

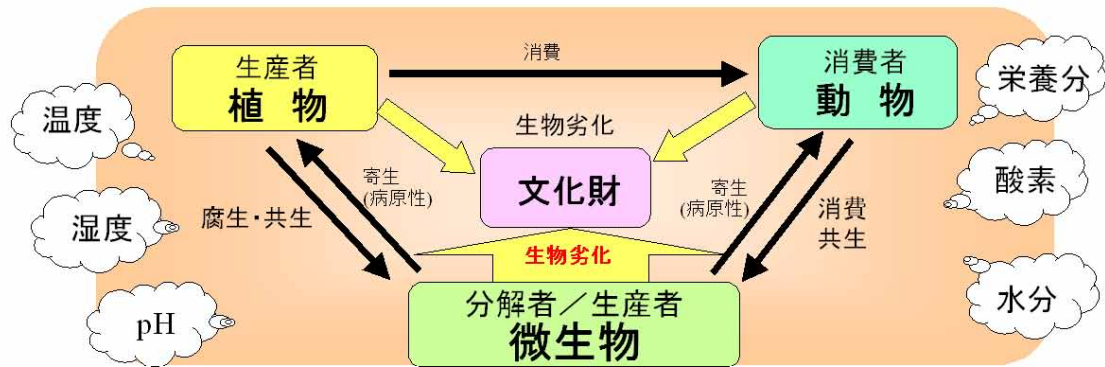
高松塚古墳壁画の生物劣化にかかわる微生物

杉山純多（東京大学名誉教授，テクノスルガ・ラボ）
木川りか・佐野千絵（東京文化財研究所）

目次

1. はじめに(微生物の多様性)
2. 採用した微生物同定の手法
3. 高松塚・キトラ両古墳石室内外から収集したサンプルの概要(2004～2008)
4. 高松塚古墳石室入口盗掘口カバー裏面の直接観察結果
5. 主要な菌類の正体(フザリウム属、トリコデルマ属、アオカビ属、暗色系アクレモニウム)
6. 高松塚・キトラ両古墳石室内壁のバイオフィルムのマイクロビータの比較
7. 高松塚古墳石室壁石間から採取された漆喰片試料の観察所見
8. 要約と展望

