

## *Fusarium* 균주의 배양 조건 및 생리적 조건에 따른 T-2 toxin의 생성 조건

홍성희\* · 양규환<sup>1</sup>

미국 국립보건원 임연연구소, <sup>1</sup>한국과학기술원 생물과학과

불완전 균류인 *Fusarium* spp. 를 이용하여 여러 가지 배양조건과 생리적 영향에 따른 균주의 성장 및 T-2 toxin의 생성에 관하여 고찰하였다. T-2 toxin의 검출방법은 thin layer chromatography (TLC) 법과 미생물학적 검출방법을 사용했다. 고체 배지의 경우 흰 옥수수 가루(Quaker사 제품) 배지에서 다른 곡물보다 많은 양의 T-2 toxin이 생성되었으며, 비교적 깨끗한 T-2 toxin이 정제되었다. 이 경우 배지 100 g 당 약 700 mg의 T-2 toxin이 생성되었으며, 그 중 약 30% 정도가 깨끗한 결정으로 정제되었다. 고온(20-25°C)에서는 생장은 많았으나, T-2 toxin의 생성은 적었으며, 저온(10-15°C)에서는 비교적 생장은 적었지만, T-2 toxin의 생성은 많았다. 탄소원의 경우, 갈락토오스, 과당, 설탕, 포도당으로 키웠을 때, 생장도 많았고, 비교적 T-2 toxin의 생성도 많았고, 젖당, 글리세롤, 솔비톨의 경우는 적었다. 유일 탄소원으로 구연산과 초산은 이용하지 못하였으며, 녹말의 경우 생장은 많았으나 T-2 toxin의 생성량은 적었다. 질소원의 경우 NaNO<sub>2</sub>를 제외하고는 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub>를 거의 동일하게 이용하였다. 초기 pH 값에 생성과 균주의 성장은 pH 4.0-5.0일 경우 최적을 나타냈으며 pH 6.0 이상에서는 성장도 저하되고, T-2 toxin생성도 적었다. 회전속도에 따른 T-2 toxin 생성과 균주의 성장을 보면 회전속도가 속도가 증가함에 따라 균주의 성장과 T-2 toxin 생성량이 모두 증가하였다. 15°C에서 7일간 배양 후, 25°C로 옮겨 7일간 배양하여, toxin의 생성을 보면, 15°C에 7일간 배양했을 때보다 T-2 toxin양이 적었다. 이는 생성되었던 T-2 toxin이 분해되었음을 보여주는 것이다. 이상의 결과로 볼 때 T-2 toxin 대사 경로는 온도에 의한 효소 억제 또는 효소 유도 시스템에 의해 조절되는 것이라고 생각할 수 있다.

**Key words** □ microbiological assay, T-2 toxin, thin layer chromatography

### 서 론

Mycotoxins은 *Aspergillus*, *Fusarium*과 *Penicillium* 등 여러 종류의 식품부패 곰팡이에 의해 생성되는 2차 부산물이다. Mycotoxin은 식품에 오염되어 사람이나 동물에 여러 독성을 일으킨다. T-2 toxin은 많은 종의 곰팡이 균주에서 생성되는 trichothecene계의 mycotoxin이다(5). Trichothecene mycotoxin은 tetracyclic 12, 13-epoxy-trichothec-9-ene골격을 가지는 화합물이고, *Fusarium*, *Mycrothecium*, *Trichoderma*, *Cephalosporium*, *Stachybotrys*와 같은 곰팡이에서 만들어진다(1,4). Trichothecene 식품독성의 증상을 보면 어지러움증, 구토, 염증, 출혈, 음식거부, 설사, 골수의 파괴 등을 들 수 있다(9,10) T-2 toxin은 사람이나 동물의 여러 기관에 영향을 미치는데, 특히 면역기관에 많은 영향을 미친다(7). T-2 toxin은 무색결정체로서 chloroform이나 acetone 같은 유기용매에 잘 녹으며, 물이나, 헥산, petroleum ether 같은 용매에는 녹지 않으며, 화학물질과 열에 상대적으로 안정적이다 T-2 toxin은 곡물 수확 후 겨울 저장기간 동안 생성되어 많은 사람 및 동물에 피해를 주고있는 독소로서 그 중요성

이 대두되어 왔다. 본 논문에서는 T-2 toxin의 분리 및 검색 방법이 정립되었으며 독소생성의 여러 배양 및 생리적 조건들의 연구되었다.

