

〔報告〕 キトラ古墳から分離された微生物の 紫外線（UV）耐性試験結果について

木川 りか・喜友名 朝彦*・立里 臨*・佐藤 嘉則・杉山 純多*²

1. 背景

キトラ古墳は、高松塚古墳と同時代の壁画を有する古墳であり、2002年に文化庁により調査のための覆い屋が建設され、2004年に石室の発掘が行われた。その後、壁画の取り外し・保護作業が進められ、2008年には目視で確認される範囲の側壁の絵画部分、また天井の星宿図の取り外し作業が完了した。その後、2009年以降は、紫外線の間欠的照射により微生物対策が実施されている¹⁾が、この方法が採用されて以降は、目視上ではあまりカビなどの微生物の発生が問題になることはなく、2010年には、ほぼ余白漆喰についても取り外しが終了した。こののちも、石室内の微生物被害対策として、紫外線間欠照射が続けられているが、この紫外線間欠照射によって微生物相がどのように変化するのか、また紫外線に比較的耐性の強い微生物などが増えてこないかどうかについては、定期的に調査が必要である。本報告では、キトラ古墳石室内で、間欠的紫外線照射を実施する前に分離された微生物株（2005年～2007年の分離株）と、紫外線照射を実施し始めて以降に分離された微生物株（2009年～2011年10月の分離株）について、紫外線照射実験を行い、紫外線の耐性に差があるのかどうかを調べることを目的とした。

2. 方法

2-1. 紫外線照射条件の検討

すでに、木川¹⁾（保存科学, 49, P 253-263, 2010）において、その時点でキトラ古墳石室内から分離された菌株を使って、紫外線照射への耐性が調査されている。

その結果、当時試験を実施した細菌株、酵母株については、全般的に紫外線照射への耐性は弱く、当時の試験の照射条件下で数分以内にほぼ殺菌されるのに対し、カビの場合は、菌株によっては、数十分が殺菌に必要であった¹⁾。さらにキトラ石室内で紫外線を照射したのちも石室内で観察されていた黒色の小型菌核（bulbil）を形成するアナモルフ菌類（担子菌類の系統）*Burgoa* sp. の小型菌核については、非常に強い紫外線耐性を有しており、数日間同様の条件で紫外線を照射しても、殺菌はできなかった¹⁾。

今回の試験で、2009年に実施した試験とほぼ同様の照射条件を実現するために、クリーンベンチ（HITACHI）内の紫外線灯の距離と紫外線強度の測定を行った。クリーンベンチ内で使用した殺菌ランプは、GL15（15W、波長254nm、ランプ全長436mm、三菱電機オスラム株式会社製）、紫外線強度の測定には、紫外線強度計（紫外線量計測装置、UM-1/UM-36、ミノルタ製）を用いた。その結果を表1に示す。

以上の検討結果から、以前の試験条件（紫外線強度範囲10.2～13.5μW/cm²）¹⁾にほぼ近い条件とするため、今回の試験においては紫外線灯からの照射距離を30cmとした。

*¹⁾テクノスルガ・ラボ

*²⁾テクノスルガ・ラボ千葉分室

表1 紫外線灯 (GL15, 254nm) からの距離別にみた紫外線強度測定結果

紫外線灯からの距離	紫外線強度 (mW/cm ²)
10 cm	0.028-0.031
20 cm	0.015-0.018
30 cm	0.009-0.013
40 cm	0.003-0.004
50 cm	0.001-0.002

2-2. 紫外線照射試験の方法

2-2-1. 供試菌株

キトラ古墳石室内から分離された細菌9株, カビ14株を供試菌株とした。菌株の詳細を表2に示す。

表2 紫外線照射試験供試菌株リスト

	菌種名	菌株番号	分離源	試料採取年月日	時期 (UV 照射)	2009年度の試験 ¹⁾ 実施
カビ						
1	<i>Burgoa</i> sp.	K7316-1-1	キトラ古墳石室内天井石壁面天文図 (北斗付近 ¹⁾)	2007.3.16	照射前	●
2	<i>Burgoa</i> sp.	K9515-1	キトラ古墳石室内天井南側西寄り	2009.5.15	照射開始直後	●
3	<i>Burgoa</i> sp.	K10510-2-1	キトラ古墳石室内天井中央目地付近	2010.5.10	照射後 約1年	
4	<i>Penicillium paneum</i>	K5916-7-1	キトラ古墳石室内北壁玄武下濃緑ゲル状	2005.9.16	照射前	●
5	<i>Penicillium paneum</i>	K111013-1-2	キトラ古墳石室内西壁 中央部 黒緑 111013	2011.10.13	照射後 約2年	
6	<i>Fusarium solani</i> (FSSC clade 3)	K5225-19-3	キトラ古墳石室内西漆喰剥落片	2005.2.25	照射前	●
7	<i>Fusarium solani</i> (FSSC clade 3)	K101008-7-3	キトラ古墳石室内南壁上部 (天井近く) 石の上 泥	2010.10.8	照射後 約1年	
8	<i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) <i>murorum</i>	K7511-1	キトラ古墳石室内北壁 東側 上方 黒ススカビ	2007.5.11	照射前	●
9	<i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) <i>tumulicola</i>	K6613-2 ⁷	キトラ古墳石室内南壁朱雀尾羽中央 (絵の上) 白色塩状塊	2006.6.13	照射前	
10	<i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) <i>tumulicola</i>	K10510-2-2	キトラ古墳石室内天井中央目地付近	2010.5.10	照射後 約1年	
11	<i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) <i>tumulicola</i>	K111013-1-1	キトラ古墳石室内 西壁 中央部 黒緑 111013	2011.10.13	照射後 約2年	
12	<i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) <i>tumulicola</i>	K111013-6-5	キトラ古墳石室内 天井 北側中央部 111013	2011.10.13	照射後 約2年	
13	<i>Cladophialophora</i> sp. 1	K111013-1-6	キトラ古墳石室内西壁 中央部 黒緑 111013	2011.10.13	照射後 約2年	
14	<i>Phialophora</i> sp. 2	K111013-1-7	キトラ古墳石室内西壁 中央部 黒緑 111013	2011.10.13	照射後 約2年	
細菌						
1	<i>Gluconacetobacter</i> sp.	K5929-2-1b	キトラ古墳石室内西寄り天井漆喰にいた穴③ No.4中身の黒色	2005.9.29	照射前	●
2	<i>Stenotrophomonas</i> sp. (<i>S. rhizophila</i> に近縁)	K5916-3-1b	キトラ古墳石室内南壁 朱雀上のカビ	2005.9.16	照射前	●
3	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	K101008-2-1b	キトラ古墳石室内東壁北側上部 漆喰上 白色 (半透明) 硬い層	2010.10.8	照射後 約1年	
4	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	K111013-5-1b	キトラ古墳石室内東壁中央上部 (天井近く)	2011.10.13	照射後 約2年	
5	<i>Bacillus simplex</i>	K6203-10-3b	キトラ古墳石室内南壁下方 ゲル上の塊	2006.2.3	照射前	●
6	<i>Bacillus</i> sp. 2	K101008-7-3b	キトラ古墳石室内南壁上部 (天井近く) 石の上 泥	2010.10.8	照射後 約1年	
7	放線菌1	K111013-1-1b	キトラ古墳石室内西壁 中央部 黒緑 111013	2011.10.13	照射後 約2年	
8	放線菌	K101008-5-3b	キトラ古墳石室内西壁南側中ほど (入口側) 漆喰上のゲル	2010.10.8	照射後 約1年	
9	放線菌2	K111013-4-2b	キトラ古墳石室内天井 南側 111013	2011.10.13	照射後 約2年	

