

Research Article
原著論文

河川氾濫による水害に遭遇した植物標本のカビ汚染とその対策

浜田信夫¹・馬場 孝²・佐久間大輔¹

Contaminated fungi on botanical specimens by water hazard of flood

Nobuo HAMADA¹, Takashi BABA² and Daisuke SAKUMA¹

Abstract: Water hazard occurred on many botanical specimens of Hitoyoshi Castle History Museum by flood on Kuma River in Kumamoto Prefecture in July 2020. Characters of contaminated 14 predominant fungi were examined on treatment for cleaning and drying damaged specimens. Most predominant fungi on specimens were *Trichoderma*, following to *Fusarium* and *Penicillium*. All of those fungi are hydrophilic and found in soil with poor nutrient commonly. Because xerophilic fungi were not detected, fungal contamination was thought to be derived from flood water, and to have occurred as soon as flooding. Contaminated fungi were thought to disappear within a few months by plenty of drying. Some of the first-aid procedures were proposed for water soaked specimens.

抄録: 2020年7月に発生した豪雨による球磨川氾濫で被害を受けた熊本県の人吉城歴史館の植物標本を、乾燥・クリーニングする過程で、汚染カビの種類や性質について、14サンプルを調べた。最も多く繁殖していたカビは、*Trichoderma*で、その他に、*Fusarium*、*Penicillium*などが検出された。いずれも貧栄養な土壤中に一般的に見られる好湿性のカビであった。保存した植物標本に生育するカビには好乾性カビは見つからなかったことから、いずれも洪水に由来し、浸水と同時に発生したカビと思われる。これらの汚染カビは、十分な乾燥を数カ月行えば、消失すると思われる。あわせて、乾燥や酸素遮断を優先するカビ被害への初期対処法の提言も行った。

Key words: fungal contamination; hydrophilic fungi; specimen conservation; stabilization; *Trichoderma*; water hazard

はじめに

日常の文化財や自然史資料の保存科学に比べ、災害により被災した文化財の安定化処理や修復に関する研究は少ない。被災した自然史標本の大規模な修復作業の事例は、東日本大震災時のものにほぼ限られ、(例えば、津波により被災した文化財の保存修復技術の構築と専門機関の連携に関するプロジェクト実行委員会, 2014; Nishida et al., 2017), とりわけ保存科学的な知見は少ない(被災文化財レスキュー事業 情報共有研究会 <http://www.tobunken.go.jp/~hozon/rescue/rescue20110510.html> 2020年9月25日確認)。

水損した資料は、修復を諦めて廃棄されてしまうことも少なくない。一般に修復が困難と思われる要因としては、泥による汚損や、水による膨潤や接着部が剥がれることによる物理的な破損、バクテリアやカビによる腐敗などが挙げられるだろう。被害を最小限にとどめるためには、必要な対応を見定め、迅速な対応を行うことが重要になる。

この中で、カビやバクテリアによる被害は、東日本大震災時には津波被害を受けた文化財(東嶋ほか, 2012; 内田ほか, 2017など)のほか、植物標本の被害(久米田ほか, 2015)について報告されている。

※大阪市立自然史博物館業績第491号 (2020年12月2日受理)

¹ 大阪市立自然史博物館 〒546-0034 大阪市東住吉区長居公園1-23

Osaka Museum of Natural History, Nagai Park 1-23, Higashisumiyoshi-ku, Osaka 546-0034, Japan

² 大阪健康安全基盤研究所 天王寺センター 〒543-0026 大阪市天王寺区東上町8-34

Osaka Institute of Public Health Tennoji Center, 8-34 Tojo-cho, Tennoji-ku, Osaka 543-0026, Japan

Corresponding author: N. Hamada, mxi00715@nifty.com

ボランティアが参加すること多い安定化処理においては、病原性のカビ (*Stachybotrys* など) が資料上に見いだされた事例もあり (<重要> 被災文化財における人体への健康被害の可能性のあるカビの取扱い, および予防に関する注意点 <https://www.tobunken.go.jp/japanese/rescue/20120319.pdf> 2020年9月25日確認), 作業者の安全確保のためにも課題となる。