### 재료 및 방법

#### 균주

*Fusarium tricinctum* NRRL 5299, *Fusarium tricinctum* T-340, *Fusarium tricinctum* T-341, and *Fusarium sporotrichoides* T-2 등이 연구에 사용되었다. 균주들은 Yeast-Malt (YM) agar slant에 25°C에서 7 일간 키운 후 냉장고에 보관하였다. 모든 균주들은 1달 간격으로 새 배지에 배양하여 보관하였다.

#### 배지

고체배지로 옥수수, 쌀, 보리, 귀리, 밀을 갈아서 사용하였으며, 귀리 가루와 흰 옥수수가루는 Quaker Oats 사로부터 구입하였다. 액체배지의 경우, Richards solution (50 g/l sucrose, 10 g/l KNO<sub>3</sub>, 5 g/l KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.22 g/l MgSO<sub>4</sub>, 0.012 g/l FeCl<sub>3</sub>)이 사용되었다. 모든 배지는 121°C 15 lb로 20분간 멸균하였다.

#### 집중 준비와 배양

*Fusarium*의 Conidia는 균주를 YM agar slant에서 25°C에서

\*To whom correspondence should be addressed.  
Tel: 1-301-496-7642, Fax: 1-301-435-8036  
E-mail : hongsm@mail.nih.gov

14 일 간 배양하여 만들었다 배지상의 Conidia를 접종 루프로 잘 긁어내어, 10 ml의 멸균한 증류수에 탁할 정도의 농도가 되게 수용액을 만들었다. 고체배지의 경우, 4.5 ml의 위 수용액과 25 ml의 멸균한 증류수를 100 g의 배지에 첨가하였다. 액체배지의 경우, 2.0 ml의 위 수용액을 100 ml의 배지에 첨가하였다. 모든 액체배양은 New Brunswick Gyrotatory Shaker로 하였고, 회전 속도에 의한 실험을 제외하고는 150 rpm으로 행하였다.

### T-2 toxin의 분리

고체배지의 경우, 1 l의 chloroform-acetone (85:15 v/v)을 배양된 배지에 첨가하여, 2 내지 5 분간 blender로 갈았다. 이렇게 갈아진 배지를 세 층의 거즈로 거른 후 걸린 고형 성분을 다시 위의 용매 1 l를 섞어, 위의 과정을 3 번 반복하였다. 액체배지의 경우, Whatman No. 2 paper로 배양액을 거른 후, mycelium의 건조 중량을 70°C에서 24 시간 건조 후에 측정하였다. 걸러진 용액은 포화 탄산나트륨으로 pH를 9.0으로 조정 한 후, chloroform을 용매로 분리 깔때기(separatory funnel)를 사용하여 분리하였다. 이렇게 모은 chloroform 층을 합쳐서 진공건조기 속에서 황화나트륨으로 건조시켰다. 모든 경우, 20 ml의 용액은 정량에 사용되었고, 나머지는 결정으로 분리하였다.

### T-2 toxin 정제

차별 용매추출 (differential solvent extraction) 방법으로 T-2 toxin을 정제하였다(2).

### Thin layer chromatography (TLC)에 의한 T-2 toxin의 검색

TLC 판 (silica gel 60F, Merck Co)을 2×8 cm (넓이×길이)로 잘라 사용하였다. T-2 toxin을 아세톤에 녹여 표준 독소 용액을 만든 후(1 mg/ml), 0, 2, 5, 10, 15, 20 µg 상당의 용액을 마이크로피펫을 이용하여 TLC판에 적용했다. TLC판은 toluene-ethylacetate (1:3 v/v) 용액으로 처리하였고, 공기중에서 건조 후, color developing solution (675 ml ethanol, 18.5 ml p-anisaldehyde, 25.0 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, and 7.5 ml acetic acid)에 담구었다. 이후 건조하여 열판 위에서 구웠다. 샘플의 독소의 양은 표준판의 독소 밴드의 크기와 검기를 비교하여 결정하였다. 실험은 최소 3 번 반복하였다.