1) 木川ら¹⁾ (2010) の試験における供試菌株を示す

2-2-2. 使用機材

殺菌ランプ（紫外線灯，GL15，15W，波長 254nm，ランプ全長436mm，三菱電機オスラム株式会社製）2 灯のついたクリーンベンチ（HITACHI，内部の高さ60cm）を使用した。また，紫外線強度の測定には，紫外線量計測装置（UM-1/UM-36，ミノルタ製）を使用した。

2-2-3. 照射条件

照射時間は以下の通りである。

細菌：30秒，45秒，1分，1.5分，2分，3分の計6条件

Burgoa 属：6時間，1日，2日，3日，5日，6日の計6条件

その他のカビ：5分，10分，20分，30分，40分，60分の計6条件

照射距離は，紫外線灯から，30cm（紫外線強度：0.009～0.013mW/cm²）とした。

2-2-4. 試験手順

各試験菌株の生育に適した培地および温度で細菌は24～48時間，カビは7～10日間培養（*Burgoa* 属については2週間培養）した菌株を試験に供した。

培養後に，以下の手順で菌液を調製した。

細菌：滅菌生理食塩水を用いて，各菌株について約10⁵/mlの菌液を調製した。

カビ：*Burgoa* 属については，実体顕微鏡下で小型菌核を滅菌針で取り出し，各試験には1平板あたり10個の小型菌核を接種して，試験に用いた。なお，今回の試験は以前の試験¹⁾で紫外線に耐性が強いことがわかっている小型菌核のみを対象とし，菌糸に対しては試験を実施していない。その他のカビについては，平板あるいは斜面培養した菌株に界面活性剤添加滅菌生理食塩水を添加し，よく懸濁した後，滅菌ガーゼでろ過して菌糸を取り除き，孢子（分生子）数を約10⁵/mlに調製した。

各菌株に適合する培地（プレート，直径90mm）表面に，調製した菌液を100μl滴下し，コンラージ棒で均一に塗抹した。

クリーンベンチ内の紫外線灯を5分以上点灯し，強度を安定化させたのち，紫外線灯を一旦消灯し，塗抹したシャーレを蛍光灯の真下（直下距離30cm）にセットし，蓋ははずしてのちに紫外線灯を点灯した。各条件の供試平板は各2枚とした。照射方法の模式図を図1に示す。

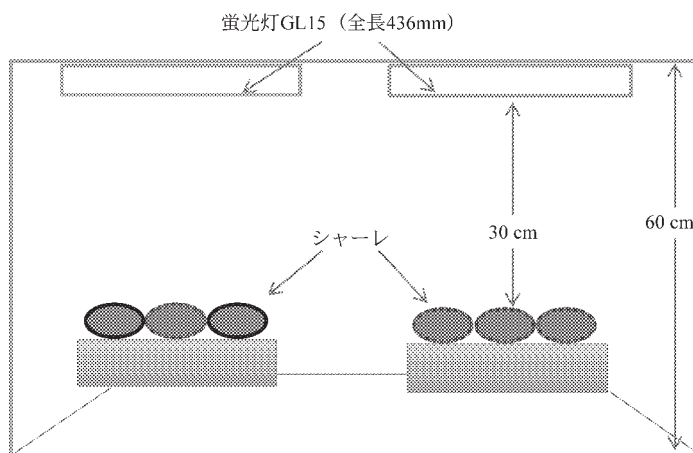


図1 紫外線照射方法の模式図（クリーンベンチ内照射）

所定時間照射後、紫外線灯を消灯し、シャーレに蓋をし、各菌株に適合温度で培養した。また、コントロールとして、菌株ごとに紫外線を照射していない塗抹プレート（各2枚）を用意し照射後のプレートと同時に培養した。

紫外線強度の計測は、各照射時間の照射実験開始の直前および直後の計2回測定し（例：30秒を5回照射の場合、1回目照射直前および5回目照射直後に計測）、それらの測定値（単位：mW/cm²）を記録した。

