

淺談真菌之毒素

郭建志

摘要

植物病原真菌在侵染寄主的過程中，除利用機械壓力入侵外，還可以產生酵素、毒素(toxin)、生長調節劑與多醣類等化學物質以利為害植物。其中真菌毒素在低濃度的條件下即可作用，是由真菌類所產生的一種低分子量二次代謝產物，且普遍存在於大自然中。Toxin在作用時，會與植物細胞某一特定部位結合，進而影響細胞膜的滲透性，或造成酵素的不活化，並且參與病原菌危害植物的過程，甚至可以加重病勢的發展。例如燕麥葉枯病(*Helminthosporium victoriae*)產生的HV-toxin，會改變細胞壁構造，增加細胞呼吸作用，降低生長及蛋白質合成；而*Phomopsis amygdali*產生的fumonisin，則可使桃樹、李樹的嫩葉枯萎等。此外，除了直接危害作物外，毒素亦可將累積在種子、穀物及飼料中，對動物及人類造成危害；其中受到重視的包括由*Aspergillus flavus*產生的黃麴毒素(aflatoxin)，會汙染花生、玉米及豆類等作物；鐮孢菌(*Fusarium* spp.)所產生的嘔吐毒素(deoxynivalenol, DON)、伏馬鐮孢毒素(fumonisin)可累積在麥類及玉米中；另外，青黴菌屬(*Penicillium* spp.)產生的毒素citrinin、citroviridin等，會侵入稻穀，造成黃變米(yellow rice)。上述毒素若汙染穀物或飼料，會對人類及動物造成相當程度的危害。當病原真菌侵入植物時，某些抗性植物本身會產生解毒作用(detoxification)，進而避免真菌毒素的危害。此外，一些有益微生物，如木黴菌(*Trichoderma* spp.)及螢光假單孢菌(*Pseudomonas fluorescens*)可以抑制毒素對植物的破壞及降低病原真菌的致病力，達到保護作物的效果。為了防止毒素對於作物的危害及累積在穀物及種子中，在作物生育過程中，應避免病原菌的感染與族群的建立，採收後，則可藉由檢測的方式測定真菌毒素的含量，並藉由調控儲藏條件來遏止病原菌的生長。另外，多數重要毒素的生合成機制正在研究中，其試圖找出阻礙其合成的關鍵點，方能大大降低毒素對於作物、人類及動物的危害。

前言

真菌可以利用物理與化學的方式來侵入動植物，其中真菌的化學武器包括利用酵素(enzymes)、生長調節劑(growth regulators)與多醣類(polysaccharides)及毒素(toxin)，以利為害植物(3,4)。其中毒素為真菌在生長過程中所產生的二次代謝物，大多數為低分子量，很少量濃度即可發生作用，造成危害，通常毒素分子並會與植物或動物細胞上的某一部位結合，進而影響其代謝反應。對於植物有害的真菌毒素稱為Phytoxin植物毒素；對動物有害的真菌毒素稱為Mycotoxin黴菌毒素；

對於微生物有害的稱為Antibiotics，一般習稱的抗生素。許多真菌感染穀物，同時在穀物上生長並產生毒素，對於動物及人類都具有相當大的危害，黴菌毒素是黴菌的二次代謝物，並且普遍存在於大自然中。全球主要產生黴菌毒素的四種黴菌屬包括黃麴菌屬(*Aspergillus*)、鐮孢菌屬(*Fusarium*)、青黴菌屬(*Penicillium*)、麥角菌屬(*Claviceps*)。近期阿根廷對於鏈格孢屬(*Alternaria*) 毒素的調查，也使得鏈格孢屬歸類為第五種毒素。以下內容主要探討 Phytotoxin與Mycotoxin的分類特性與解毒作用。

內容

一、真菌毒素的特性介紹

Phytotoxin依照特性可分為非寄主專一性毒素(Non Host-specific toxin) 與寄主專一性毒素(Host specific toxin)。非寄主專一性毒素：它並非造成病害的絕對因素，而是強化該病菌的致病毒力(virulence)，它亦可在非寄主植物上引起作用，沒有寄主選擇性。這類毒質被研究較多的有：Tabtoxin，由*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*，可造成煙草野火病，其典型病斑為中央褐色壞疽斑，周圍有黃色暈環，此黃化環即由該細菌所分泌的野火病毒質所造成的。alternaric acid，由番茄、馬鈴薯早疫病菌所產生。另外，由*Phomopsis amygdali* 產生的Fusiocin，可造成桃樹或杏樹的嫩枝枯萎。寄主專一性毒素：只對該病原菌之寄主植物的感病品種(susceptible varieties)有毒害作用，而對抗病品種或非寄主植物則毒性很低或無毒害，且為引起該疾病發生的決定性物質，這類的毒質到目前所知的有：