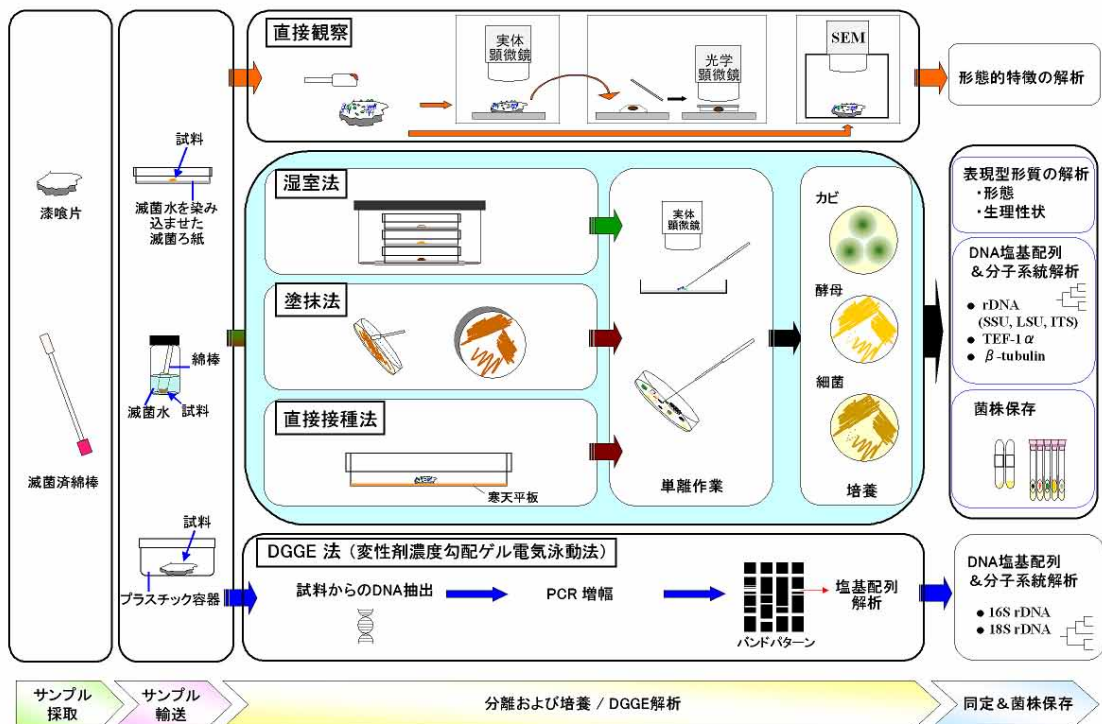
1-5. 微生物の多様性: ライフスタイルと生理的特性



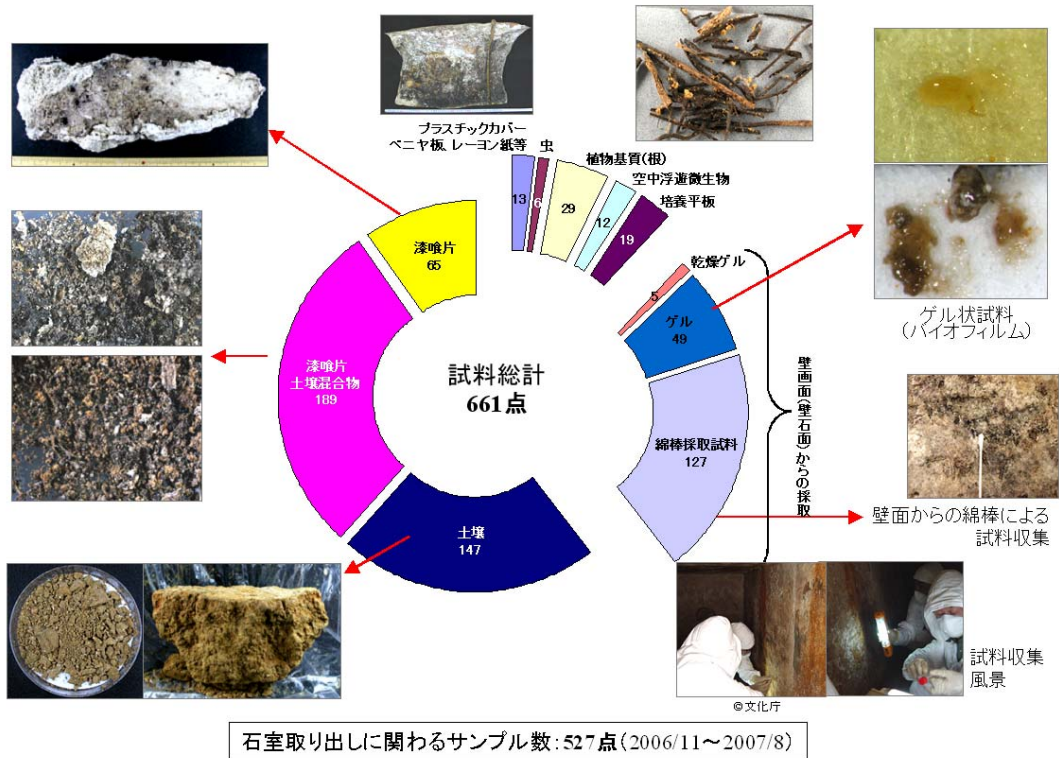
	バクテリア	菌類
酸素	+ 好気性 - 嫌気性*	+ 好気性 - 嫌気性(まれ)
最適温度 (°C)	低温性 10-20	中温性 20-40 高温性 50-60
水分活性 a_w	0.9 - 1.0	0.6 - 1.0
pH	弱アルカリ性	弱酸性
栄養様式	従属栄養/独立栄養	従属栄養**