3. 結果と考察

3-1. 細菌株の検討結果

細菌についての照射試験結果を表3にまとめた。また、細菌各菌株の培養平板像を図2～10に示した。

表3 キトラ古墳石室内から分離された細菌分離株に対する紫外線殺菌評価

菌種名	菌株番号	UV 強度 mW/cm ²	処理前 (非照射)	UV 照射時間					
				30秒	45秒	1分	1分30秒	2分	3分
<i>Gluconacetobacter</i> sp.	K5929-2-1b	0.009 -0.013	10 ⁵	0 ¹⁾	0	0	0	0	0
<i>Stenotrophomonas</i> sp. (<i>S. rhizophila</i> に近縁)	K5916-3-1b	0.009 -0.013	10 ⁵	0	0	0	0	0	0
<i>Stenotrophomonas</i> sp.	K101008-2-1b	0.009 -0.013	10 ⁵	0	0	0	0	0	0
<i>Stenotrophomonas</i> sp.	K111013-5-1b	0.009 -0.013	10 ⁵	0	0	0	0	0	0
<i>Bacillus simplex</i>	K6203-10-3b	0.009 -0.013	10 ⁵	0	0	0	0	0	0
<i>Bacillus</i> sp. 2	K101008-7-3b	0.009 -0.013	10 ⁵	1	1	2	0	1	0
放線菌1	K111013-1-1b	0.009 -0.013	10 ⁵	5	0	0	0	0	0
放線菌	K101008-5-3b	0.009 -0.013	10 ⁵	0	0	0	0	0	0
放線菌2	K111013-4-2b	0.009 -0.013	10 ⁵	6	1	0	0	0	0

1) コロニー数を示す

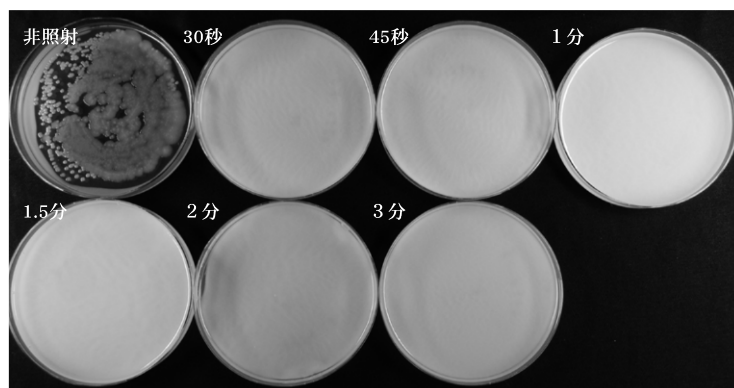


図2 *Gluconacetobacter* sp. K5929-2-1b の培養平板像（GYC，5日間培養）（口絵参照）

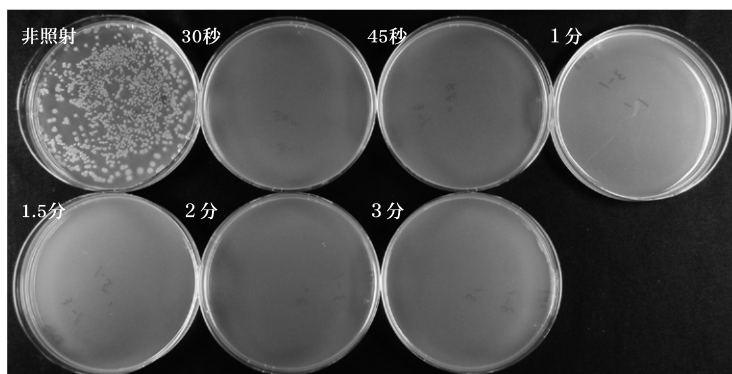


図3 *Stenotrophomonas* sp. K5916-3-1b の培養平板像 (Nutrient agar, 5日間培養)

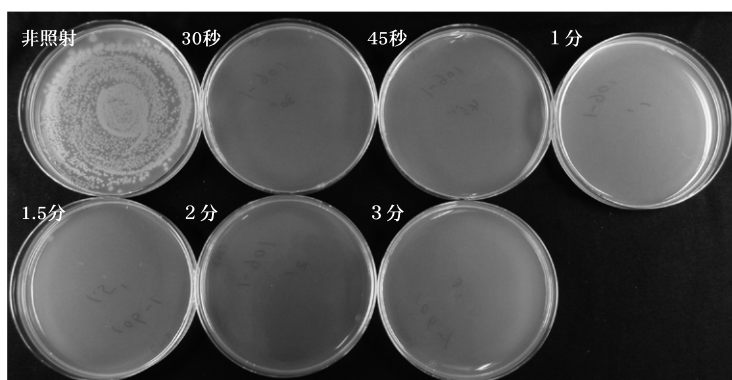


図4 *Stenotrophomonas* sp. K101008-2-1b の培養平板像 (Nutrient agar, 5日間培養)

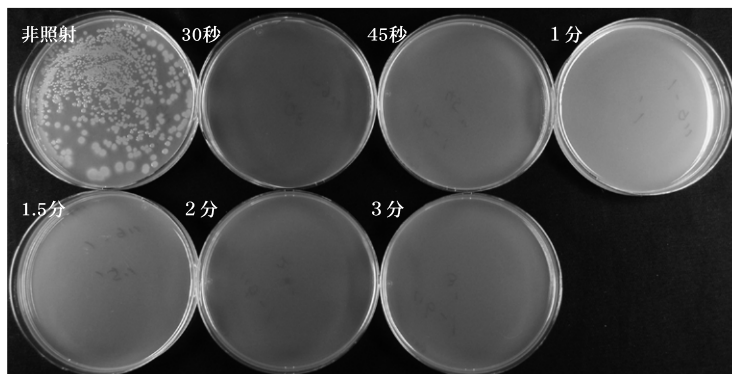


図5 *Stenotrophomonas* sp. K111013-5-1b の培養平板像 (Nutrient agar, 5日間培養) (口絵参照)