1. *Alternaria kikuchiana* 毒質：廿世紀梨黑斑病菌所產生。
2. *Helminthosporium victoriae* 毒質：燕麥立枯病菌所產生。
3. *Periconia circinata* 毒質：高粱根莖腐敗病(milo disease)菌所產生。
4. *Helminthosporium carbonum* 毒質：玉米斑點病菌所產生。
5. *Alternaria mali* 毒質：蘋果黑斑病菌所產生。
6. *Helminthosporium turcicum* 毒質：玉米煤紋病菌所產生。
7. *Helminthosporium maydis* 毒質：玉米葉枯病菌所產生。
8. *Helminthosporium sacchari* 毒質：甘蔗眼點病菌所產生。

其中*Helminthosporium maydis* Race T，僅感染美國1968年所推廣的雄不稔玉米品種，及含有Texas male sterile(Tms) cytoplasm之玉米，具有正常細胞質之玉米則具有抵抗力。經研究T-toxin作用於粒線體上抑制酵素功能使得能量代謝異常Race T-toxin 會辨認Tms細胞質內的粒線體膜蛋白，而產生親和作用，為感病：T-toxin無法辨認正常細胞質內的蛋白為不親和作用，產生抗病⁽⁵⁾。

黴菌毒素(Mycotoxin)為真菌感染穀物後，所產生的二次代謝產物，目前估計約超過500種以上的毒素被發現存在於世界上各類的穀物及飼料中，此類的毒素會污染食品 and 飼料，是全球性的問題，目前較受重視的黴菌毒素包括黃麴毒素

(aflatoxin)、橘黴素(citrinin)、脫氧雪腐鐮刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)、赭麴毒素(ochratoxin)、棒麴毒素(patulin)、T-2鐮刀黴菌毒素(T-2 trichothecene)、麥角生物鹼(ergot alkaloids)和玉米赤黴烯酮(zearalenone; ZEA)等⁽¹⁾，以美國和加拿大之飼料業和家畜業而言，因為黴菌毒素的感染及危害，每年損失可達50億美金。以下單就重要的黴菌毒素之特性介紹：

1. 黃麴毒素(aflatoxin)：黃麴毒素經常污染花生、玉米、米與豆類等農作物，主要是由*Aspergillus flavus*和*A. parasiticus*所產生。黃麴毒素可分為多種型式：其中最主要的是B1、B2、G1、G2以及B型黃麴毒素代謝所產生之物質M1及M2，由於黃麴毒素可以耐高溫，因此以高溫烹煮無法有效去除。黃麴毒素對人類及動物具高度肝臟毒性，致突變性及致癌性。因此1987年國際癌症研究中心(IARC)已將黃麴毒素列為人類致癌物Group 1名單上⁽¹⁾。
2. 橘黴素(citrinin)：常被發現存在於紅麴乾粉、小麥、黑麥、玉米或乳製品中。不同紅麴菌株，其橘黴素合成有很大的差異，*Monascus purpureus*、*M. ruber*和*M. kaoliang*具有橘黴素的基因群。橘黴素的症狀包括下瀉、肝腎損傷、腫脹進而壞死。衛生署於98年公告訂定穀類及含紅麴之食品中橘黴素之檢驗及限量，紅麴色素200 ppb以下，原料用紅麴米5 ppm以下，紅麴原料製成之食品2 ppm以下⁽¹⁾。
3. 赭麴毒素(ochratoxin)：常發現於咖啡豆、可可粉、豆類等農作物。在許多種的麴菌包括*Aspergillus alliaceus*、*A. auricomus*、*A. carbonarius*、*A. glaucus*、*A. melleus*等之代謝產物中。赭麴毒素對所有受測試的動物皆有造成腎毒性的現象發生，目前已知其具有腎毒性、致畸胎性、免疫毒性、生殖毒性、神經毒性、致癌性與遺傳毒性等。行政院衛生署2009年公告訂定米、麥類限量標準5ppb以下，而在2012年增修咖啡類食品限量標準5ppb以下⁽¹⁾。

