

〔報告〕 津波による被災植物標本のカビ被害調査

久米田 裕子*・坂田 淳子*・高鳥 浩介*²・木川 りか
佐藤 嘉則・佐久間 大輔*³

1. はじめに

2011年3月11日に発生した東日本大震災の大津波により、東北地方から関東地方の太平洋側を中心に、博物館の貴重な自然史資料もまた甚大な被害を受けた。それらの被災した標本を救済するため、西日本自然史系博物館ネットワークなどを中心に被災標本の応急処置と一時保管が全国の自然史系博物館で実施された^{1,2,3,4}。陸前高田市立博物館の植物標本の一部も大阪市立自然史博物館に搬入され、修復作業が実施されることとなった⁵。

被災時には、陸前高田市立博物館の植物標本は台紙に貼り付けられ、すべて1シートずつビニール袋に入れられた状態で段ボール箱に収蔵されていた。瓦礫の中から救出した植物標本は砂や土とともに海水に浸漬されていたため、陸前高田から盛岡市への岩手県立博物館へ移送後まずはその被災レベルに応じて、仕分け作業が実施された。被災レベルは以下のとおりであった¹。「レベル1：ほとんど全く濡れていないもの」、「レベル2：台紙の端など一部が濡れているもの」、「レベル3：台紙全体あるいは標本の一部が濡れているもの」、「レベル4：標本が腐敗または標本を台紙から剥がすと壊れるもの」

レベル1, 2は岩手で処置, レベル3とレベル4の被災標本約7000点は70%エタノール噴霧をした後大阪市立自然史博物館など全国に送付された^{2,3,4}。大阪には5月12日, 19日, 6月5日の3便に分けて約750点が搬入された⁵。到着後はマイナス40度の冷凍庫内で仮置きした。第二陣の到着分を確認した所, すべて同じ状態で保管されていたにもかかわらず, カビ被害の強いものと弱いものが混在していた。そこで, 水洗せずに台紙回収が可能である標本を対象に, 標本に被害を及ぼしたカビの種を同定するとともに, カビ被害度に影響を与えた因子について調査したので報告する。

2. 調査方法

2-1. 試料

大阪市立自然史博物館に搬入された標本の多くは海水が侵入し, 泥や土に汚染されているものもあった(図1)。大阪市立自然史博物館では, 標本を台紙からはがして水洗し, 乾燥させた後, 新しい台紙に貼りかえる修復作業を実施していた。今回の調査には, その被災植物標本のうち, レベル3に仕分けされたもの34点を使用した。標本をはがしたあとの台紙はすみやかに大阪府立公衆衛生研究所に搬入し, カビ採取の試料とした。

2-2. カビの培養と同定

台紙の色素沈着している部分を先の尖ったピンセットで採取し, ポテトデキストロース寒天培地(ニッスイ)とM40Y寒天培地に塗布後, 28℃で5日間培養した。発育したカビは単胞子