### 미생물학적 방법에 의한 T-2 toxin의 검색

미생물학적 검색 방법은 Burmester과 Hesseltine의 방법을 따랐다(3). 간략히, 지름 12.1 mm 크기의 원판을 Whatman 여과지로 만들어, 독소 표준용액과 샘플을 원판에 적용하여 70°C에서 30 분 간 건조시켜 사용하였다. *Rhodotorula rubra* NRRL Y-7222를 YM agar slant에 25°C에서 48 시간 동안 배양하여 slant를 긁어서 세포수용액을 만들었다. 그리고 이 수용액을 YM broth에 600 nm에서 optical density가 0.3이 되도록 희석하였다. 이렇게 준비된 표준 이노쿨럼을 미리 녹여 45도로 식힌 아가배지 6 ml에 섞어 100×15 mm의 페트리 디쉬에 부었다. 위에서 만든 원판을 아가배지 위에 놓은 후, 25°C에서 40 시간 배양하였다. 표준 독소와 샘플의 성장 저해구역을 비교하여 샘플의 독

소 양을 결정하였다. 실험은 최소 3 번 반복하였다.

### T-2 toxin의 처리

T-2 toxin에 오염된 모든 실험기구들은 sodium perchlorate를 함유한 8% 클로락스 용액에 24 시간 처리하였다.

## 결 과

### T-2 Toxin의 TLC 및 미생물학적 분석

T-2 toxin은 toluene-ethylacetate (1:3 v/v)를 써서 분리할 경우, 0.53의 Rf 값을 보인다. T-2 toxin은 yeast인 *R. rubra* NRRL Y-7222의 성장을 저해한다. YM agar에서 T-2 toxin 농도에 따른 *R. rubra*의 성장 저해를 측정하였다. T-2 toxin 농도 4에서 12 µg 사이에서 T-2 toxin 농도와 *R. rubra*의 성장 저해지역의 지름간에는 직선관계가 성립되었다(Fig. 1).

### 배양 후 분리한 T-2 toxin의 수율

약 30~40%의 독소가 분별용매 분리방법에 의해 정제되었다. TLC에 의하면 이렇게 분리된 결정이 표준 T-2 toxin 밴드에 상응하는 단 하나의 밴드를 보이는 아주 순수한 T-2 toxin임을 보여 주었다. Mass spectrum도 역시 이 결정체가 T-2 toxin임을 보여주었다(자료 생략).

### 균주 스크리닝

네 종류의 *Fusarium* 균주들을 흰 옥수수 가루 배지로 15°C에서 14일 간 배양한 결과, *F. tricinctum* NRRL 3299가 가장 독소 생산이 많았다(Table 1). 이후의 모든 실험을 이 균주를 사용하여 행하였다.

### 고체배지의 선택

최적의 고체배지 선정을 위해 여러 종류의 고체배지를 시험하였다 *F. tricinctum* NRRL 3299를 15°C에서 14일 간 배양한 결

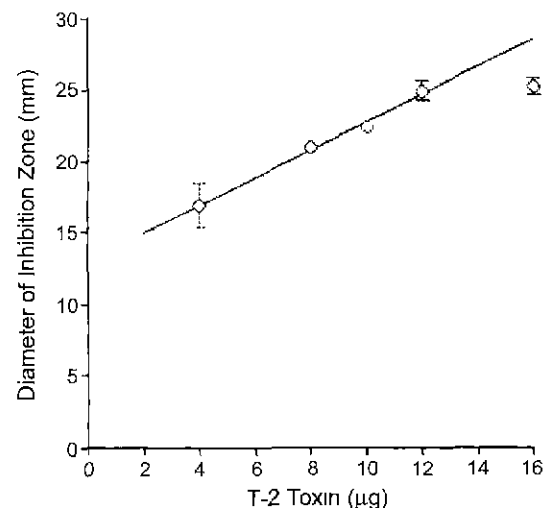


Fig. 1. Inhibition zone by standard T-2 toxin by microbiological assay

**Table 1.** T-2 toxin production by four strains of *Fusarium* sp. on white corn grit<sup>1</sup>

Strain	T-2 toxin (µg/100 g media) <sup>2</sup>
<i>F. tricinctum</i> NRRL 3299	743.4
<i>F. tricinctum</i> T-340	455.6
<i>F. tricinctum</i> T-341	125.3
<i>F. sporotrichoides</i> T-2	118.6

