. Comparison of  $Q_{CO_2}/Q_{O_2}$  Value of *M. rouxianus* Cultured in YPG and YPO Medium

medium		YPG	YPO
endogenous	$Q_{CO_2}$	7.94	1.12
	$Q_{O_2}$	2.44	0.87
	$Q_{CO_2}/Q_{O_2}$	3.24	1.28

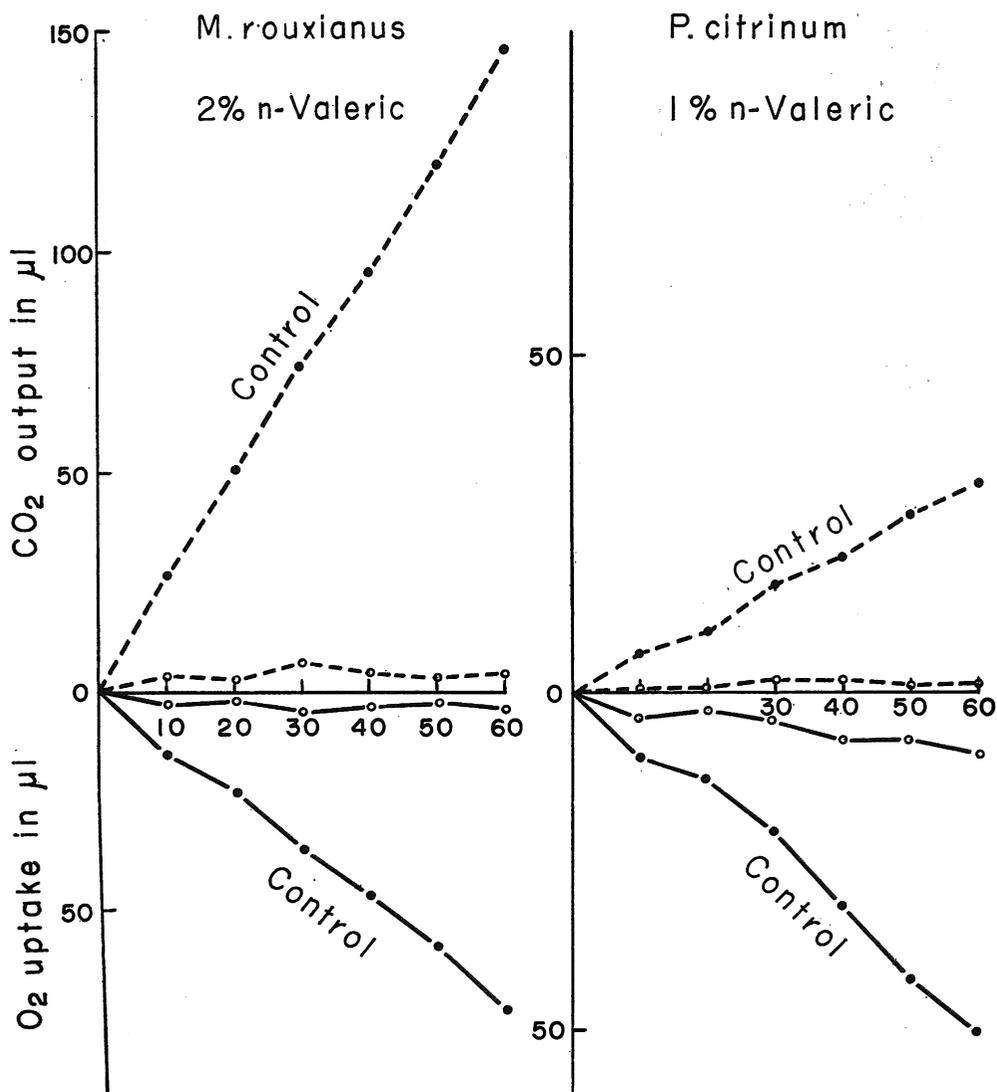


Fig. 2. Effects of n-valeric acid on oxygen uptake and carbon dioxide output by two species of fungus

Cells of *M. rouxianus* grown in YPG medium were harvested, washed and resuspended. The suspensions were added at 17.0 mg dry wt./2.0 ml to Warburg flasks. Cells of *P. citrinum* were suspended at 19.4 mg dry wt./2.0 ml to Warburg flasks.