*大阪府立公衆衛生研究所

**NPO法人カビ相談センター

*³大阪市立自然史博物館

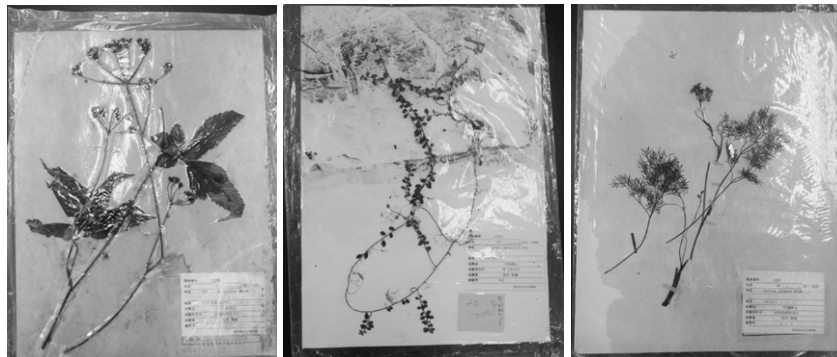


図1 被災した植物標本。左：ビニール袋内全体に海水が浸入，中央：ビニール袋内に泥が侵入，右：台紙は半分以上濡れているが標本の損傷は少ない。

分離をしたのち、形態観察⁶⁾と ITS 領域をターゲットとした遺伝子解析^{7,8)}により同定した。遺伝子解析は PCR-ダイレクトシーケンス法を用い、プライマーは White ら⁹⁾が設計した ITS1 と ITS4 を使用した。菌体は FastPrep FP100A Instrument (フナコシ) を用いて機械的破碎後、QIAquick PCR purification Kit (キアゲン) で DNA を精製した。PCR は TaKaRa EX Taq 試薬 (タカラバイオ) を用いて DNA サーマルサイクラー (GeneAmp 9700 : Applied Biosystems) により 95°C 10分 1回, 95°C 30秒, 56°C 30秒, 72°C 30秒を 40回, 72°C 5分 1回の条件で行った。また、シーケンス反応は BigDye Terminator cycle sequencing kit v3.1 (Applied Biosystems) を使用し、ABI PRISM 3130 genetic analyzer (Applied Biosystems) で塩基配列を決定した。得られた塩基配列は、公共データベース (GenBank/EMBL/DDBJ) を利用した Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) により相同性検索を行い、一致率等の解析から菌種を推定した。

2-3. 試料の海水侵入度とカビ被害度

それぞれの試料について、観察により海水侵入度とカビ被害度を区分した。海水侵入度については、A：台紙全体が海水に濡れている，B：台紙の半分以上が海水で濡れている，C：台紙の半分以下しか濡れていない，に区分した(図2)。カビ被害度については、目視と顕微鏡観察により，+++：重度，++：中程度，+：軽度，-：なし，と区分した。また、台紙の変色(色素沈着)とカビの発生箇所とについてはすべて写真とメモで記録した(図2，表1)。

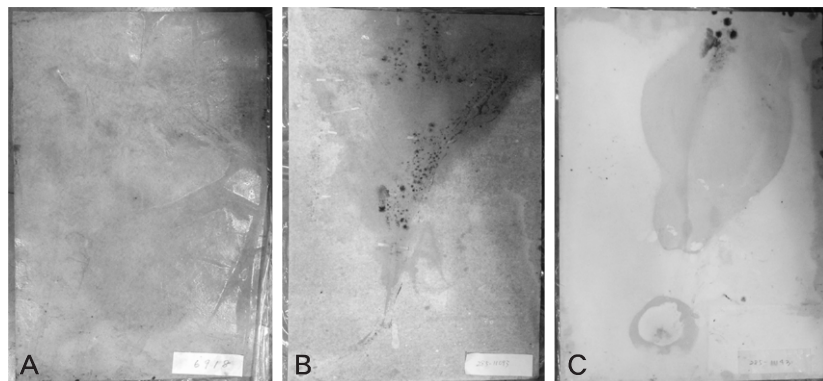


図2 標本を取り除いたあとの台紙。 A：台紙は海水で全部が濡れている，B：半分以上濡れている，C：台紙は半分以上乾いている。

表1 標本の海水侵入度とカビ被害度の関係

試料No.	海水侵入度	カビ被害度	カビの生え方	備考(標本No.)
1	A	—	カビは観察されず	281-12634
2	A	—	カビは観察されず	281-12635
3	A	—	カビは観察されず	12259
4	A	+	少量のカビが発生	12256
5	A	—	カビは観察されず	6918
6	A	—	カビは観察されず	281-12792
7	A	+	カビの発生は1ヶ所のみ	281-12610
8	A	—	カビは観察されず	10623
9	A	+	色素沈着は見られたが，カビは観察されず	12889
10	B	+++	植物の貼られていた跡に沿って大量のカビが発生	6914
11	B	++	植物の貼られていた跡に沿ってカビが発生	282-11159
12	B	++	植物の貼られていた跡に沿ってカビが発生	281-5379
13	B	+++	植物の貼られていた跡に沿って大量のカビが発生	282-11168
14	B	+	植物の貼られていた跡に沿ってカビが発生	282-11173
15	B	+	カビの発生は1ヶ所のみ	281-12414
16	B	+	植物の貼られていた跡に沿ってカビが発生	284-11147
17	B	+	植物の貼られていた跡に沿ってカビが発生	282-11162
18	B	+++	植物の貼られていた跡に沿って大量のカビが発生	6920
19	B	++	植物の貼られていた跡に沿ってカビが発生	285-11093
20	B	+	植物の貼られていた跡に沿って部分的に少量のカビが発生	10193
21	B	+++	植物の貼られていた跡を中心にカビが全面に発生	6901
22	B	+	植物の貼られていた跡に沿って少量のカビが発生	281-11201
23	C	+	植物の貼られていた跡に沿ってカビが発生	7023
24	C	+	植物の貼られていた跡に沿ってカビが発生，部分的に黄色を呈する	285-11143
25	C	+	植物の貼られていた跡に沿って部分的に少量のカビが発生	10188
26	C	++	植物の貼られていた跡に沿ってカビが発生	12391
27	C	+	植物の貼られていた跡に沿って点状のカビが発生	8029
28	C	++	植物の貼られていた跡に沿って点状のカビが発生	8050
29	C	+	少量のカビが発生	8040
30	C	+	植物の貼られていた跡に沿って少量のカビが発生	8042
31	C	++	濡れている部分にカビが発生(乾燥部分には観察されず)	8010
32	C	++	濡れている部分および植物の貼られていた跡に沿ってカビが発生	10240
33	C	+	濡れている部分および植物の貼られていた跡に沿ってカビが発生	10230
34	C/乾いてる	—	カビは観察されず，泥のみ付着	13159