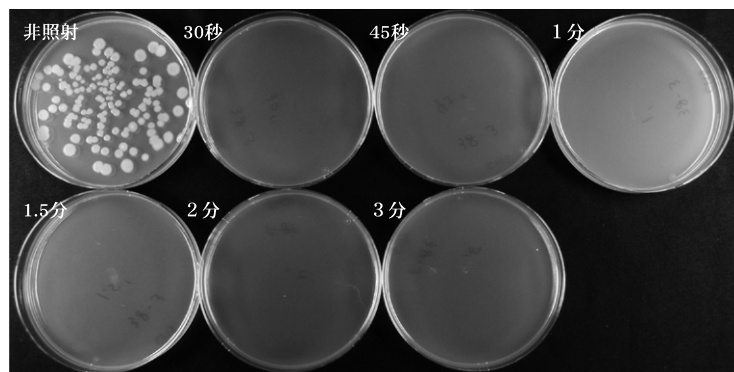


図6 *Bacillus simplex* K6203-10-3b の培養平板像 (Nutrient agar, 5日間培養) (口絵参照)

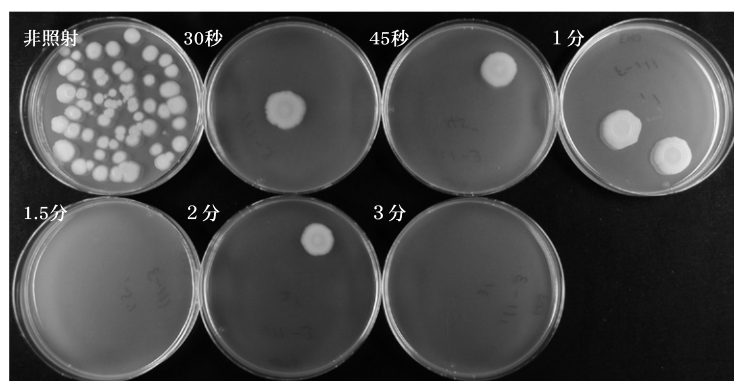


図7 *Bacillus* sp. 2 K101008-7-3b の培養平板像 (Nutrient agar, 5日間培養) (口絵参照)

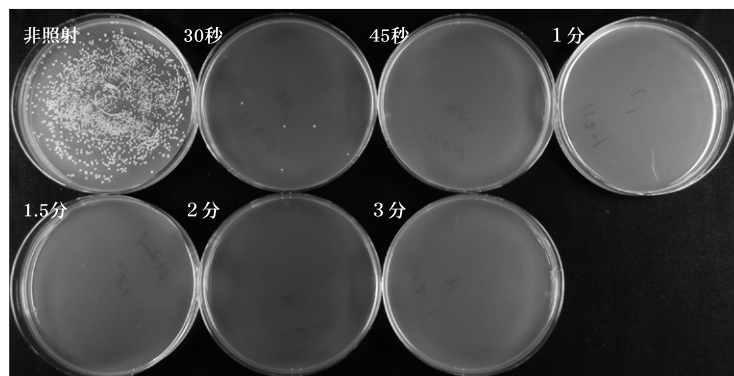


図8 放線菌 1 K111013-1-1b の培養平板像 (Nutrient agar, 5日間培養) (口絵参照)

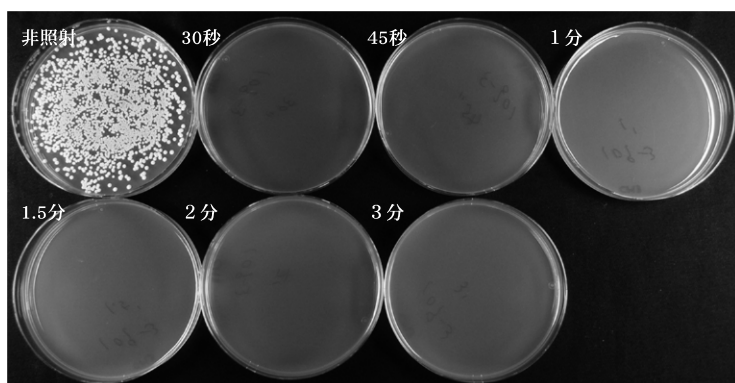


図9 放線菌 K101008-5-3b の培養平板像 (Nutrient agar, 5日間培養)

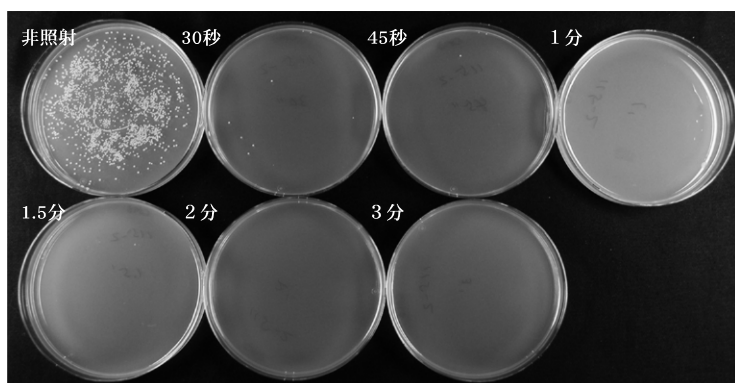


図10 放線菌 2 K111013-4-2b の培養平板像 (Nutrient agar, 5日間培養)

細菌については、2011年10月の調査において、それまであまり石室内で分離されていなかった放線菌が多く分離されたため^{2,3)}、2011年10月に石室内から分離された放線菌3株を加えて試験を実施したが、これらの放線菌がとくに紫外線照射に顕著な耐性を有しているという傾向はみられなかった (表3, 図8~10)。また、*Stenotrophomonas* spp., *Bacillus* spp. については、石室内で間欠的紫外線照射処理を開始する前、開始後にそれぞれ分離された菌株を比較したが、とくに間欠的紫外線照射処理開始後に分離された株で強い耐性がみられるということとはなかった。

3-2. *Burgoa* 属分離株についての検討結果

以前の試験¹⁾でとくに強い紫外線耐性を示したアナモルフ菌類 *Burgoa* sp. の小型菌核についての紫外線照射結果は表4および図11~13にまとめた。

紫外線照射を実施する前の2007年の分離株、紫外線照射をはじめてまもなくの2009年の分離株、また紫外線照射を実施しはじめて1年以上が経過した2010年の分離株それぞれで小型菌核を形成させて、紫外線を日単位で照射した。その結果、以前の試験と同様、*Burgoa* sp. の小型菌核については、きわめて強い紫外線耐性を示し、6日間の紫外線照射でも菌核はほとんどが生残するという結果となった (表4)。この結果は、以前の試験結果¹⁾と同様であった。