* 通性嫌気性を含む ** 消化よりも吸収による摂取

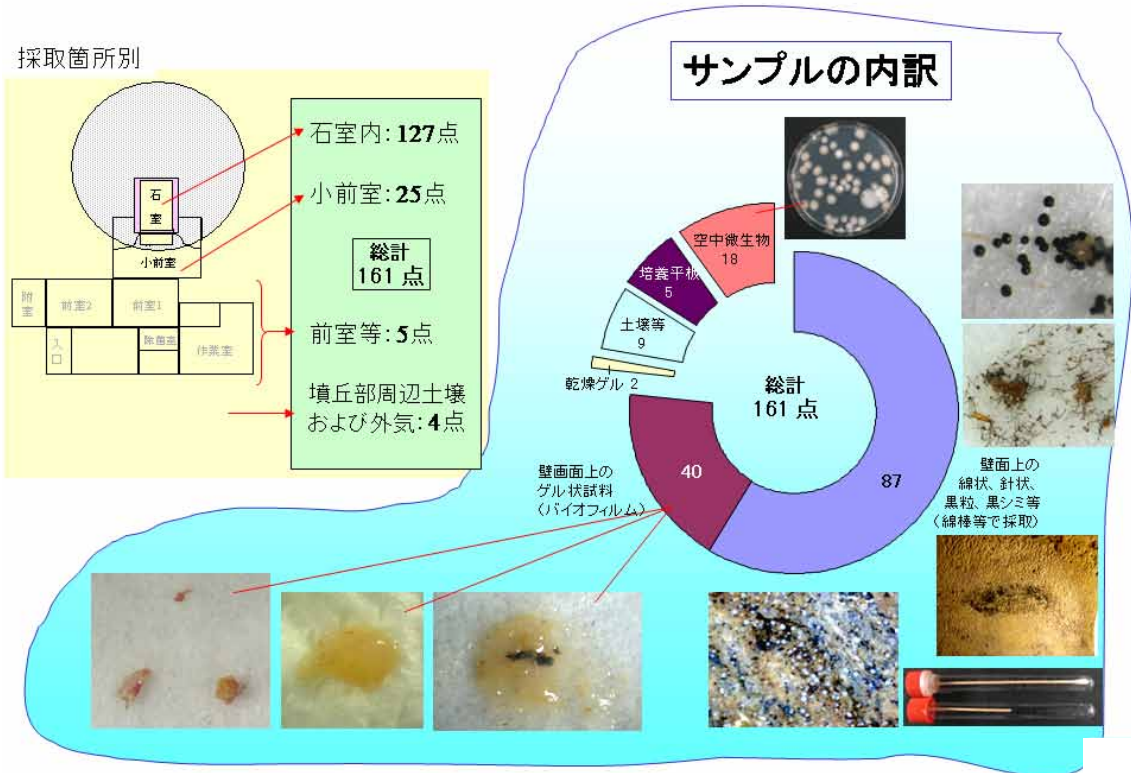
2. 採用した微生物同定の手法



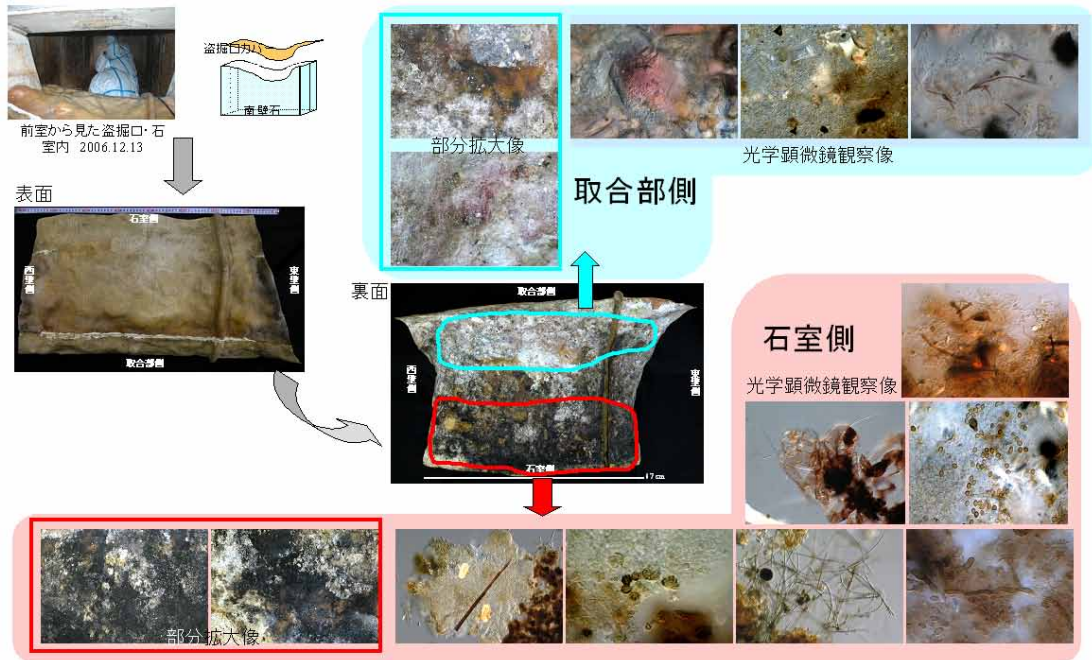
3-1. 高松塚古墳石室内外から収集したサンプルの概要 (2004/5~2007/8)



3-2. キトラ古墳から収集したサンプルの概要 (2004/6~2008/6)