<sup>1</sup>Grown at 15°C for 14 days

<sup>2</sup>Quantitated by microbiological assay

**Table 2.** T-2 toxin production on various solid media by *F. tricinctum* NRRL 3299<sup>1</sup>

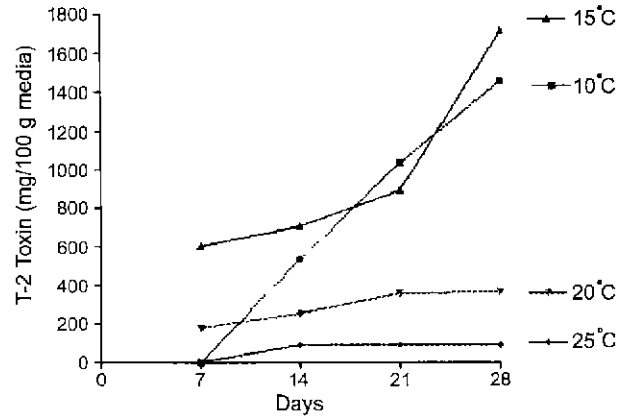
Media	T-2 Toxin (µg/100 g media)	
	TLC assay	Microbiological assay
Polished rice	493.8	485.6
Unpolished rice	619.5	600.3
Glutenous rice	406.5	422.7
Corn	264.5	211.9
White corn grit	708.0	743.4
Barley	Trace	Trace
Wheat	Trace	Trace
Oats	165.3	158.9

<sup>1</sup>Grown at 15°C for 14 days

과 흰 옥수수 가루 배지에서 독소 생성 가장 많았다(Table 2). 이후의 고체배지 실험은 흰 옥수수 가루 배지로 행하였다.

**온도 및 배양 기간에 따른 T-2 toxin 생성**

고체배지의 경우, 균주는 높은 온도에서 잘 자라지만, 독소 생성은 낮은 온도에서 많았고, 배양기간이 증가할수록 독소 생성도 증가하였다(Fig. 2). *F. tricinctum* NRRL 3299 균주는 15°C에서 28일 간 배양 시, 100 g의 흰 옥수수 가루 배지 당 약 1500



**Fig. 2.** T-2 toxin production according to temperature and incubation time on solid media by *F. tricinctum* NRRL 3299.

mg의 T-2 toxin을 생산하였다. 액체배지의 경우, 고체배지에 비해 독소 생성은 적었으나, 독소 생성 경향은 고체배지의 경우와 비슷하였다(Table 3). 액체배양의 경우 배양시간이 경과함에 따라 pH가 증가되는 경향을 보였다.

**탄소원이 T-2 toxin 생성에 미치는 영향**

Richards solution에서 설탕 대신에 다른 탄소원을 넣어 각종 탄소원이 T-2 toxin 생성에 미치는 영향을 조사하였다(Table 4). 갈락토오스, 과당, 설탕, 포도당의 경우 생장도 많았고, 비교적 T-2 toxin의 생성도 많았으나, 젖당, 글리세롤, 솔비톨의 경우는 적었다. 유일 탄소원으로 구연산과 초산은 이용하지 못하였으며, 녹말의 경우 생장은 많았으나, T-2 toxin의 생성량은 적었다. 최종 pH는 모든 경우 다소 증가하였다.

**질소원이 T-2 toxin 생성에 미치는 영향**

각종 질소원이 T-2 toxin 생성에 미치는 영향을 조사한 결과, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub>를 사용한 배지에서 배지 100 ml 당 약 150 g의 T-2 toxin 이 생성되었다(Table 5). NaNO<sub>2</sub>를 사용한 배지에서는 자라지 못하였다. 최종 pH는 KNO<sub>3</sub>와 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>의 경우 증가하였고, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>와 NH<sub>4</sub>Cl의

**Table 3.** T-2 toxin production, fungal growth, and pH change according to temperature and incubation time on Richards solution by *F. tricinctum* NRRL 3299