しかし、紫外線を照射しても小型菌核は完全には死滅しないものの、紫外線照射時間が長くなるに従って、小型菌核からの菌糸の生育度は弱くなる傾向が認められた (図11~13)。

表4 キトラ古墳石室内から分離された *Burgoa* 属分離株の小型菌核に対する紫外線殺菌評価

菌種名	菌株番号	UV 強度 mW/cm ²	処理前 (非照射)	UV 照射時間					
				6時間	1日	2日	3日	5日	6日
<i>Burgoa</i> sp.	K7316-1-1	0.009 -0.012	10	10 ¹⁾	10	10	10	10	10
<i>Burgoa</i> sp.	K9515-1	0.009 -0.012	10	9	10	10	10	10	10
<i>Burgoa</i> sp.	K10510-2-1	0.009 -0.012	10	9	10	10	10	10	10

1) 供試した10小型菌株のうち、生存していた数を示す

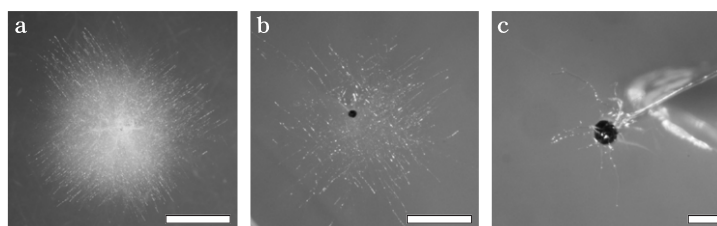


図11 *Burgoa* sp. K7316-1-1の3条件における小型菌核拡大像 (PDA, 25°C, 5日間培養)
(a 非照射, b 照射6時間, c 2日間, スケール a, b 1 mm, c 100μm) (口絵参照)

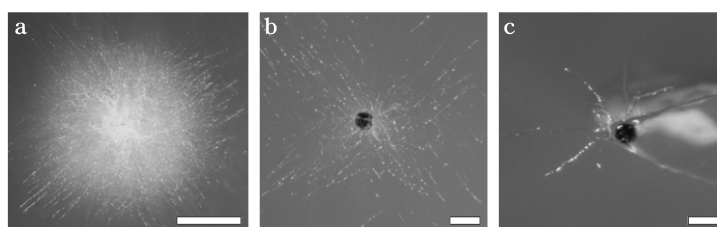


図12 *Burgoa* sp. K9515-1の3条件における小型菌核拡大像 (PDA, 25°C, 5日間培養)
(a 非照射, b 照射6時間, c 2日間, スケール a 1 mm, b, c 100μm) (口絵参照)

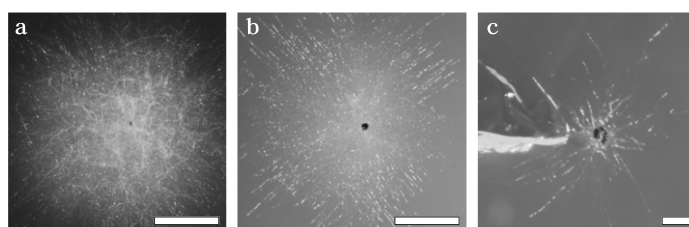


図13 *Burgoa* sp. K10510-2-1の3条件における小型菌核拡大像 (PDA, 25°C, 5日間培養)
(a 非照射, b 照射6時間, c 2日間, スケール a, b 1 mm, c 100μm) (口絵参照)

以前の試験¹⁾においても, *Burgoa* sp. の菌糸に紫外線を照射した場合は, 多くの真菌同様, 容易に殺菌されるという結果が得られており, この菌の紫外線耐性は, この小型菌核という特別な構造により発揮されていると考えられる。

また, 小型菌核の状態では紫外線に耐性があるからといって, キトラ古墳石室内で, 現状この菌がとくに目立って繁殖しているというわけではなく, この菌が独占的に広がるわけではないことがわかる。おそらく, 菌糸の状態では紫外線が殺菌効果を及ぼすため, 生育を拡大できな

いという可能性が考えられる。

3-3. カビの分離株についての検討結果

Burgoa sp. 以外のカビについての照射試験結果は表 5， および図14～24に示した。

カビは，ほぼ30分の紫外線照射によって，多くのものがほぼ完全に死滅したが，なかには60分の照射でも，数個のレベルで孢子（分生子）が生き残る場合があった。しかし， 10^5 個の孢子が10個以下になっているので，今回試験した株については，少なくとも60分の紫外線照射で，1 万分の一～十万分の一程度まで生存孢子数が減少するということが示された。

表 5 キトラ古墳石室内から分離されたカビ分離株に対する紫外線殺菌評価

菌種名	菌株番号	UV 強度 mW/cm ²	処理前 (非照射)	UV 照射時間					
				5 分	10分	20分	30分	40分	60分
<i>Penicillium paneum</i>	K5916-7-1	0.009 -0.012	10^5	24 ¹⁾	19	4	0	0	0
<i>Penicillium paneum</i>	K111013-1-2	0.009 -0.012	10^5	30	20	11	8	10	7
<i>Fusarium solani</i> (FSSC clade 3)	K5225-19-3	0.009 -0.012	10^5	1	0	0	0	0	0
<i>Fusarium solani</i> (FSSC clade 3)	K101008-7-3	0.009 -0.012	10^5	2	0	0	0	0	0
<i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) <i>murorum</i>	K7511-1	0.009 -0.012	10^5	75	26	5	4	4	1
<i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) <i>tumulicola</i>	K6613-2 [†]	0.009 -0.012	10^5	40	16	4	4	1	1
<i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) <i>tumulicola</i>	K10510-2-2	0.009 -0.012	10^5	11	13	3	6	0	0
<i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) <i>tumulicola</i>	K111013-1-1	0.009 -0.012	10^5	13	10	0	0	0	0
<i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) <i>tumulicola</i>	K111013-6-5	0.009 -0.012	10^5	27	5	2	0	0	0
<i>Cladophialophora</i> sp. 1	K111013-1-6	0.009 -0.012	10^5	0	0	0	0	0	0
<i>Phialophora</i> sp. 2	K111013-1-7	0.009 -0.012	10^5	12	5	7	8	11	1