除上述三種重要黴菌毒素外，還有由鐮孢菌屬(*Fusarium*)的真菌可產生多種的黴菌毒素，研究較多的鐮孢菌毒素(Trichothecenes)為伏馬鐮孢毒素(fumonisin)、脫氧雪腐鐮刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)、T-2鐮刀黴菌毒素(T-2 trichothecene)及玉米赤黴烯酮(zearalenone; ZEA)等^(1,3)。

4. 鐮孢菌毒素(Trichothecenes) 毒素：

- (1) 伏馬鐮孢毒素(fumonisin)：具有產生此類毒素能力之真菌有*Fusarium*屬的*F. verticillioides* (*F. moniliforme*)、*F. proliferatum*、*F. nygamai*、*F. napiforme*、*F. dlamini*、*F. oxysporum* var. *redolens*、*F. anthophilum*等，以及*Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*。其中又以*F. verticillioides*之產毒能力最強。該毒素會造成動物多種致命性之疾病，且針對不同的動物會傷及特定之標的器官，例如會造成馬的腦白質部軟化症(equine leukoencephalomalacia, ELEM)外，亦會造成豬的肺水腫、大鼠肝病、肝及腎腫瘤等，並且可使禽類的免疫系統受到干擾和造成肝腎的受傷，甚至會產生體重不足與死亡的現象。目前為止，已發現6種不同的伏馬鐮孢毒素(A1, A2, B1, B2, B3, B4)，此毒素單一機

制會破壞鞘脂合成，它們在家禽中毒素很低，但是飼料中如玉米有高毒素濃度，並且會隨其他毒素一起出現^(1,6)。

- (2) 脫氧雪腐鏟刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)：又稱嘔吐毒素，常存在於穀類植物的燕麥、大麥、小麥、黑麥、玉蜀黍及稻穀。*F. graminearum*小麥赤黴病菌和*F. culmorum*是主要產DON毒素之菌株。進入人體或動物體的DON會引起腹痛、腹瀉、腸胃炎、出血性腹瀉、內毒性血症等急性毒性，以及厭食、體重減輕、消化能力下降等慢性中毒症狀⁽¹⁾。
- (3) T-2鏟刀黴菌毒素(T-2 trichothecene)：常見於穀物如小麥、大麥、玉米、燕麥、米、高粱及黃豆等，為*Fusarium poae*、*F. sporotrichioides*、*F. moniliforme*、*F. culmorum*及*F. graminearum*等之二級代謝產物。T-2毒素會造成皮膚水腫、內皮出血、皮膚壞死、皮膚炎等症狀。而在國內方面，食品衛生管理法規範食品中真菌毒素的含量，未包括鏟刀黴菌毒素⁽¹⁾。
- (4) 玉米赤黴烯酮(zearalenone)：常存在於玉米、大麥、燕麥、小麥、稻米等，甚至於穀物的加工製品，受*F. graminearum*、*F. culmorum*和*F. sporotrichioides*等黴菌污染所產生⁽¹⁾。

二、影響真菌毒素產生的因子(以伏馬鏟孢毒素 fumonisins 為例)

1. 最適培養溫度與天數測定產毒率：

在16、20、24、28、32及36°C下分別以玉米粉液態培養基培養*F. proliferatum* ST-P01菌株，結果於各溫度下，皆在培養第5天後開始有毒素之產生，其中以在28°C及32°C培養10天後，伏馬鏟孢毒素有明顯的累積。在32°C培養10天後，產毒量逐漸達300 ppm，但超過10天後其產毒量無明顯增加。在28°C培養15天後，伏馬鏟孢毒素產量仍持續累積，培養20天其毒素產量超過200ppm。其餘溫度16、20、24及36°C培養20天後其毒素產量皆低於100ppm⁽⁶⁾。

2. 培養基基質種類對供試菌株產毒的影響：

以紫糯米、白米、糙米、小米、玉米、燕麥、裸麥、小麥、蕎麥共9種穀物製備成液態培養基，各加入1 ml濃度為 1×10^5 conidia/ml的ST-P01菌株之孢子懸浮液，於32°C之定溫培養箱中靜置培養10天，利用HPLC測定各處理產生伏馬鏟孢毒素之濃度。其結果各種不同穀類基質在接種ST-P01菌株後，皆有菌絲纏據及基質出現變色的情形，經分析結果，各培養基質皆檢測有其毒素存在，其中以紫糯米、玉米及糙米等三種穀類作為培養基所偵測到的毒素含量最高，分別為35.43、34.35及25.99 ppm⁽⁶⁾。