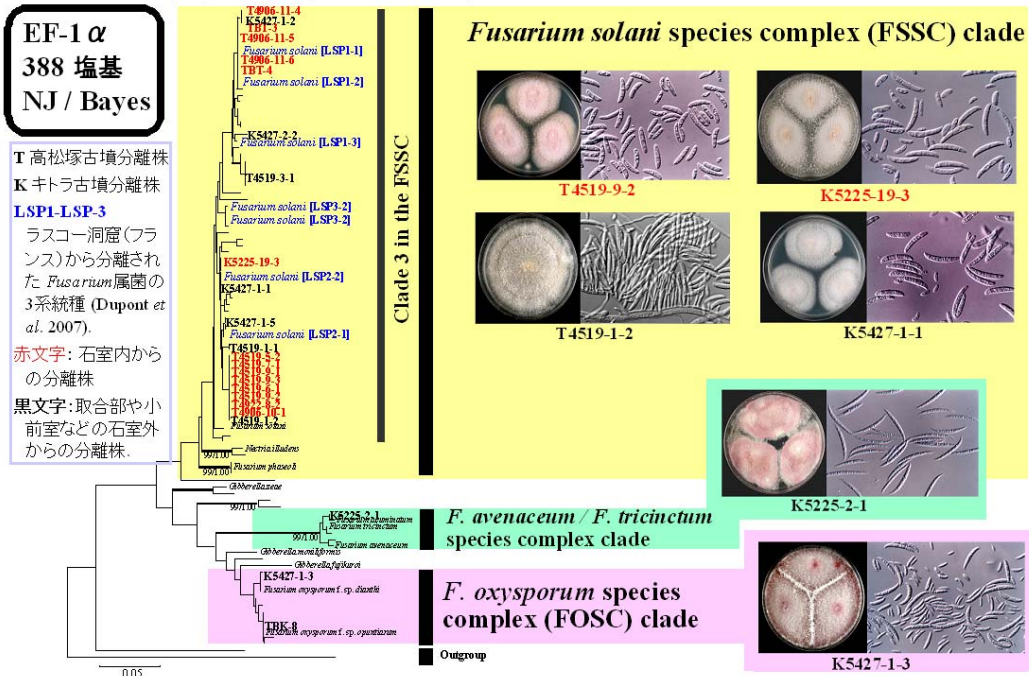
4. 高松塚古墳石室入口盗掘口カバー裏面の直接観察結果



「取合部側」よりも「石室側」が黒褐色に着色し、暗色系カビが多数混在

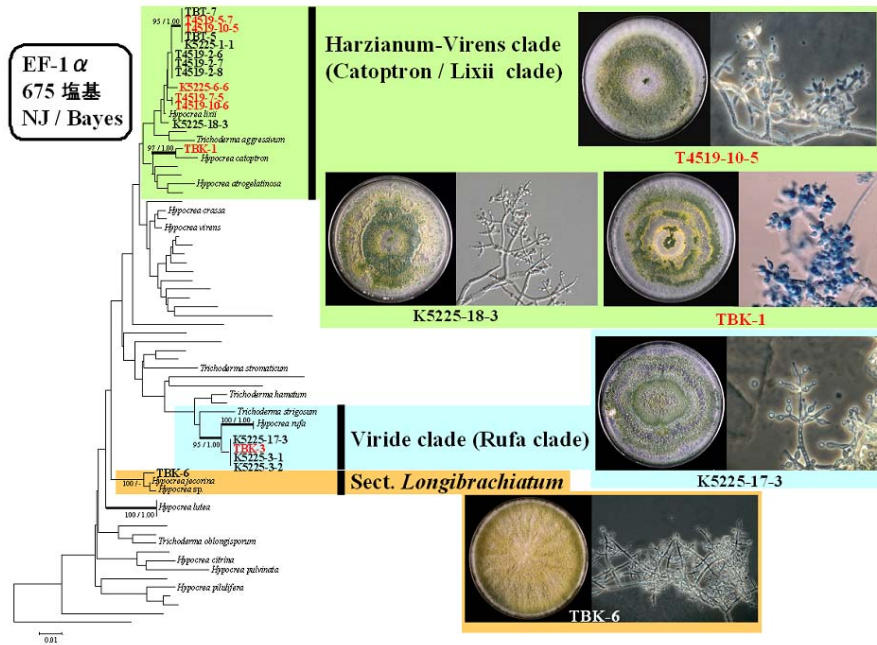
5. 主要な菌類の正体(アイデンティティ)

5-1. フザリウム属 (*Fusarium*)



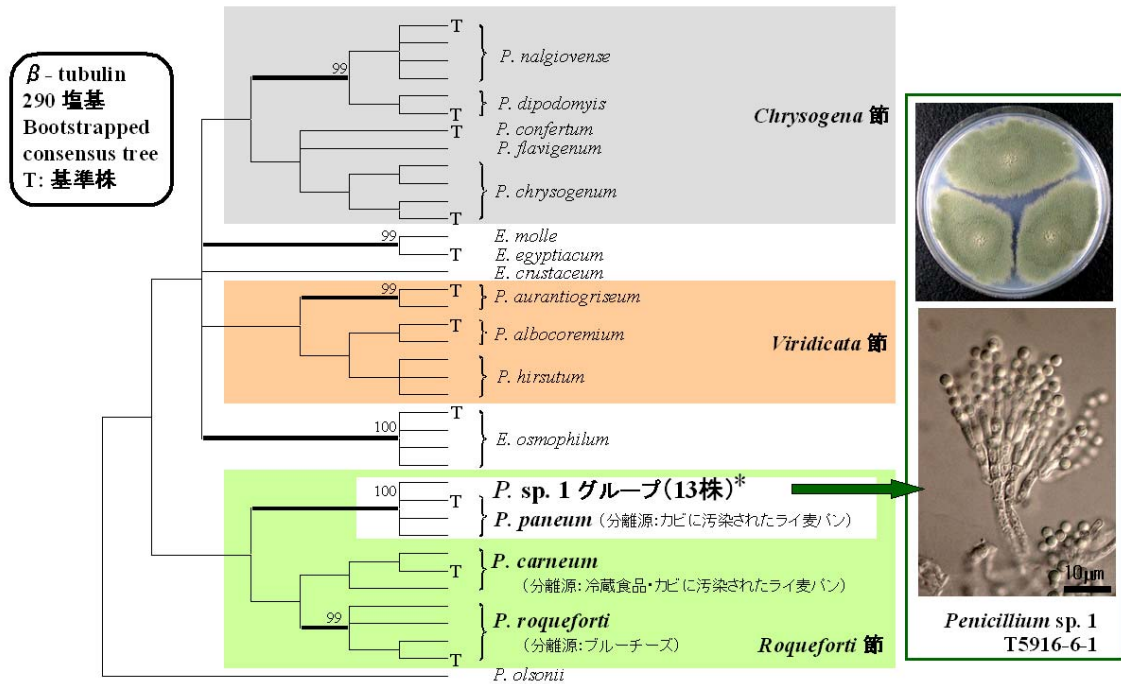
高松塚・キトラ両古墳の石室内外から分離されたフザリウム属(*Fusarium*)24株のEF-1α遺伝子を用いた分子系統樹(Kiyuna *et al.* (2008) Mycoscience 49: 298-311を一部改変)

5. 主要な菌類の正体(アイデンティティ)
5-2. トリコデルマ属 (*Trichoderma*)



高松塚・キトラ両古墳の石室内外から分離されたトリコデルマ属 (*Trichoderma*) 18株*のEF-1 α 遺伝子を用いた分子系統樹(Kiyuna *et al.* (2008) *Mycoscience* 49: 298-311を一部改変)
*分子系統解析に用いた分離株18株: 高松塚: 9株(2003.9~2004.5)、キトラ: 9株(2003.9~2005.2)