1) コロニー数を示す

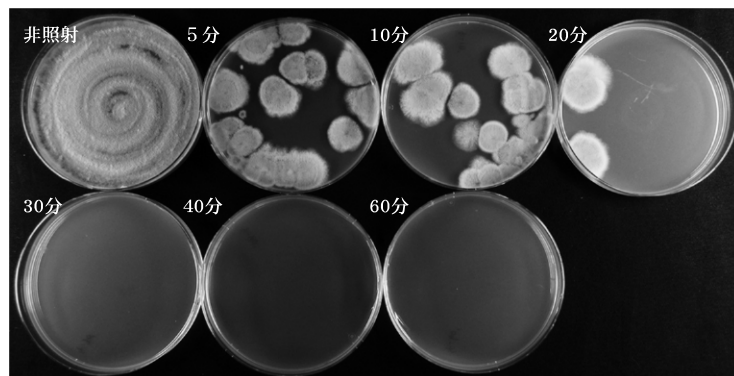


図14 *Penicillium paneum* K5916-7-1の培養平板像（PDA，25℃，6日間培養）

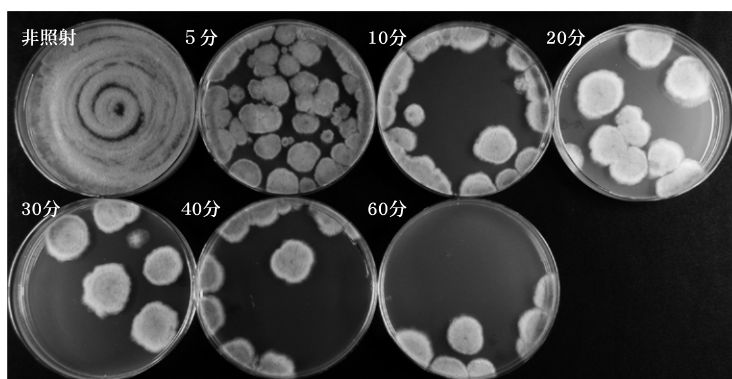


図15 *Penicillium paneum* K111013-1-2の培養平板像 (PDA, 25°C, 6日間培養) (口絵参照)

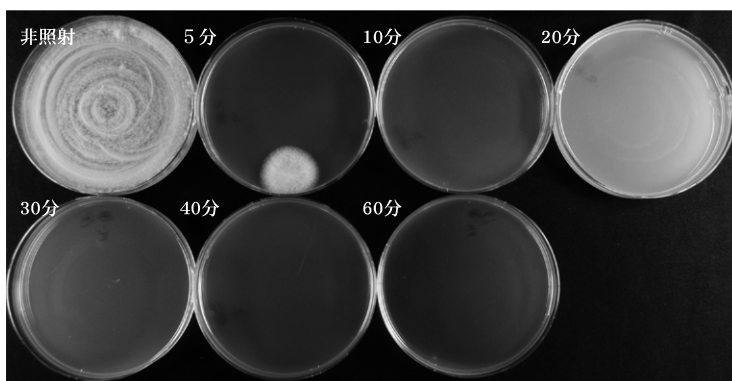


図16 *Fusarium solani* (FSSC clade 3) K5225-19-3の培養平板像 (PDA, 25°C, 6日間培養)

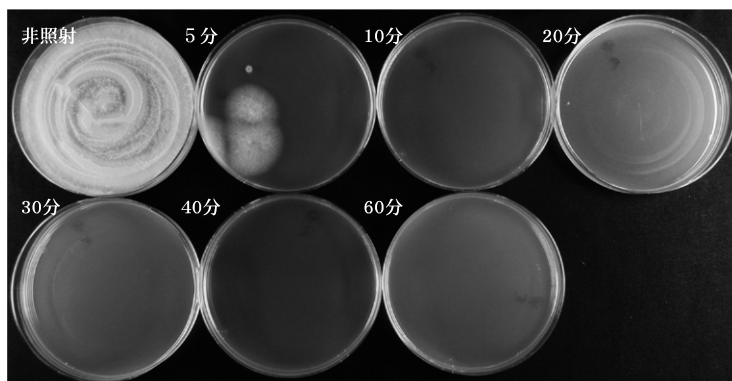


図17 *Fusarium solani* (FSSC clade 3) K101008-7-3の培養平板像 (PDA, 25°C, 6日間培養) (口絵参照)

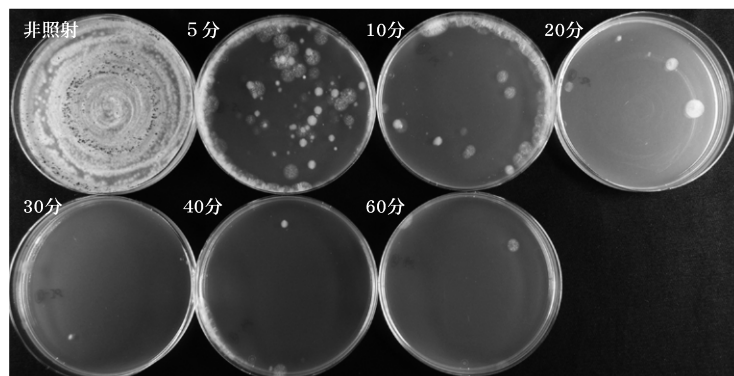


図18 *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) *murorum* K7511-1の培養平板像 (PDA, 25°C, 6日間培養)