A：海水で全体が濡れている， B：海水で半分以上濡れている， C：半分以上乾いている
+++：重度，++：中程度，+：軽度，—：カビ発生なし

3. 結果及び考察

3-1. 台紙の色素沈着と分離カビ

34点の試料のうち、カビ発生が疑われる試料は27点であった。カビ発生が疑われた各試料から、色素沈着部位をピンセットで1～4箇所採取し、カビの培養に供した。各標本の台紙の変色とそこから採取したカビの同定結果は表2のとおりである。台紙の色素沈着やカビ発生の多くは、はがした植物標本のあとに出現しており、色は淡黄色～濃黄色がもっとも多かった。次が白色～茶色で、黒色や緑色、ピンク色もあった。分離カビは *Penicillium* 属が約70%と最も多く検出された。淡黄色の部分からは *P. commune*、黄色の部分からは *P. expansum*、濃黄色の部分からは *P. polonicum* が主に分離され、今回の試料では、色素沈着の色とカビの種の関連性が認められた。*Penicillium* 属は多量の胞子を産生するため、同一株による汚染が広がったことが推定される。しかし、白色や黒色からは種々のカビが分離され、それが色素沈着の原因となったカビなのか、それとも色素沈着部分に付着していたカビの胞子が培養により検出されただけなのかは、判別が難しかった。また、*Pichia* 等の酵母やグラム陰性短桿菌やグラム陰性長桿菌の細菌も数種類検出された（データ示さず）。

我々は、被災紙資料のカビ被害で、*Penicillium* 属によるものが最も多いことをこれまでにも報告した¹⁰⁾。また、Sato ら¹¹⁾は、津波で被災した紙資料から分離したカビの NaCl 耐性を調べたところ、*Penicillium* 属では、15～20%の NaCl 濃度でも発育可能であったことを報告している。このように、耐塩性が強いことと発育可能温度域が広いことにより、*Penicillium* 属が優劣種となったと考えられた。

Penicillium 属の種に関しては、今回の試料では *P. commune*、*P. expansum*、*P. polonicum* が大半を占めていたが、Sato らの報告¹¹⁾では、*P. echinulatum*、*P. chrysogenum* が、東鳴らの報告¹²⁾では、*P. dipodomyicola*、*P. chrysogenum*、*P. commune* が主に分離されている。*Penicillium* は一旦発育すると多量の胞子を産生して飛散するため、同じ津波に被災した紙資料であっても、地域や建物など、その時点の周囲環境によりカビの種類が偏る傾向があると推察された。

また、色素沈着があり明らかにカビ発生があったと推定できる部位からカビが分離できなかった試料もあった。被災した標本については、応急処置として消毒用エタノール噴霧が実施されたことから、一部のカビはこの処置により死滅したと考えられた。

3-2. 標本の海水侵入度とカビ被害度の関係

標本の海水侵入度に関しては、A群（海水で全体が濡れている）が9点、B群（海水で半分以上が濡れている）が13点、C群（半分以上が乾いている）が12点あった。また、カビ被害度に関しては、重度(+++)が4点、中程度(++)が7点、軽度(+)が16点、被害なし(-)が7点あった（表2）。