Table 4. Effects of n-Butyric Acid on Oxygen Uptake and Carbon Dioxide Output by *M. rouxianus*

endogenous			exogenous					
			0.1ml n-butyric acid			0.3ml n-butyric acid		
Q <sub>CO<sub>2</sub></sub>	Q <sub>O<sub>2</sub></sub>	Q <sub>CO<sub>2</sub></sub> /Q <sub>O<sub>2</sub></sub>	Q <sub>CO<sub>2</sub></sub>	Q <sub>O<sub>2</sub></sub>	Q <sub>CO<sub>2</sub></sub> /Q <sub>O<sub>2</sub></sub>	Q <sub>CO<sub>2</sub></sub>	Q <sub>O<sub>2</sub></sub>	Q <sub>CO<sub>2</sub></sub> /Q <sub>O<sub>2</sub></sub>
11.31	4.77	2.36	12.2	6.0	2.63	10.13	3.88	2.6

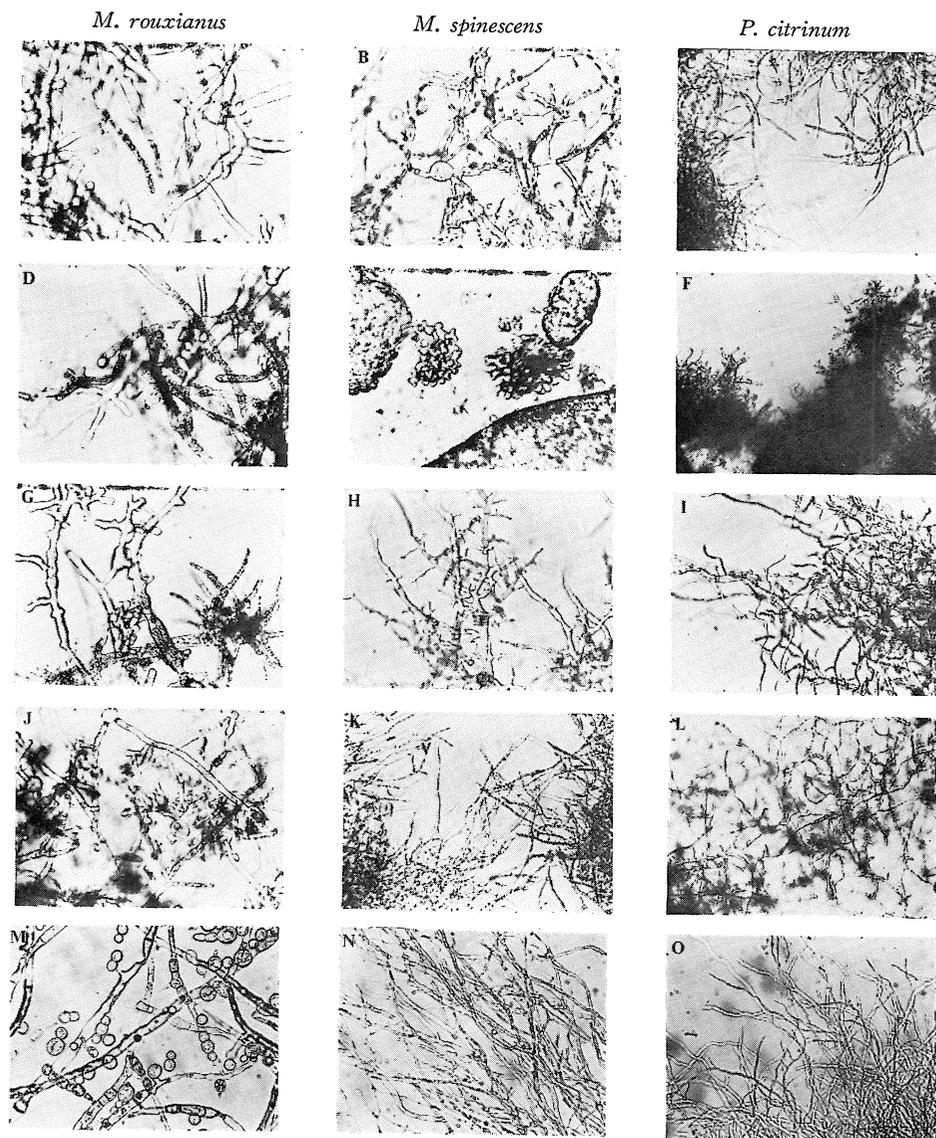


Fig. 3. Cell forms of three species of fungus grown on a YPF medium.  
Carbon source: (A), (B) and (C), 1% glucose; (D), (E) and (F), 1% lauric acid; (G), (H) and (I), 1% myristic acid; (J), (K) and (L), 1% palmitic acid; (M), (N) and (O), 0.2% n-valeric acid.

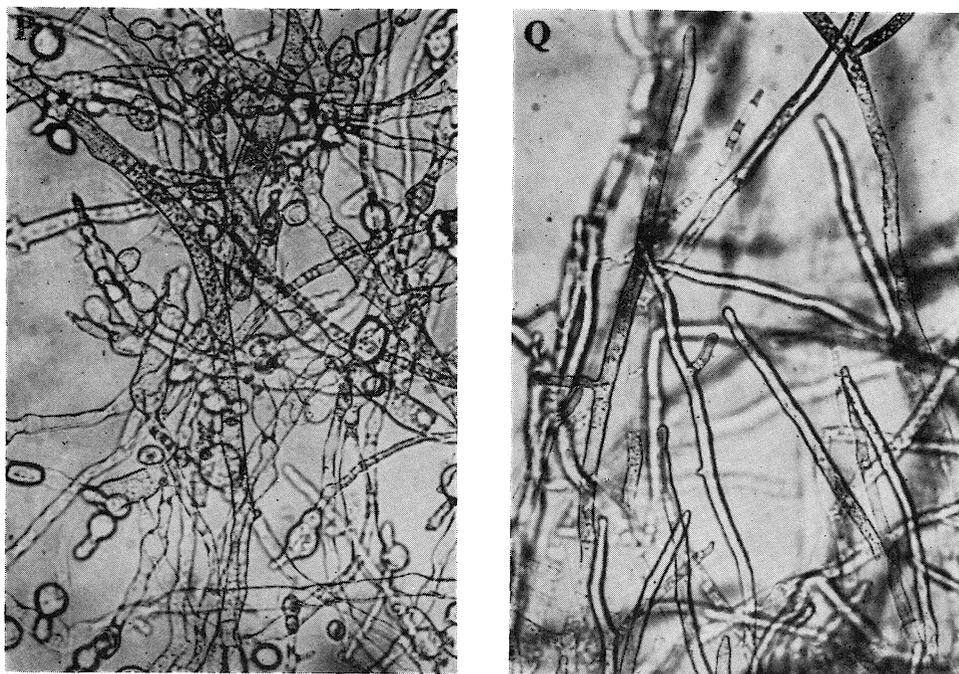


Fig. 4. The forms of cells of *M. rouxianus* grown in a YP medium. In this medium, carbohydrate and fatty acid as carbon source was not given. (P), Cells were grown on the shaking culture. (Q), Cells were grown on the static culture.