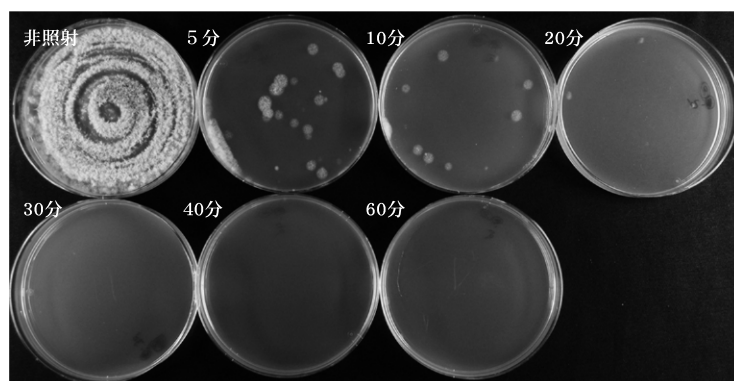


図19 *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) *tumulicola* K6613-2^Tの培養平板像 (PDA, 25°C, 6日間培養)

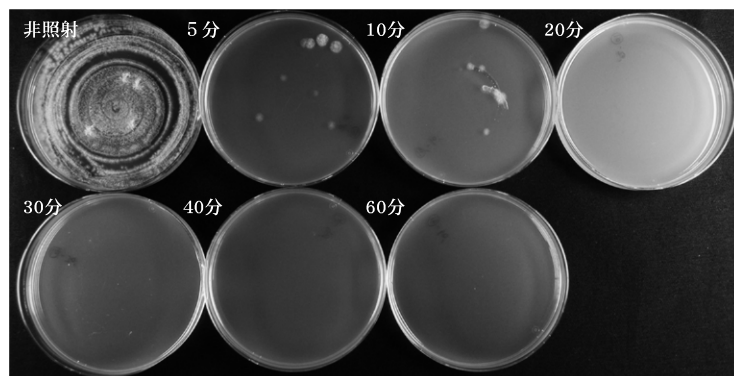


図20 *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) *tumulicola* K10510-2-2の培養平板像 (PDA, 25°C, 6日間培養)

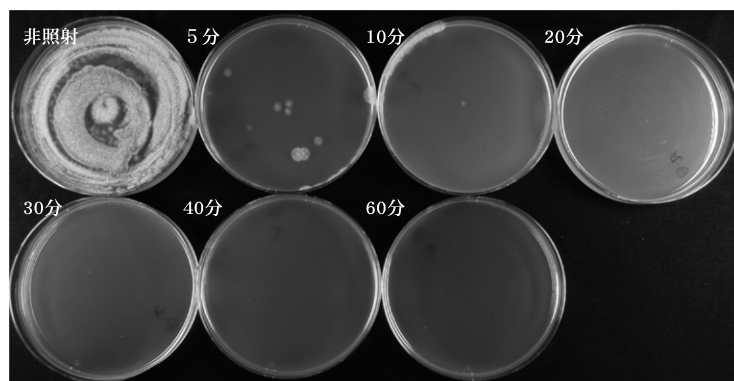


図21 *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) *tumulicola* K111013-1-1の培養平板像 (PDA, 25℃, 6日間培養) (口絵参照)

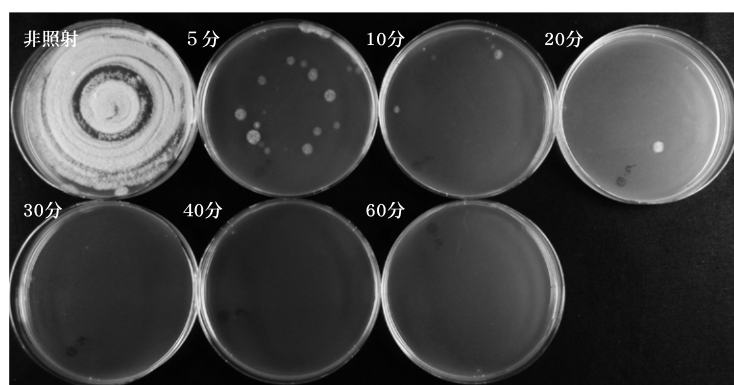


図22 *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) *tumulicola* K111013-6-5の培養平板像 (PDA, 25℃, 6日間培養)

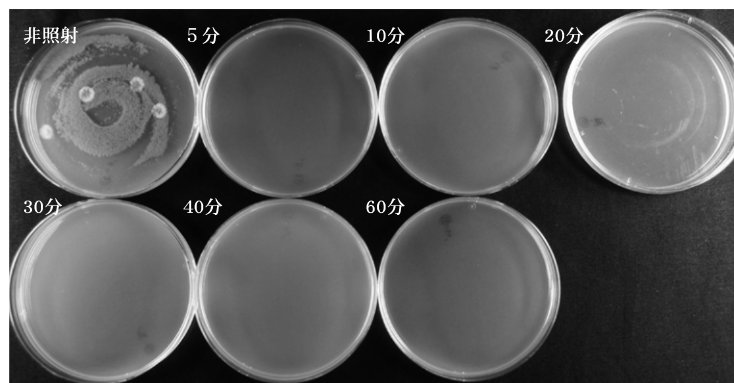


図23 *Cladophialophora* sp. 1 K111013-1-6の培養平板像 (PDA, 25℃, 6日間培養)

なお、*Penicillium paneum* の株では、紫外線照射前の2005年の株 (K5916-7-1) と照射後の2011年の株 (K111013-1-2) を比較すると、2011年の株のほうが若干紫外線耐性が高い傾向がみられた (表5, および図14と図15) が、一方で暗色系の *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) *tumulicola* では、そのような傾向は認められなかった (表5, および図18~22)。また、暗色系の *Phialophora* sp. については、照射時間30分、40分、60分でも、生存している胞子が数個観察され、やや胞子が生存しやすい傾向が認められた (表5, および図24)。