標本の海水侵入度とカビ被害度の関係を図3に示した。ビニール袋の中全体が海水で濡れているA群試料については、乾いている箇所があるB群試料やC群試料に比較して、カビ被害が明らかに少なかった。カビ被害度では、ビニール袋の中の台紙が半分以上濡れているB群試料の状態がもっとも高かった。このことから、標本のカビ被害度の差異は、ビニール袋の中の空気（酸素）量と相対湿度により生じているものと考えられる。すなわち、A群試料については台紙にビニール袋がぴったりと張り付いてまったく空気がない状態であったが、B群試料とC群試料は乾いた部分が残っており、カビにとって酸素供給が可能な状態であった。また、B群

表2 台紙の色素沈着とそこから分離されたカビの同定

菌株No.	台紙の色素沈着	同定結果 (BLAST 一致率)	試料No.
OPF-1	淡黄色	<i>Penicillium commune</i> (100%)	33
OPF-2	淡黄色	<i>Penicillium commune</i> (100%)	28
OPF-3	淡黄色	<i>Penicillium commune</i> (100%)	29
OPF-4	淡黄色	<i>Penicillium commune</i> (100%)	27
OPF-5	淡黄色	<i>Penicillium commune</i> (100%)	26
OPF-6	淡黄色	<i>Penicillium commune</i> (100%)	25
OPF-7	淡黄色	<i>Penicillium commune</i> (100%)	20
OPF-8	淡黄色	<i>Penicillium commune</i> (100%)	22
OPF-9	黄色	<i>Penicillium expansum</i> (100%)	24
OPF-10	黄色	<i>Penicillium expansum</i> (100%)	2
OPF-11	黄色	<i>Penicillium expansum</i> (100%)	18
OPF-12	黒色	<i>Penicillium expansum</i> (100%)	33
OPF-13	黒色	<i>Coniochaeta</i> sp. (100%)	13
OPF-14	黒色	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (100%)	18
OPF-15	黒色	<i>Penicillium corylophilum</i> (100%)	18
OPF-16	濃黄色	<i>Penicillium polonicum</i> (100%)	32
OPF-17	濃黄色	<i>Penicillium polonicum</i> (100%)	32
OPF-18	濃黄色	<i>Penicillium polonicum</i> (100%)	12
OPF-19	濃黄色	<i>Penicillium commune</i> (100%)	21
OPF-20	白色	<i>Penicillium commune</i> (100%)	32
OPF-21	白色	<i>Mucor racemosus</i> (100%)	31
OPF-22	白色	<i>Pichia quilliermondii</i> (100%)	5
OPF-23	白色	<i>Plectosphaerella cucumerina</i> (100%)	14
OPF-24	白色	<i>Plectosphaerella cucumerina</i> (100%)	2
OPF-25	白色	<i>Penicillium roqueforti</i> (100%)	18
OPF-26	茶色	<i>Pichia membranifaciens</i> (100%)	18
OPF-27	灰色	<i>Penicillium commune</i> (100%)	32
OPF-28	ピンク色	<i>Acremonium strictum</i> (100%)	20
OPF-29	緑色	<i>Penicillium commune</i> (100%)	33
OPF-30	紫色	<i>Penicillium purpurogenum</i> (99%)	27

試料 No. は表1と同じ

試料とC群試料を比較した場合、B群試料の方が濡れている部分が多く、ビニール袋中の相対湿度が高い状態にあった。実際、重度のカビ被害が観察されたのはB群試料のみであった(図3)。

また、カビ被害部位については、植物標本が貼付けられていた部分に特に集中していた(図2 . B, C)。これは植物と標本の隙間に保湿されたこと、植物由来有機物がカビの栄養分となったことなどがカビの発育を助長したと考えられた。植物標本の台紙の貼り付けのための糊は固定