Temp. (°C)	Incubation time (days)	Fungal growth (mg/100 ml media)	Initial pH	Final pH	T-2 Toxin (µg/100 ml media)	
					TLC assay	Microbiological assay
10	7	44.5	4.35	4.80	trace	trace
	14	351.0		5.90	138	152
	21	844.5		6.70	180	186
	28	1265.0		6.86	253	244
15	7	60.0	4.35	5.60	trace	trace
	14	731.5		6.65	125	130
	21	1068.0		6.76	168	170
	28	1229.0		7.25	225	220

**Table 4.** Effects of carbon sources on the T-2 toxin production by *F. tricinctum* NRRL 32991<sup>1</sup>

Carbon source	Fungal growth (mg/100 ml media)	Initial pH	Final pH	T-2 toxin ( $\mu\text{g}/100\text{ ml media}$ )	
				TLC assay	Microbiological assay
Galactose	899.5	4.31	7.14	125	137.5
Fructose	627.0	4.33	6.47	100	102.5
Glucose	675.0	4.30	6.30	100	117.5
Sucrose	731.5	4.35	6.65	125	130
Lactose	10.0	4.30	4.50	tracc	trace
Starch	812.0	3.68	7.11	35	trace
Glycerol	25.0	4.38	5.03	25	trace
Sorbitol	325.0	4.33	6.08	40	trace
Citrate	No growth	1.64	n/a	n/a	n/a
Acetate	No growth	2.27	n/a	n/a	n/a

<sup>1</sup>Grown at 15°C for 14 days

n/a, not available

**Table 5.** Effects of nitrogen source on the T-2 toxin production by *F. tricinctum* NRRL 32991<sup>1</sup>

Nitrogen source	Fungal growth (mg/100 ml media)	Initial pH	Final pH	T-2 toxin ( $\mu\text{g}/100\text{ ml media}$ )	
				TLC assay	Microbiological assay
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	841.0	4.49	2.26	150	175
NH <sub>4</sub> Cl	501.5	4.19	2.11	151	145
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	745.0	4.23	5.55	150	155
KNO <sub>3</sub>	731.5	4.35	6.65	125	130
NaNO <sub>2</sub>	No growth	5.07	n/a	n/a	n/a

<sup>1</sup>Grown at 15°C for 14 days

n/a: not available

**Table 6.** Effects of initial pH on the T-2 toxin production by *F. tricinctum* NRRL 32991<sup>1</sup>

Initial pH	Fungal growth (mg/100 ml media)	Final pH	T-2 toxin ( $\mu\text{g}/100\text{ ml media}$ )	
			TLC assay	Microbiological assay
4.0	975.5	7.64	125	120
5.0	645.0	6.85	100	102.5
6.0	545.0	6.04	25	trace
7.0	266.0	7.34	trace	trace
8.0	175.0	7.79	trace	trace

<sup>1</sup>Grown at 15°C for 14 days

경우 감소하였다.

**초기 pH가 T-2 toxin 생성에 미치는 영향**

Richards solution을 0.05 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>과 0.05 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>로 초기 pH를 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0으로 조절하였다. pH 4.0 와 5.0에서 성장 및 독소 생성이 많았고, pH 6.0 이상에서 성장 및 독소 생성이 적었다(Table 6).

**회전속도가 T-2 toxin 생성에 미치는 영향**

회전속도는 성장 및 독소 생산량을 증가시켰다(Table 7).

**성장요소가 T-2 toxin 생성에 미치는 영향**

Yeast extract를 Richards solution에 첨가하였을 경우, 성장이 증가하였고, T-2 toxin 생성도 약간 증가하였다(Table 8).

**온도 변화 실험**

15°C에서 일주일간 곰팡이를 키운 후(602 mg/100 g media), 25°C에 옮겨서 7일 간 더 배양하였다. 높은 온도로 옮겨서 배양한 경우(308 mg/100 g media), 옮기지 않은 경우(708 mg/100 g media)보다 독소의 생성이 적었다. 이는 낮은 온도에서 생성된 독소가 높은 온도에서 분해되었음을 보여준다.