この Yeast-like cell は glucose をあたえて好氣的に培養すれば消失する。たゞし炭素源として valeric acid をあたえた場合には、Yeast-like cell は好氣的培養でも出現し、嫌氣的条件で消失した。(第4図—第7図)

#### 考 察

3種類の糸状菌の生長に対して、高級脂肪酸は炭素源としての意義を持つ。たゞ *P. citrinum* は lauric acid により著しい生長阻害を受けた。これは呼吸系酵素に対する阻害効果に起因するものである。おそらく細胞内に入った lauric acid が炭素鎖の長さが変わらずそのまま mitochondria 附近に浸透して(5)、その構造と機能に破壊的作用をおよぼすためであろう。また lauric acid は *Arthrobacter crystallopoietes* において lactate dehydrogenase と fumarase の活性を選択的に阻害することが認められているが(6)、*P. citrinum* に対しても同一阻害機作がはたらいっていることが考えられる。他の2種類の糸状菌に生長阻害をしない理由はまだ判らない。恐らく前記2種類の酵素に対する依存度が低いとか、mitochondria の膜を構成する脂質に差があるためであろうが、この点は今後解明しなければならぬ。低級脂肪酸は炭素源としての意義をあまり持たない。特に formic acid, butyric acid, valeric acid は生長に阻害効果をあらわす場合が多かった。その原因は、*P. citrinum* に対する lauric acid の場合と同様で