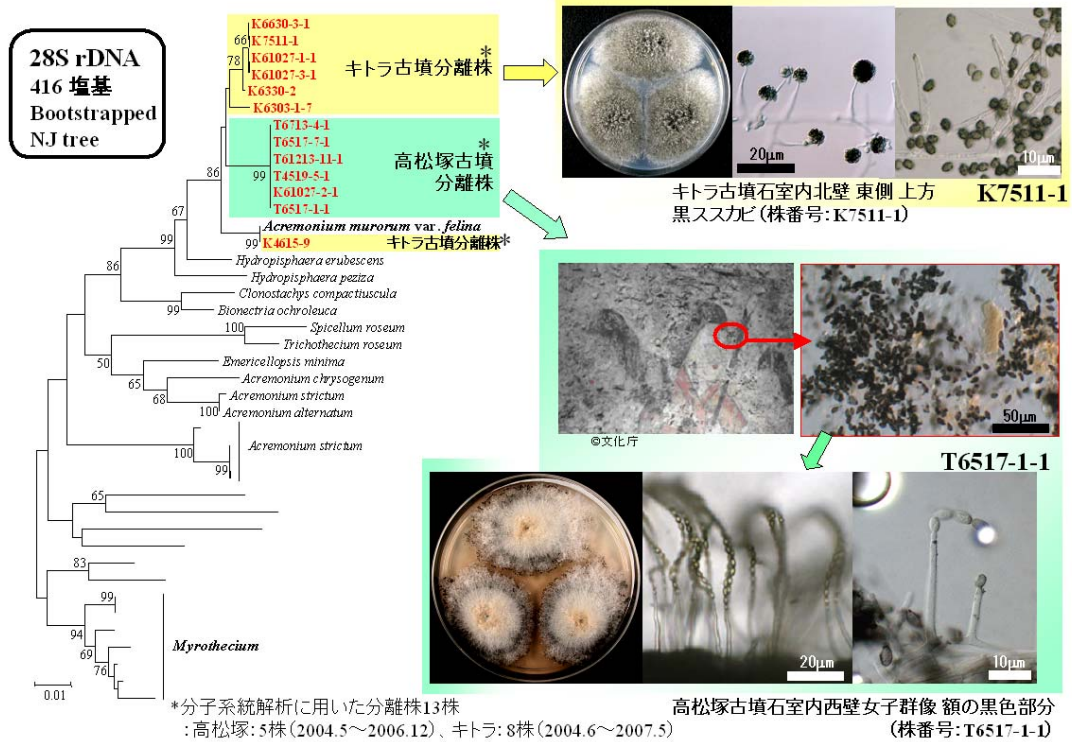
5. 主要な菌類の正体(アイデンティティ)
5-3. アオカビ属 (*Penicillium*)



*分子系統解析に用いた分離株13株: 高松塚: 7株(2004.5~2006.5)、キトラ: 6株(2005.9~2006.2)

5. 主要な菌類の正体(アイデンティティ)

5-4. 暗色系アクレモニウム (*Acremonium* (sect. *Gliomastix*))

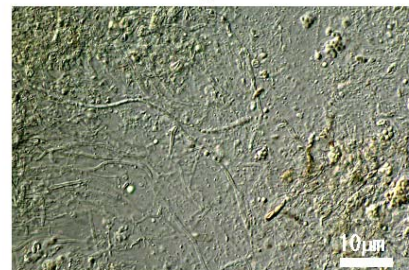


6. 高松塚・キトラ両古墳石室内壁のバイオフィルムのマイクロビータの比較

6-1. カビ

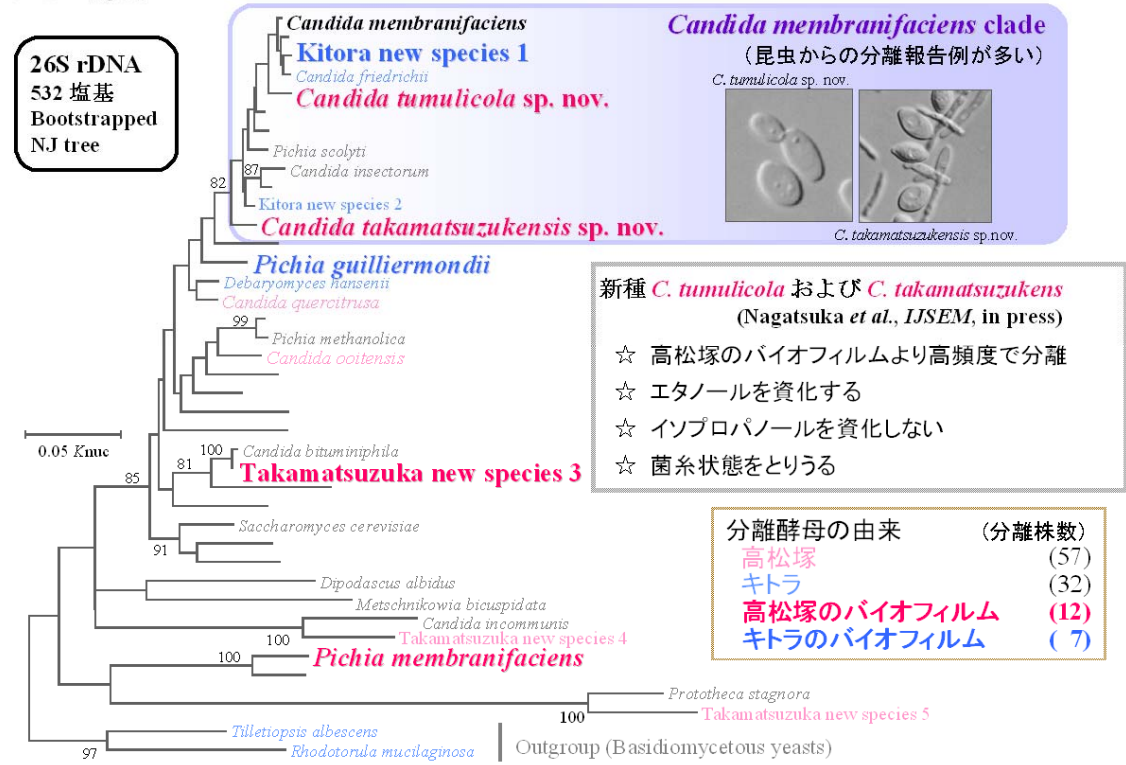
分類群	高松塚古墳 (2004/7-2006/12)	キトラ古墳 (2005/9-2007/9)
<i>Penicillium</i> spp.	50*	32
<i>Fusarium</i> spp.	23	4
<i>Gliocladium</i> spp.	15	7
<i>Acremonium</i> spp.	—	28
<i>Trichoderma</i> spp.	—	9
<i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) spp.	6	2
<i>Cladosporium</i> sp.	5	9
<i>Faecilomyces lilacinus</i>	5	5
<i>Arthrotrichum</i> sp.	2	3
<i>Aspergillus</i> spp.	1	—
<i>Cylindrocarpum</i> sp.	—	3
<i>Ophiostoma</i> sp.	—	2
<i>Monocillium</i> -like sp.	1	—
<i>Phialocephala</i> spp.	2	7
<i>Phoma</i> sp.	—	1
<i>Rhinochrysiella</i> -like sp.	1	—
<i>Verticillium</i> sp.	—	1
<i>Zygosporium masonii</i>	—	1
<i>Burgoa</i> sp. (anam. of <i>Sistotrema</i>)	—	1
Unidentified hyphomycetes spp.	25	36
Yeasts spp.	28	28
総分離株数	172	180
試料数	35	34