**결 론**

이 연구에서는 고체배지는 최적 T-2 toxin 생성조건 및 고순도의 독소 분리방법의 정립을 위해 실행되었으며, 액체배지는 T-2 toxin 생성에 미치는 생리적, 환경적 영향을 조사하기 위해 시행되었다. 4 종의 균주중에서 *F. tricinctum* NRRL 3299이 다른 균

**Table 7.** Effects of agitation speed on the T-2 toxin production from Richards solution by *F. tricinctum* NRRL 32991<sup>1</sup>

Speed (rpm)	Fungal growth (mg/100 ml media)	Initial pH	Final pH	T-2 toxin ( $\mu\text{g}/100\text{ ml media}$ )	
				TLC assay	Microbiological assay
50	490.0	4.55	5.84	80	75
100	610.0	4.55	6.21	100	100
150	705.0	4.55	6.64	125	130
200	810.0	4.55	6.76	140	170

<sup>1</sup>Grown at 15°C for 14 days**Table 8.** Effects of yeast extract on the T-2 toxin production by *F. tricinctum* NRRL 32991<sup>1</sup>

Medium	Fungal growth (mg/100 ml media)	Initial pH	Final pH	T-2 toxin ( $\mu\text{g}/100\text{ ml media}$ )	
				TLC assay	Microbiological assay
Richards solution	725	4.55	6.62	120	150
Richards solution + 0.1% yeast extract	1248	4.56	7.10	160	165

<sup>1</sup>Grown at 15°C for 14 days

주에 비해 가장 많은 양의 T-2 toxin을 생성하였으며, 이 균주는 여러 고체배지 및 Richard solution에서도 잘 자랐다. Richard solution은 성장요소들 (growth factors)을 함유하지 않는 인조배지이다. 이는 이 균주가 특별한 성장요소들을 성장에 요구하지 않는다는 것을 보여준다. 그러나, 성장요소들을 함유하는 이스트 엑스트랙트를 첨가하였을 경우, 성장은 아주 증가하였으며 독소 생성은 약간증가 하였다(Table 8). 고체배지의 경우, 흰 옥수수가루 배지가 다른 배지에 비해 T-2 toxin 생성이 많았는데, 이는 흰 옥수수에는 나이아신, 철분, 리보플라빈, 티아민 등이 많이 함유되어, 이들이 T-2 toxin 생성 증가에 영향을 미친 것으로 보여진다. 옥수수, 여러 종류의 쌀, 귀리등의 배지에서 독소의 순수 분리는 아주 어려웠는데 이는 배지의 지방성분이 원래 많으며 균주가 성장하는 동안 많은 기름 성분이 더 생산되기 때문이다.

흰 옥수수가루의 경우 원래 지방성분이 없으며, 균주가 자라는 동안 기름성분의 생성이 적어서, 상대적으로 순수한 T-2 toxin을 분리할 수 있었다. 이러한 점들로 볼 때 흰 옥수수가루가 T-2 toxin 생성에 가장 좋은 배지의 재료였다.

갈락토오스, 포도당, 설탕, 과당 등은 성장에 좋은 탄소원이었고, T-2 toxin 생성도 많았다. 동위원소로 표식된 초산 및 메발론산의 경우, 이들이 T-2 toxin의 선구체가 된다는 것을 알 수 있었다(6). 그러나 초산이나 메발론산의 선구체인 구연산을 유일한 탄소원으로 사용했을 경우 성장하지 못 하였는데, 초기 pH가 너무 낮은 것 때문인 것으로 사료된다. 유산의 경우 성장이 매우 낮았다. 이는 이 균주가 불완전한 유산 흡수시스템을 가지고 있거나, 유산 분해효소가 미비한 것으로 생각된다. 질소원의 경우  $\text{NaNO}_2$ 를 제외하고는  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ 를 거의 동일하게 이용하였다. 배양액의 초기 pH 및 회전배양기의 회전속도 역시 성장과 독소형성에 영향을 미쳤다. 전 연구를 통해 T-2 toxin 생성은 성장과 상관관계가 없다는 것을 알 수 있다.