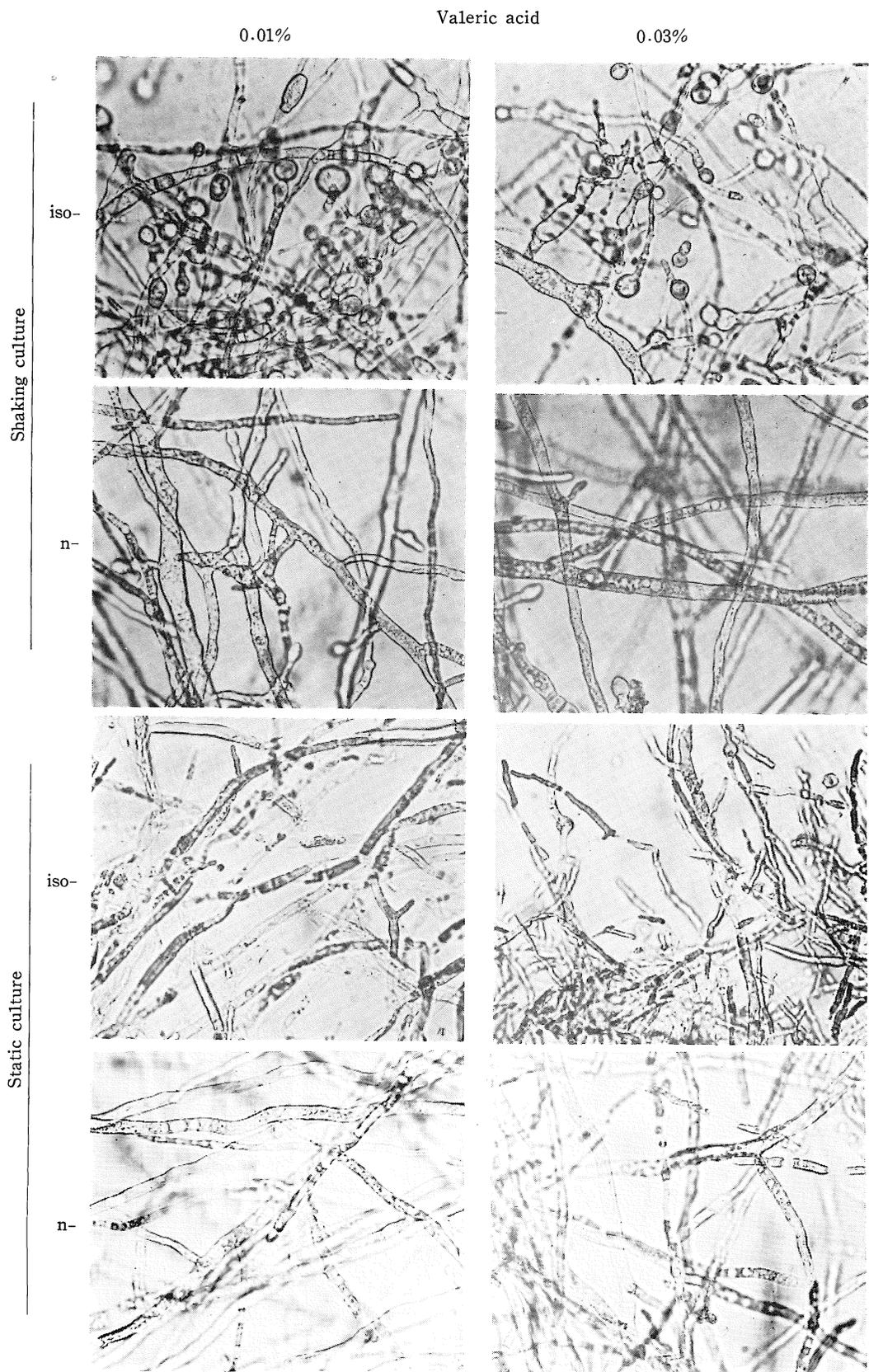


Fig. 5. Variation of cell form of *M. rouxianus* grown in a YPF medium. In this medium the carbon source was 0.01 and 0.03% of iso- and n-valeric acid.