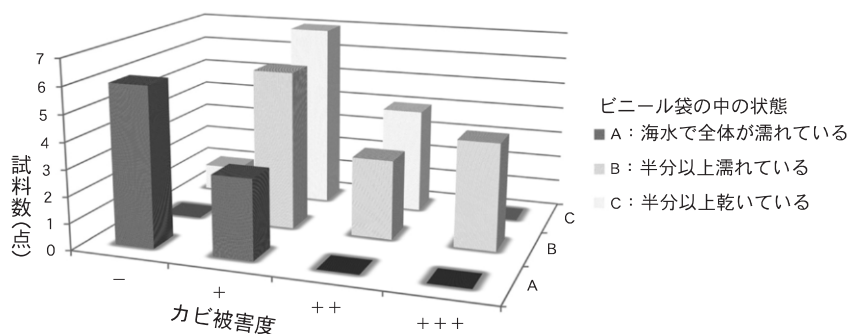


図3 試料の海水侵入度とカビ被害度の関係

のための紙テープ及びラベルのみに使用されるが、通常アラビアゴムなどが使用されるためか、テープやラベルへのカビの集中はなかった。

東嶋らは、塩濃度3.5%以上の海水にカビ抑制効果があるとして、水害被災した紙文化財を海水に漬ける緊急保存法を提案してきたが¹³⁾、東日本大震災では津波被災紙に多くのカビが発生した。その理由として、今回の津波の塩濃度が3.5%以下であったことと泥中の栄養分がカビを生えやすくしたことを挙げている¹²⁾。塩濃度が高い海水は好乾性カビ以外のカビの発育を確かに抑制するが、発育を不能にするわけではない。Satoらの報告にあるように、*Penicillium* 属以外にも塩濃度10%で発育可能なカビが存在することから、数ヶ月単位の保存には、すみやかに乾燥させる、あるいは冷蔵もしくは冷凍するなどの他の要素を組み合わせる必要があると考えられた。

今回の調査結果から、被災標本のカビ被害を防ぎ、かつ標本自体の損傷をも最小限に保つためには、海水に濡れた標本は初期にできるだけ早く乾燥させるのが効果的であると考えられた。また、応急処置としての消毒用エタノール噴霧は、乾いた標本には効果があると考えられた。ただし、A群試料やB群試料のような海水が多く侵入している標本については、エタノール濃度が希釈されるため、十分な効果が得られない可能性が示唆された。初期に乾燥させた場合でも御巫・尾崎¹⁴⁾が指摘検討しているように、潮解による吸湿など長期の標本保存のためには塩抜きは必要と考えられるが、最初期の処理である必要は特に見当たらない。

4. まとめ

2011年3月11日に発生した東日本大震災の大津波により、博物館の貴重な自然史資料もまた甚大な被害を受けた。それらの標本は、被災後約2ヶ月、すべて同じ状態で保管されていたにもかかわらず、カビ被害の強いものと弱いものが混在していた。そこで、水洗せずに台紙回収が可能である標本34点を対象に、標本に被害を及ぼしたカビの種を同定するとともに、標本の海水侵入度とカビ被害度の関係を調査した。その結果、分離カビの大半は *Penicillium* 属であり、台紙の色素沈着の色と *Penicillium* 属の種は、ある程度関連性が認められた。*Penicillium* 属は多量の胞子を産生するため、同一株による汚染が広がったことが推定される。また、標本の海水侵入度とカビ被害度の関係を調査した結果、ビニール袋の中全体が海水で濡れている標本については、乾いている箇所がある標本に比較して、カビ被害が明らかに少なかった。カビ被害度では、ビニール袋の中の台紙が半分以上濡れている状態の標本がもっとも高かった。このことから、標本のカビ被害度の差異は、ビニール袋の中の空気(酸素)量と相対湿度により生じているものと考えられた。すなわち、台紙にビニール袋がぴったりと張り付いて全く空気がない状態の標本はカビ被害が少なく、乾いた部分がありカビにとって酸素供給が可能な状態の標本はカビ被害が大きかった。ただし、酸素供給がある標本においては、濡れている部分が多い標本ほどビニール袋の中の相対湿度が高い状態にあり、カビ被害が大きかった。カビ被害部位については、植物標本が貼付けられていた部分に特に集中していた。これは植物と標本の隙間に保湿されたこと、植物由来有機物がカビの栄養分となったことなどがカビの発育を助長したと考えられた。

謝辞

本研究は、JSPS 科研費23300328(研究課題 文化財展示収蔵施設の実状に即したカビ調査技術と制御に関する研究 研究代表者 木川りか)の助成を一部受けたものです。