三、生物解毒作用

1. 植物本身的解毒作用

Pedras等人研究發現，由十字花科黑斑病菌(*Alternaria brassicae*)產生的phytoxin destruxin B可被具抗性植物白芥*Sinapis alba*中可分解病原真菌產生的toxin，將其分解成另一代謝產物hydroxydestruxin B後可被植物辨識，進而促使植物產生植物抗菌素(Phytoalexins)啟動植物防禦反應，抵抗病原菌的入侵^(8,9)。

2. 有益微生物解毒作用

Malathi 等人研究一些土壤有益微生物，例如螢光假單孢菌 *Pseudomonas fluorescens* 木黴菌 *Trichoderma harzianum* 與甘蔗赤腐病菌 *Colletotrichum falcatum* 純化後的毒素 CoC86062 和 CoC92061 共同接種於甘蔗葉片上，經數天後，可以抑制甘蔗赤腐病菌 *C. falcatum* 毒素病斑的產生⁽⁷⁾。

四、預防真菌毒素感染的防治策略

溫度與濕度的氣候條件是導致農作物遭黴菌感染並產生毒素的最重要因素，預防勝於治療，遭污染的農產品藉由物理或化學的方法去除毒素總是緩不濟急，而且浪費更高的成本，因此穀物控制黴菌毒素的發生可藉由收穫前及收穫後的良好田間防治作業規範^(1,2)。

收穫前防治策略：可使用清潔種子、輪作方式、栽培抗病品種、注意田間衛生及適當的使用化學及微生物藥劑處理，以降低病原真菌的族群數量。

收穫後防治策略：

- (1) 調整儲藏時期的環境條件，包括溫度與水分含量控制避免讓病原菌產生毒素。
- (2) 有效的檢測方式：目前針對於真菌毒素常用的檢測方法為利用 TLC、HPLC 和 GC 技術來檢測毒素，可與標準品相比，最為準確，為目前常用方式。
- (3) 利用物理方式去汙染：色彩選別、吸附劑如活性碳、黏土降低毒素、熱處理等⁽¹⁾。

結語

近年來，由於穀物與食物的貿易進出口與全球氣候情況的變化，無疑地，將會有越來越多種類的黴菌出現。目前約有 500 種的黴菌毒素已經被鑑定出來，目前全世界的科學家所要挑戰的是未知黴菌毒素的種類和分析方法，並量化未知的影響。目前台灣針對幾種毒素的檢測已有良好的檢測流程，搭配良好的田間操作方式與採收後適當的溫度與水分控管，降低真菌毒素的產生，將可減少對人體及動物的危害。

參考文獻

1. 黃錦城。2010。黴菌毒素之危害及控制。食品工業。42(4): 1-3。
2. Amusa, N. A. 2006. Microbially produced phyto toxins and plant disease management. *Afric. J. Biotechnol.* 5(5): 405-414.
3. Desjardins, A. E. 2007. *Fusarium Mycotoxins: Chemistry, Genetics, and Biology*. St. Paul, MN: 259pp APS Press.

4. Horbach, R., A. R. Navarro-Quesada, W. Knogge and H. B. Deising. 2011. When and how to kill a plant cell: infection strategies of plant pathogenic fungi J. Plant Physiol. 168(1): 51-62.
5. Jonathan E. M. and H. Jacques. 2001. Host-selective toxins as agents of cell death in plant-fungus interaction Mol. Plant Pathol. 2(4): 229-239.
6. Lin, S. R., T. S. Deng, T. C. Lin, Y. K. Fan and J. W. Huang. 2010. Identification for *Fusarium* species producing fumonisin B1 and factors affecting the mycotoxin production. Plant Pathol. Bull. 19: 191-200.
7. Malathi, P., R. Viswanathan, P. Padmanaban, D. Mohanraj and S. A. Ramesh. 2002. Microbial detoxification of *Colletotrichum falcatum* toxin Curr. Sci. 83(6): 745-748.
8. Ottmann, C., B. Luberacki., I. Kufner., W. Koch., F. Brunner. And M. Weyand. 2009. A common toxin fold mediates microbial attack and plant defense. Proc. Natl. Acad. Sci. 106: 10359-10364.
9. Pedras, M. S. C., I. L. Zaharia., Y. Gai., Y. Zhou and D. E. Ward. 2001. In planta sequential hydroxylation and glycosylation of a fungal phytotoxin: avoiding cell death and overcoming the fungal invader. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98: 747-752.