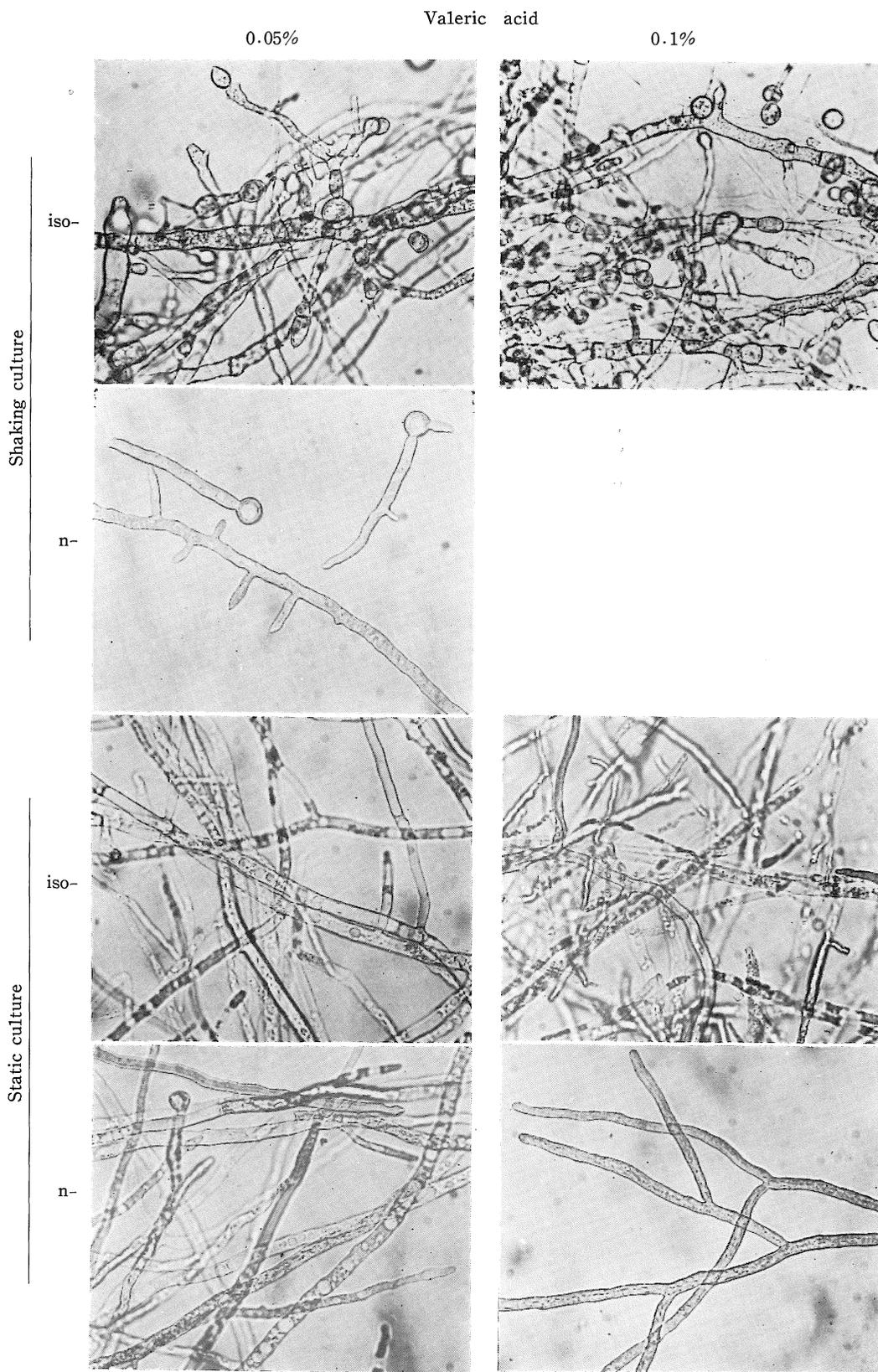


Fig. 6. Variation of cell form of *M. rouxianus* grown in a YPF medium. In this medium the carbon source was 0.05% and 0.1% of iso- and n-valeric acid. Cells of *M. rouxianus* were not detectable on 0.1% n-valeric acid shaking culture.



をあたえる。特に lauric acid および valeric acid が顕著な細胞形態の変化をあたえた。*M. rouxianus* は二酸化炭素によって嫌氣的に培養した際に Yeast-like cell を生ずる性質を持つものであるが(7), 0.2% iso-valeric acid は好氣的条件下の培養液中に Yeast-like cell を生ぜしめた。Yeast-like cell 形成の機構の説明はまだ現段階では不可能であるが、このことは注目すべき現象であると考えられる。

## 結 論

3種類の糸状菌 *M. rouxianus*, *M. spinescens*, *P. citrinum* の生長に対する炭素源としての脂肪酸は高級脂肪酸が有効で、低級脂肪酸は formic acid, butyric acid, valeric acid などにおいて生長阻害がみられた。lauric acid は *P. citrinum* の生長を阻害した。これらの生長阻害効果は、呼吸阻害に起因するものである。*M. rouxianus* の生長に対して oleic acid は glucose より良い炭素源となった。*M. rouxianus* は炭素源を欠除する培養液中で好氣的に培養すると、いわゆる Yeast-like cell を形成し、valeric acid を添加しても Yeast-like cell は消失しない。valeric acid の生長抑制効果は iso-valeric acid に比して n-valeric acid が大きかった。

## 文 献

1. COCHRANE, V. W. 1958. Physiology of Fungi, John Wiley & Sons Inc. pp. 82
2. STERN, A. M., Z. J. ORDAL and H. O. HALVORSON. 1954. J. Bacteriol. **68**: 24-27
3. ERIKSON, D. 1941. J. Bacteriol. **41**: 277-300
4. NISHIGAMI, K. 1968. Memoirs of the Faculty of Literature and Science. Shimane Univ. Natural Science. **1**: 68-75
5. CHAIKOFF, I. L., B. BLOOM, B. P. STEVENS, W. O. REINHARDT and W. G. DAUBEN 1951. J. Biol. Chem., **190**: 431-435
6. FERDINANDUS, J. and J. B. CLARK. 1969. J. Bacteriol. **98**: 1109-1113
7. BARTNIKI-GARCIA, S. 1963. Bacteriol. Reviews **27**: 293-304