参考文献

- 1) 小川 誠：東日本大震災により被災した植物標本の修復，徳島県立博物館研究報告，**22**，161-168 (2012)
- 2) 鈴木まほろ，大石雅之：津波被災標本を救う：つながる博物館をめざして，遺伝：生物の科学，**65**(6)，2-6 (2011)
- 3) 鈴木まほろ：陸前高田市立博物館所蔵押し葉標本のレスキュー，全科協ニュース **41**(5)，1-3 (2011)
- 4) 佐久間大輔：西日本自然史系博物館ネットワークはなぜ即応体制を取れたのか：学術の動向 **16**(12)，52-53 (2011)
- 5) 佐久間大輔：陸前高田市立博物館の植物標本レスキュー，Nature Study，**57**(7)，5-6，12 (2011)
- 6) Frisvad, J. C. and Robert A. Samson, R. A.: Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium* A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins, *Studies in Mycology*, **49**, 1-174 (2004)
- 7) Kumeda, Y. and Asao, T.: A rapid and mini-scale protocol of DNA extraction for PCR from *Aspergillus* section *Flavi* and other food-borne filamentous fungi. *Mycotoxins*, **54**, 39-41 (2004)
- 8) 久米田裕子：カビ検査法；カビ同定法の簡易，迅速化—分子生物学的手法を中心に—，防菌防黴，vol.33，569-576 (2005) .
- 9) White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J.: Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M A, Gelfand D H, Sninsky J, White T J, editors. PCR protocols, a guide to methods and applications. p.315-322, N.Y: Academic Press, New York, (1990) .
- 10) 高島浩介，久米田裕子，佐藤嘉則，木川りか，高妻洋成：奈良文化財研究所における被災文書の保管・クリーニング作業場所の微生物環境調査，保存科学，**52**，159-166 (2013)
- 11) Sato, Y., Aoki, M., Kigawa, R.: Microbial deterioration of tsunami-affected paper-based objects: A case study, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **88**, 142-149 (2014)
- 12) 東嶋健太，和田朋子，五十嵐圭日子，江前敏晴，鮫島正浩，磯貝明：東日本大震災による津波被災紙中に存在する糸状菌の同定，紙パ技協誌，**66**，999-1007 (2012)
- 13) 東嶋健太，江前敏晴，五十嵐圭日子，堀千明，磯貝明，坂本勇：水害被災した紙文化財の塩水を用いた緊急保存法の開発，第78回紙パルプ研究発表会講演要旨集，紙パルプ技術協会，2011年6月15日 (2011)
- 14) 御巫由紀，尾崎煙雄：各地の標本レスキューの取り組みから，全科協ニュース **41**(5)，3-5 (2011)

キーワード：津波(tsunami)；植物標本 (plant specimen)；変色 (microbial discoloration)；カビ被害 (fungal damage)；*Penicillium* spp.

Fungal Deterioration of Tsunami-Affected Plant Specimens in the Great East Japan Earthquake

Yuko KUMEDA*, Junko SAKATA*, Kosuke TAKATORI*², Rika KIGAWA
Yoshinori SATO and Daisuke SAKUMA*³

A large number of important cultural objects in museums were seriously damaged by the tsunami that accompanied the Great East Japan Earthquake on March 11, 2011. Many plant specimens were also affected by the tsunami and were left wet for several months. When they were salvaged, different degrees of fungal damage were observed in the specimens though they remained under the same conditions. In this study, 34 mount papers were examined after plant specimens had been removed. As a result of identification of the fungi responsible for their discoloration, *Penicillium commune*, *P. expansum* and *P. polonicum* were dominantly isolated from light yellow, normal yellow and deep yellow spotted mount papers, respectively. Some correlation was shown between color pigments and fungal species. The relationship was further assessed between the level of seawater exposure and the degree of fungal damage with regard to the plant specimens in plastic bags. Specimens that were left entirely wet with seawater in a plastic bag showed clearly less fungal damage than the specimens with a dry portion. Among the specimens with a dry portion, those with more than half wet portion had most severe fungal damage. These results showed that the difference of the fungal damage in the specimens depended on the quantity of air as well as on the relative humidity in the plastic bag. Fungal damage of the mount papers was concentrated on parts where the specimens had been pasted. It is suggested that some organic compounds from plant and micro-ambient humidity facilitated fungal growth.

*Osaka Prefectural Institute of Public Health

*²NPO Center for Fungal Consultation Japan

*³Osaka Museum of Natural History