

高松塚古墳から採取されたカビ・酵母の発育調査

2005 年 5 月 20 日

環境生物学研究所

阿部恵子

1 . 目的、意図

古墳内部でのカビ繁殖を抑えるための基礎データをとることを目的とし、最近、高松塚古墳から分離された主要なカビと酵母について、発育と温度の関係を調査した。

2 . 方法

使用菌株: カビ 15 株 (参照菌 3 株、および高松塚古墳から採取された菌 12 株) および酵母 2 株 (参照菌 1 株、および高松塚古墳から採取された菌 1 株) を使用した。

使用菌株は下記の通りである。

<参照菌>	R-1	<i>Aspergillus terreus</i> Thom NBRC 6346
	R-2	<i>Penicillium citrinum</i> Thom NBRC 6352
	R-3	<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon (As <i>Gibberella fujikuroi</i> (Sawada) Wollenweber) NBRC 31251
	R-4	<i>Pichia membranifaciens</i> (<i>Pichia alcoholophila</i>) NBRC 10725

<高松塚採取菌> 2004 年 5 月 19 日採取分 (T4519 シリーズより)

T-1	<i>Acremonium</i> sp. (sect. <i>Gliomastix</i>)	T4519-5 より
T-3	<i>Fusarium</i> sp.8	T4519-9 より
T-4	<i>Trichoderma</i> sp. 1-b	T4519-9 より
T-5	<i>Gliocladium</i> sp. 2	T4519-8 より
T-6	<i>Penicillium</i> sp. 4	T4519-9 より
T-14	<i>Fusarium</i> sp.4	T4519-9 より

2004 年 9 月 6 日採取分 (T4906 シリーズより)

T-7	<i>Fusarium</i> sp.2	T4906-8 より
T-8	<i>Penicillium</i> sp. 4	T4906-7 より
T-9	<i>Trichoderma</i> sp. 4	T4906-8 より

2004 年 7 月 16 日採取分 (白虎周辺の粘塊様物質より)

T-10	<i>Pichia membranifaciens</i>
T-11	<i>Fusarium</i> sp.

2001 年 12 月 18 日採取分

T-12	<i>Cylindrocarpon</i> sp.	TBT-1 (褐色になるもの)
T-13	<i>Cylindrocarpon</i> sp.	TBT-2 (褐色になるもの)

*分離株の詳細については、第3回恒久保存対策検討会、参考資料3を参照。

カビの生育調査

前培養: 各菌株を PDA (ポテトデキストロース寒天) 平板に画線し、胞子を着生するまで

25℃で培養した。

試験片の作製: 寒天平板上に発育した菌を生理的食塩水に懸濁し、胞子を遠心分離で集め、0.5%グルコースと0.5%ゼラチンを含む溶液中に懸濁した。胞子濃度を約 1×10^6 個/mL に分散させた溶液 3 μ L をプラスチック板上にスポット状に接種し乾燥させた。

試験片の培養: 培養温度は 10℃、15℃、18℃、20℃、23℃ の5段階とし、培養期間は 24 時間、4 日間、8 日間の3期間とした。

写真撮影と発育の観察: 所定の温度で所定の期間培養後、試験片を湿室から取り出して乾燥させた。乾燥により菌糸の発育は停止する。発育を停止させた後、各菌株の発育状態を顕微鏡下で写真撮影した。

酵母の生育調査

前培養: 各菌株を、PDA (ポテトデキストロース寒天) 平板培地3枚ずつに画線し、25℃で培養した。

細胞懸濁液の作製と接種: 各菌株で 1×10^7 cells/ml の懸濁液を作製し、その1白金耳を PDA 平板培地に画線した。

培養: 培養温度は 10℃、15℃、18℃、20℃、23℃ の5段階、培養期間は1週間、および3週間の2期間とした。各温度条件と培養期間の組み合わせで、それぞれ3枚ずつの平板を培養した。

写真撮影と発育の観察: 培養1週間後、および3週間後に平板を写真撮影した。発育状態は、下記の3段階で表示した。

++: 1週間培養後にコロニーが目視できる

+: 1週間培養後はコロニーが目視できないが3週間培養後にコロニーが目視できる

-: 3週間培養後もコロニーが目視できない

3. 結果

表1～3にカビの発育結果を示し、表4に、平板培養での酵母の発育状態を示した。

表1 水蒸気飽和状態の湿室内でのカビ発育調査 24 時間培養

菌株		菌糸長 (μm)				
		10	15	18	20	23
R-1	<i>Aspergillus terreus</i> Thom NBRC 6346	-	-	-	-	+
R-2	<i>Penicillium citrinum</i> Thom NBRC 6352	-	-	+	+	+
R-3	<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon NBRC 31251	-	-	-	-	-
T-1	<i>Acremonium</i> sp. T4519-5 より	-	-	+	+	+
T-4	<i>Trichoderma</i> sp. 1-b T4519-9 より	-	-	-	+	+
T-5	<i>Gliocladium</i> sp. 2 T4519-8 より	-	-	-	+	+
T-6	<i>Penicillium</i> sp. 4 T4519-9 より	-	-	-	+	+
T-7	<i>Fusarium</i> sp.2 T4906-8 より	-	-	+	+	+
T-8	<i>Penicillium</i> sp. 4 T4906-7 より	-	-	-	+	+
T-9	<i>Trichoderma</i> sp. 4 T4906-8 より	-	-	-	-	+
T-11	<i>Fusarium</i> sp. (T-10 と同じ試料から分離)	-	-	+	+	+
T-12	<i>Cylindrocarpon</i> sp. TBT-1 (褐色になる)	-	-	-	-	-
T-13	<i>Cylindrocarpon</i> sp. TBT-2 (褐色になる)	-	-	-	-	-
T-3	<i>Fusarium</i> sp.8 T4519-9 より	-	-	+	+	++
T-14	<i>Fusarium</i> sp.4	-	-	+	+	+