(例) 高松塚古墳石室内西壁白虎前肢下ゲル状(2005/9/16採取: 試料No. T5916-1)

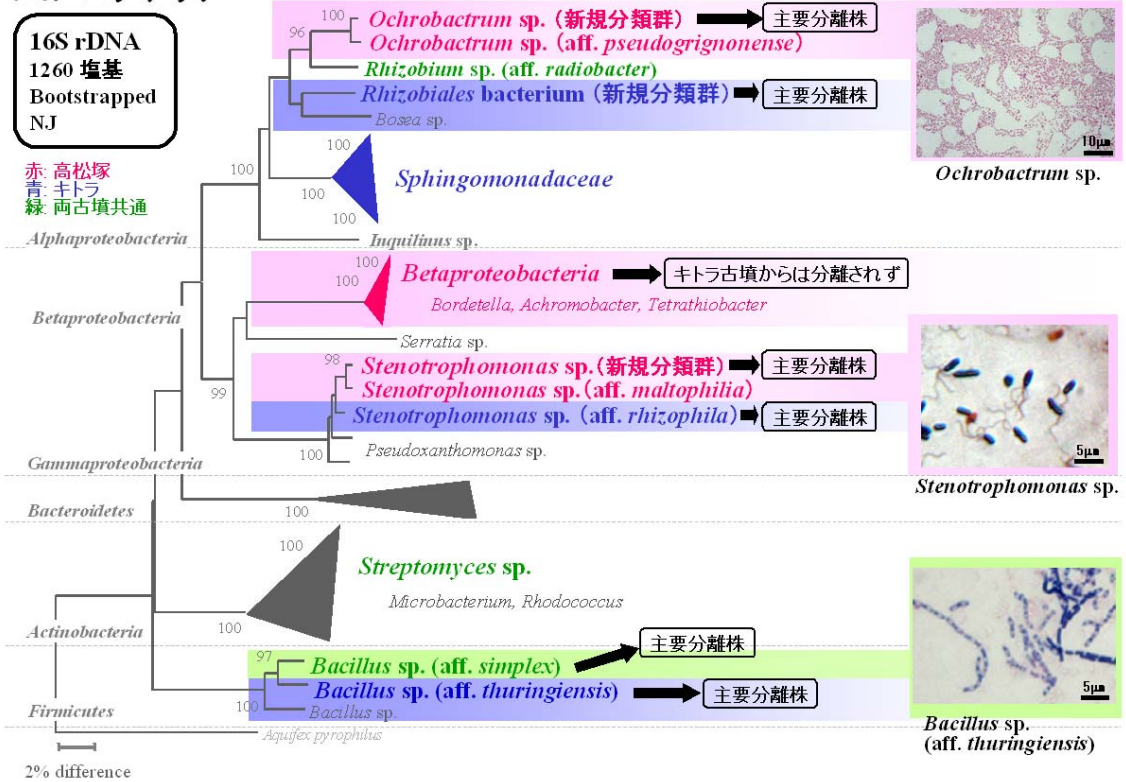


*分離株数を示す

6. 高松塚・キトラ両古墳石室内壁のバイオフィルムのマイクロビータの比較
6-2. 酵母



6. 高松塚・キトラ両古墳石室内壁のバイオフィルムのマイクロビータの比較
6-3. バクテリア



6. 高松塚・キトラ両古墳石室内壁のバイオフィルムのマイクロビータの比較
 6-4. 天井石3壁面から採取した乾燥ゲルの直接観察結果

仮設 修理施設にて