온도에 따른 독소 생산의 실험으로부터, T-2 toxin 생성이 온

도에 의존한 과정이라는 것을 알 수 있었는데, 독소 생성은 낮은 온도에서 오래 저장할 수록 생산량이 증가하였다. 배양 온도 전환실험에서, 낮은 온도에서 생성된 T-2 toxin이 높은 온도에서 배양 시 파괴된다는 것을 볼 수 있었는데, 이는 온도에 의존된 T-2 toxin 분해 효소가 작동하여, 생성되었던 T-2 toxin을 분해하여 성장에 사용한 다는 것으로 볼 수 있다. 이상의 결과로 볼 때 T-2 toxin 대사 경로는 온도에 의한 효소 억제 또는 효소 유도 시스템에 의해 조절되는 것이라고 생각할 수 있다. 이 효소 시스템의 지속적인 연구가 T-2 toxin 생성의 더 많은 비밀을 밝혀 주리라 믿는다.

## 참고문헌

- Bamberg, J.R. and F.M. Strong. 1971. 12,13-Epoxytrichothecenes. p. 207-292. In A. Ciegler and S.J. Ajl(eds.), Microbial Toxins, Vol. 7. Academic Press, New York, pp. 207-292.
- Burmester, H.R. 1971 T-2 toxin production by *Fusarium tricinctum* on solid substrate. *Appl. Microbiol.* 21, 759-742.
- Burmester, H.R. and C.W. Hesseltine. 1970. Biological assay for two mycotoxins produced by *Fusarium tricinctum*. *Appl. Microbiol.* 20, 457-440.
- Desjardins, A.E., T.M. Hohn, and S.P. McCormick. 1993. Trichothecene biosynthesis in *Fusarium* species: chemistry, genetics, and significance *Microbiol. Rev.* 57, 595-604.
- Fink-Gremmels, J. 1999 Mycotoxins: their implications for human and animal health. *Vet. Q.* 21, 115-20.
- Hagler, W.M., C.J. Mirocha, and S.V. Pathre. 1981. Biosynthesis of Radiolabeled T-2 toxin by *Fusarium tricinctum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 41, 1049-1051.
- Khachatourians, G.G. 1990. Metabolic effects of trichothecene T-2 toxin. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 68, 1004-1008.
- Sweeney M.J. and A.D. Dobson. 1999. Molecular biology of mycotoxin biosynthesis. *FEMS Microbiol. Lett.* 175, 149-63.
- Ueno, Y. 1977. Mode of action of trichothecenes. *Pure Appl.*

Chem. 49, 1737-1745.

281-323.

10. Yagen B. and M. Bialer. 1993. Metabolism and pharmacokinetics of T-2 toxin and related trichothecenes. *Drug Metab. Rev.* 25,

(Received July 1, 2000/Accepted July 12, 2000)

---

**ABSTRACT: Cultural and Physiological Conditions for T-2 Toxin Production by *Fusarium* sp.**

**Sung Hee Hong<sup>1\*</sup> and Kyu Hwan Yang<sup>2</sup>**(<sup>1</sup>Intervention Section, Department of Cell Cancer Biology, National Cancer Institute, Bethesda, MD 20852, USA, <sup>2</sup>Department of Biological Science, Korea Advanced Institute of Science and Technology, Daejeon, Korea)

The cultural and physiological conditions for the T-2 toxin [4,15-diacetoxy-8-(3-methylbutyloxy)-12,13-epoxy-trichothec-9-en-3-ol, C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>O<sub>9</sub>] production by *Fusarium* spp. were studied. Thin layer chromatography (TLC) assay and the microbiological assay using *Rhodotorula rubra* were used to quantitate the T-2 toxin. Among the four strains of *Fusarium* spp., *F. tricinctum* NRRL 3299 was best for T-2 toxin production. In solid culture, white corn grit medium was best for T-2 toxin production. Temperature played a critical role in the production of T-2 toxin. T-2 toxin production was favored by long duration of low-temperature incubation. The growth and toxin production were relatively high on galactose, fructose, glucose, and sucrose media, when each was used as a sole carbon source, and relatively low on sorbitol, glycerol, and lactose media. For nitrogen sources, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> were used well as a sole nitrogen source, but NO<sub>2</sub><sup>-</sup> was not used. Initial pH and speed of shaker also affected the production of T-2 toxin. From temperature shifting experiment, it is clear that T-2 toxin metabolic pathway is regulated by temperature-dependent enzyme depression or enzyme induction system.