-:発芽が認められない。+:発芽が認められ、菌糸長が 200 μm 未満。

表2 水蒸気飽和状態の湿室内でのカビ発育調査 4 日間培養

菌株		菌糸長 (μm)				
		10	15	18	20	23
R-1	<i>Aspergillus terreus</i> Thom NBRC 6346	-	-	++	++	++
R-2	<i>Penicillium citrinum</i> Thom NBRC 6352	+	++	++	++	++
R-3	<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon NBRC 31251	++	++	+++	+++	+++
T-1	<i>Acremonium</i> sp. T4519-5 より	+	++	++	++	++
T-4	<i>Trichoderma</i> sp. 1-b T4519-9 より	+	++	+++	+++	+++
T-5	<i>Gliocladium</i> sp. 2 T4519-8 より	+	++	++	+++	+++
T-6	<i>Penicillium</i> sp. 4 T4519-9 より	+	++	++	++	++
T-7	<i>Fusarium</i> sp.2 T4906-8 より	+	+++	+++	+++	+++
T-8	<i>Penicillium</i> sp. 4 T4906-7 より	+	++	++	++	++
T-9	<i>Trichoderma</i> sp. 4 T4906-8 より	+	++	+++	+++	+++
T-11	<i>Fusarium</i> sp. (T-10 と同じ試料から分離)	+	++	+++	+++	+++
T-12	<i>Cylindrocarpon</i> sp. TBT-1 (褐色になる)	++	+++	+++	+++	+++
T-13	<i>Cylindrocarpon</i> sp. TBT-2 (褐色になる)	+	++	++	++	+++
T-3	<i>Fusarium</i> sp.8 T4519-9 より	++	+++	+++	+++	+++
T-14	<i>Fusarium</i> sp.4	+	+++	+++	+++	+++

-:発芽が認められない。+:発芽が認められ、菌糸長が 200 μm 未満。

++:菌糸長が 200 μm 以上で 2000 μm 未満。+++ :菌糸長が 2000 μm 以上。

表3 水蒸気飽和状態の湿室内でのカビ発育調査 8日間培養

菌株		菌糸長 (μm)				
		10	15	18	20	23
R-1	<i>Aspergillus terreus</i> Thom NBRC 6346	-	++	+++	+++	+++
R-2	<i>Penicillium citrinum</i> Thom NBRC 6352	+	++	++	++	++
R-3	<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon NBRC 31251	+++	+++	+++	+++	+++
T-1	<i>Acremonium</i> sp. T4519-5 より	++	++	++	+++	+++
T-4	<i>Trichoderma</i> sp. 1-b T4519-9 より	++	+++	+++	+++	+++
T-5	<i>Gliocladium</i> sp. 2 T4519-8 より	++	+++	+++	+++	+++
T-6	<i>Penicillium</i> sp. 4 T4519-9 より	++	++	++	++	++
T-7	<i>Fusarium</i> sp.2 T4906-8 より	++	+++	+++	+++	+++
T-8	<i>Penicillium</i> sp. 4 T4906-7 より	++	++	++	++	+++
T-9	<i>Trichoderma</i> sp. 4 T4906-8 より	++	+++	+++	+++	+++
T-11	<i>Fusarium</i> sp. (T-10 と同じ試料から分離)	++	+++	+++	+++	+++
T-12	<i>Cylindrocarpon</i> sp. TBT-1 (褐色になる)	+++	+++	+++	+++	+++
T-13	<i>Cylindrocarpon</i> sp. TBT-2 (褐色になる)	+++	+++	+++	+++	+++
T-3	<i>Fusarium</i> sp.8 T4519-9 より	++	+++	+++	+++	+++
T-14	<i>Fusarium</i> sp.4	++	+++	+++	+++	+++

-:発芽が認められない。+:発芽が認められ、菌糸長が 200 μm 未満。

++:菌糸長が 200 μm 以上で 2000 μm 未満。+++ :菌糸長が 2000 μm 以上。

表4 平板培養による酵母発育調査

菌株		10	15	18	20	23
R-4	<i>Pichia membranifaciens</i> NBRC 10725	+	++	++	++	++
T-10	<i>Pichia membranifaciens</i> 2004.7 月 16 日採取	++	++	++	++	++

++: 1 週間培養後にコロニーが目視できる。

+:1 週間培養後はコロニーが目視できないが 3 週間培養後にコロニーが目視できる。

-:3 週間培養後もコロニーが目視できない。