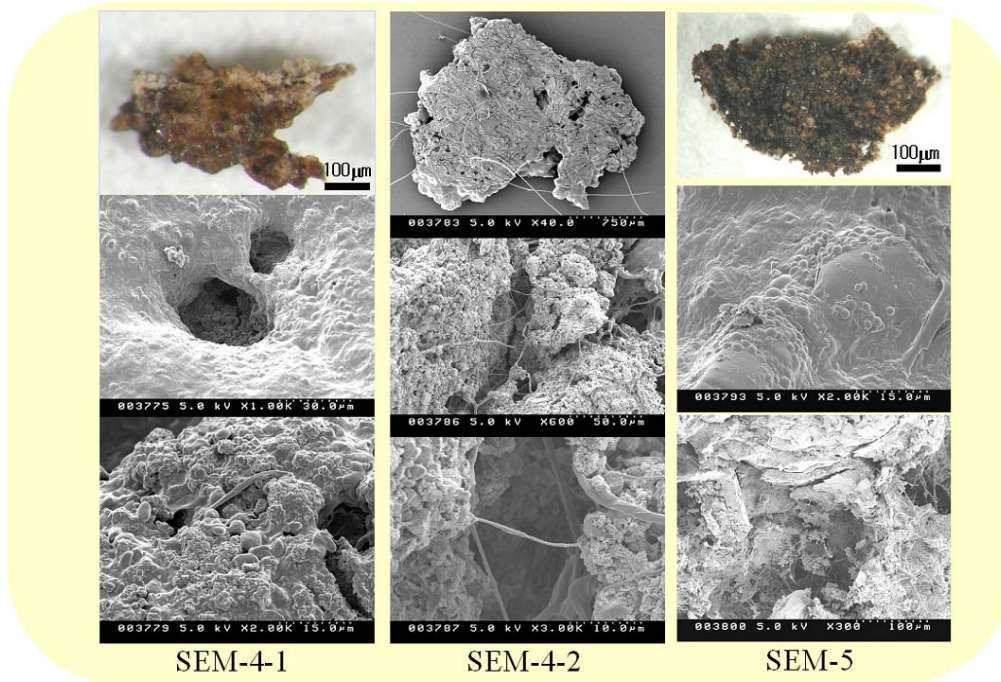
ダニ類の食痕・排泄物の塊あるいは無数のバクテリアの細胞や菌類の菌糸・孢子

ダニ等の微小動物の体片

菌類の孢子およびバクテリアの細胞が混生している様子

微生物(菌類およびバクテリア)の塊またはダニ等の微小動物の食痕、排泄物の混生体(バイオフィルム)であると考えられる

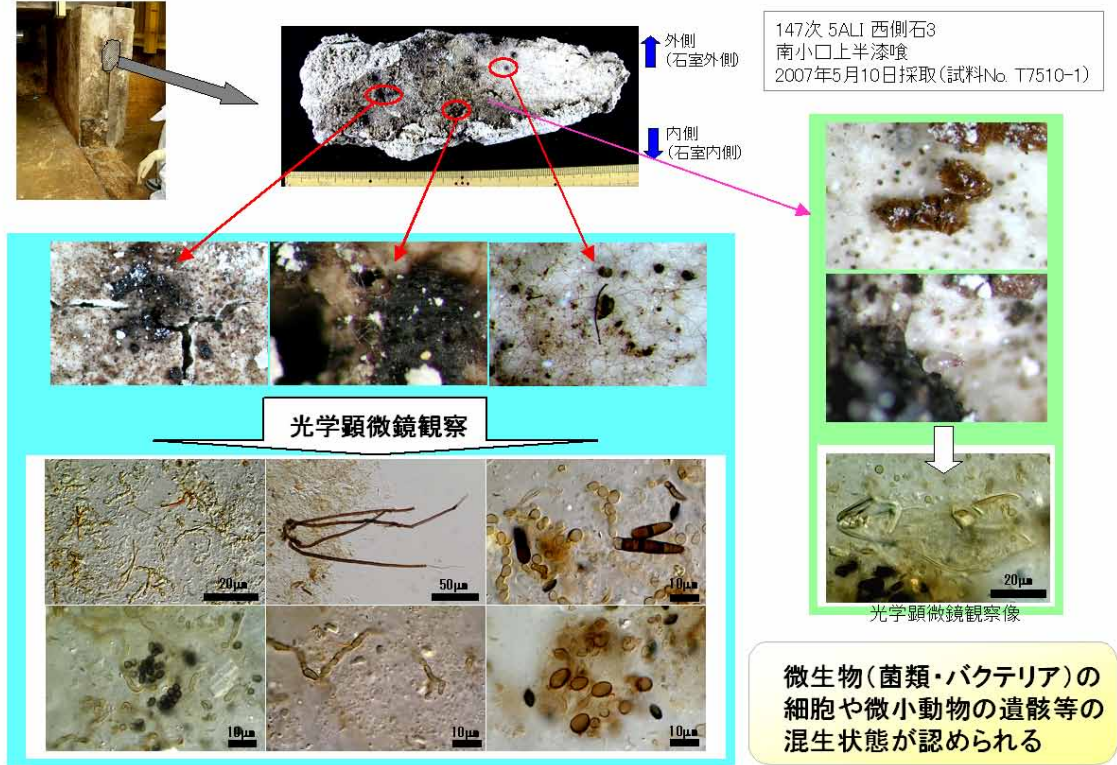
6. 高松塚・キトラ両古墳石室内壁のバイオフィルムのマイクロビータの比較
 6-5. 漆喰片バイオフィルムの微細構造