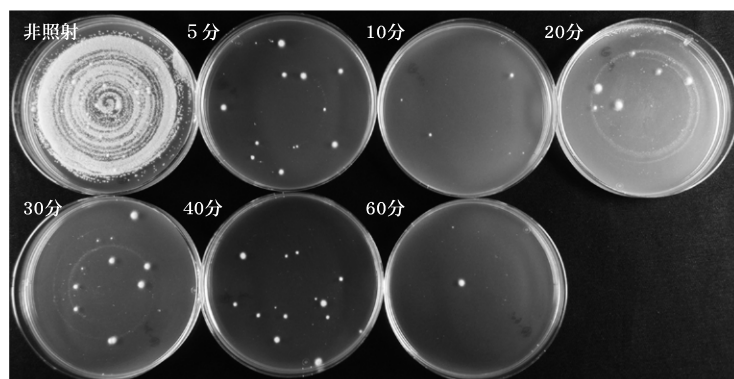


図24 *Phialophora* sp. 2 K111013-1-7の培養平板像 (PDA, 25°C, 6日間培養) (口絵参照)

4. まとめ

2009年3月以降に開始された石室内の間欠的紫外線 (UV) 照射の影響で壁面上でのカビ等の微生物の発生は比較的抑えられている。しかし、微生物を完全に死滅させることは困難で、UVの影響が完全に及ばない壁面上のわずかな隙間や影の下で微生物が生きながらえていると考えられる。今回、間欠的紫外線照射の開始前、開始してのちのそれぞれの微生物分離株で、紫外線照射試験を行い、耐性を比較した。その結果、照射開始後の分離株で明らかに耐性が強くなっているような現象はみられず、耐性の大小は、微生物種の特長 (菌核のような耐性構造をつくるか否かなど) によって主に決まってくると考えられた。なお、非常に紫外線耐性の強かったアナモルフ菌類 *Burgoa* sp. については、小型菌核の紫外線耐性は強いが、菌糸の状態では耐性はほとんどないため、現状、生育が拡大していないと考えられる。

今後も、石室内の微生物の種類の調査や、それらの性質の調査を定期的 to 実施することにより、古墳などの環境における間欠的紫外線照射の効果や影響について検証していく必要があると考える。

参考文献

- 1) 木川りか, 佐野千絵, 喜友名朝彦, 立里臨, 杉山純多, 高鳥浩介, 久米田裕子, 森井順之, 早川典子, 川野邊渉: キトラ古墳の微生物調査結果と微生物対策について (2009), 保存科学, **49**, 253-264 (2010)
- 2) 木川りか, 佐野千絵, 喜友名朝彦, 立里臨, 杉山純多, 早川典子, 川野邊渉: キトラ古墳の微生物調査報告 (2010), 保存科学, **50**, 191-195 (2011)
- 3) 木川りか, 佐藤嘉則, 喜友名朝彦, 立里臨, 杉山純多, 早川典子, 川野邊渉: キトラ古墳の微生物調査報告 (2011), 保存科学, **51**, 167-171 (2012)

キーワード: 古墳 (tumulus); 生物劣化 (biodeterioration); カビ (molds); バクテリア (bacteria); 紫外線 (ultraviolet rays); 小型菌核 (bulbil)

Tolerance Test of Microorganisms Isolated from Kitora Tumulus against UV Irradiation

Rika KIGAWA, Tomohiko KIYUNA*, Nozomi TAZATO*,
Yoshinori SATO and Junta SUGIYAMA*²

In the Kitora Tumulus, almost all of the paintings on the side walls and the star charts on the ceiling were relocated in 2008, except for those which might have been hidden by a thin layer of mud on the walls. Measures such as intermittent UV irradiation have been applied since March 2009 to control microorganisms on the plaster. Growth of most fungal mycelia has been suppressed effectively. In the survey of 2010, dematiaceous fungi (e.g., an anamorphic basidiomycetous fungus *Burgoa* sp.) were observed, but there was not much problem as a whole.

To evaluate the efficacy and influence of intermittent UV irradiation as a control measure against microbial damage of the tumulus, microbiota and microbial activities inside the stone chamber are being examined annually. This paper is a report on the tolerance test of the major microorganisms isolated from the stone chamber interior of the Kitora Tumulus conducted, especially aiming at comparison of UV tolerance between two groups of isolates: isolates before intermittent UV irradiation (2005 to 2007) and isolates during irradiation (2009 to 2011).

As bacterial species, isolates of *Gluconacetobacter* sp., *Stenotrophomonas* spp., *Bacillus* spp. and actinomycetes were tested. These bacteria were quite susceptible to UV irradiation and totally killed in a few minutes of irradiation in this experiment. No significant difference was observed in UV susceptibility between the two groups (viz. isolates before and during irradiation, respectively).

The anamorphic basidiomycetous fungus *Burgoa* sp. forms bulbils (superficially similar to small sclerotia), and this structure enables significant tolerance against UV irradiation: the bulbils survived 6 days of UV irradiation. However, this does not mean UV irradiation does not have any effect. Since the hypha are sensitive to UV irradiation, it seems that the treatment is effective in preventing the fungus from spreading out.

Other fungal isolates, such as *Penicillium paneum*, *Fusarium solani* (FSSC clade 3), *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) *murorum*, *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) *tumulicola*, *Cladophialophora* sp. and *Phialophora* sp., were also tested. Most of the fungal isolates were completely killed by 30 minutes' UV irradiation, but small numbers of spores of some isolates survived 60 minutes of irradiation. However, the survival was 10^{-4} or 10^{-5} of the whole spores tested. Therefore, UV irradiation seems very effective as a whole.

One *Penicillium paneum* strain isolated in 2011 showed a bit more tolerance than the strain isolated in 2005. But in the case of *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) *tumulicola*, there

*TechnoSuruga Laboratory Co., Ltd.

²TechnoSuruga Laboratory Co., Ltd., Chiba Branch Office

seemed to be no difference among the two groups of isolates. The dematiaceous fungus *Phialophora* sp. showed a bit more tolerance than other species tested. As a whole, the two groups of isolates (before and during treatment) did not show significant difference regarding tolerance against UV irradiation in this test.

Constant monitoring of microbiota inside the stone chamber and accurate identification with phenotypic and genotypic characterization of the isolates are important to assess intermittent UV irradiation as a control measure for such environment.