➡ バイオフィルム(乾燥ゲル)は菌類(カビ・酵母)やバクテリアの混生体である

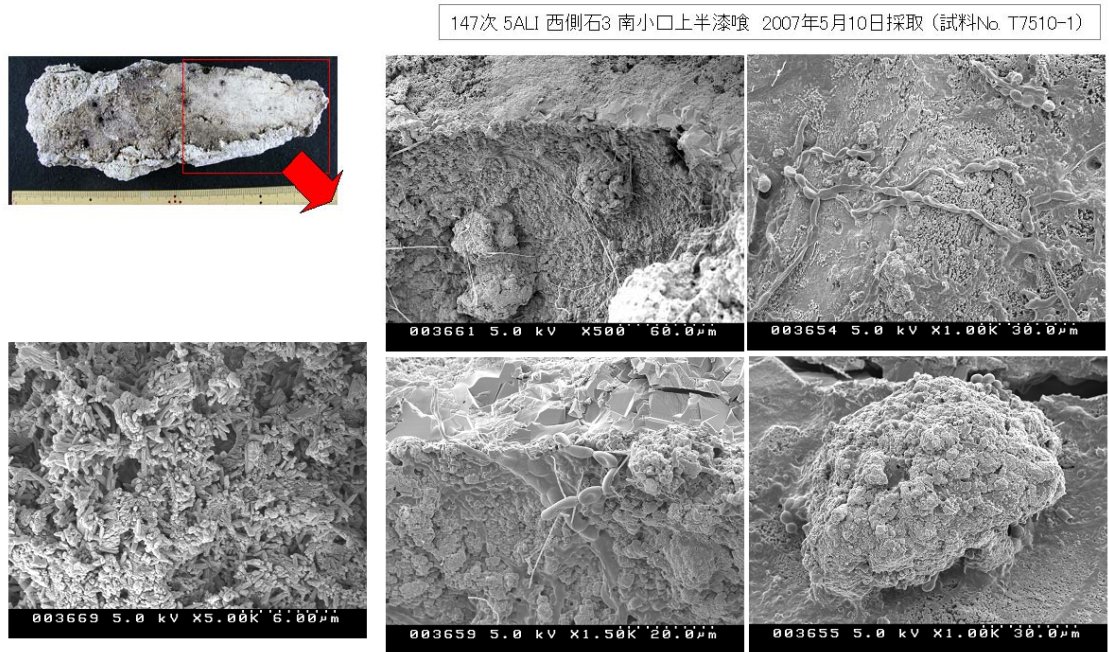
7 高松塚古墳石室壁石間から採取された漆喰片試料の観察所見

7-1 壁石間漆喰片の実体・光学顕微鏡観察



7 高松塚古墳石室壁石間から採取された漆喰片試料の観察所見

7-2 壁石間漆喰片の微細構造(走査型電子顕微鏡(SEM)観察)



漆喰表層下の状態および微生物細胞様の塊

漆喰片の断面、表層に観察されたカビの菌糸やバクテリアの細胞

8. 要約と展望

- ① 高松塚古墳石室内のマイクロビオータ(菌類・バクテリア)の属レベルの変化について明らかにした。

→ (菌類)

2004年5月～2006年2月ではフザリウム (*Fusarium*)、トリコデルマ (*Trichoderma*)、アオカビ (*Penicillium*) の3属であった。いずれも大量の分生子(無性胞子の一型)を生じる、子囊菌門の明色系(hyaline)アナモルフ菌類の仲間である。石室解体に伴う冷却管始動(2005年9月)以降、フザリウム、トリコデルマ両属は徐々に衰退し、暗色系アクレモニウム属 [*Acremoium* (sect. *Gliomastix*)] とその座を交代した。

→ (バクテリア)

ファーミキューテス門の *Bacillus* sp. (aff. *thuringiensis*) が最優占種として分離され、アルファプロテオバクテリア綱の *Ochrobactrum* 属、ガンマプロテオバクテリア綱の *Stenotrophomonas* 属がついで多かった。バクテリア相(細菌相)の構成分類群でも墳丘部の冷却の影響によると考えられる変化が認められた。

- ② 高松塚古墳採取サンプルから分離した主要な菌類・バクテリア培養株の系統分類学的帰属を明らかにした。

- ③ 高松塚、キトラ両古墳石室内の壁面上に発生したいわゆるゲル状物質はバイオフィルムであり、バクテリア・カビ・酵母の混生体で、その主要な構成分類群を明らかにした。また、走査型電子顕微鏡観察から、それらの微生物細胞や菌類菌糸は漆喰内に深く縦横に侵入している可能性が示された。

現在、採取サンプルについて微生物分離作業を続行し、分離株の種レベルの同定と個々の生物学的特徴(biopofile)を調べ、またDGGE法による微生物群集解析も適用して、石室内壁面・取合部・壁石間・周辺土壌など、生息場所と微生物種との関係を詳しく調べている。また、カビ・酵母・バクテリアの代表分離株については、生物劣化とのかかわりを究明するために、それらの有機酸の生成などについて調査中である。