世界的に見ても、文化財の水害による被害は20世紀後半にもしばしば起こっている (浜田, 2014)。例えば、1966年11月に、イタリアのフィレンツェの市街を流れるアルノ川が氾濫した。その周辺では6メートルの高さまで水没し、ルネッサンス期の貴重な文化財だけでなく、ダ・ビンチなどの文書や書物が泥水に浸かった。国立中央図書館だけでも、1840年以前の書物8万冊を含む40万冊以上が被害を受けた。本は泥水で汚れて悪臭を放ち、空気に曝すと直ぐにカビが発生したという。水没後に乾燥させる過程で生えてくるのは、*Cladosporium* (クロカワカビ属) や *Fusarium* (アカカビ属) や *Trichoderma* (ツチアオカビ属) で、湿った環境を好むカビだった (Spande, 2009)。ここで起きた水害は、それまでの本の保存法や修理法に大きな問題提起を行った。貴重な文書などを救うために、世界各地から多くのボランティアが支援に訪れ、修復に大きな成果を上げた。

本報では、2020年7月に発生した「令和2年7月豪雨」による球磨川氾濫で被災・水損した前原勘次郎植物標本 (以下前原コレクション) について、発生したカビ被害の実態を調査した。また、それらの植物標本を、乾燥・クリーニングする過程で、汚染カビの種類や性質について調査を行ったので報告する。

調査の材料と方法

熊本県の人吉城歴史館は、人吉市教育部が所管する博物館類似施設であり、博物館法上の登録や相当施設申請は行われておらず、収蔵品を有する博物館として県や文化庁に把握されていなかった。植物命名規約上の登録標本庫にもなっていないが、この施設には地域の植物研究家である乙益氏が旧蔵していた前原コレクションが保管されていた。これは『南肥植物誌』(前原, 1931) の根拠標本であり、当地域の明治期から昭和初期にかけての植物誌研究上極めて重要なものである。

2020年7月3日から4日にかけての球磨川の氾濫で人吉市街が浸水し、「人吉城歴史館」付属の保管施設となっていた建物が浸水・水没して、前原コレクションも水濡れと泥による被害を受けた。

現地での対応は不可能と判断されたが、県が人吉市の同意を得て、人吉市から熊本市の松橋の熊本県博物館ネットワークセンターへ搬出が可能となったのは発災12日後の7月15日だった。被災標本は、現地で保存されていた棚一段ずつの単位で、台紙ごと大きな透明のビニール袋に入れて、熊本から、協力を申し出た全国の大学・博物館関係者の協力を得て、順次発送した。最初期のものは常温で、後には冷蔵便 (5℃) で配送された。大阪市立自然史博物館に到着したのは7月18日、23日、8月6日で合計28箱、各標本とも到着後すぐに作業できる分を除き、マイナス30℃の冷凍庫内に保存した。到着直後に検分した状況で、すでにカビ被害が見られた。カビは被災後、熊本市に移送されるまでの期間、及び大阪まで配送されるまでの間に広がったものと考えられる。洗浄・乾燥作業をする標本は5℃の冷蔵庫に数日間保存し、解凍したものを用いたが、洗浄の際にカビ被害の目立つ標本についてサンプリングを行った。カビが発生した標本は台紙全体が泥と水に濡れたものに限られてはならず、一部が濡れただけのものにも見られ、サンプリングは様々な状態のものから行った。

汚染カビの調査法は、10ml滅菌リン酸緩衝生理食塩水付き拭き取り綿棒 (Promedia ST-25PBS) による拭き取り法である。各々の標本について、目視してカビが生えていると思われる部分の中で、代表的な汚染カビのコロニーの一部と思われる部分 (1cm x 2cm) を1-2カ所採取した。即ち、カビの胞子や菌糸の塊、さらに台紙が、黄色や紫色に変色した部分をふき取った。採取部分の内訳は、サンプルの#3383, #3874, #25385, #25386については、優占したカビが明らかに1種類のみだったので、1カ所から採取した株について、形態観察や遺伝子解析を行った。なお、採取したのは9標本で、分離した株数は合計14株だった (Table 1 参照)。その中で、6標本は多くの泥が付着していた。調査した標本から拭き取った検体は、生理食塩水に浸した状態で、カビの検査に供した。採取したサンプルの懸濁液は、すぐに培養に用いた。

各サンプルは、偶然付着した胞子の検出を避け、標本や台紙上で増殖したカビのみを検出するために、1,000

Table 1. Identificatoin and growth of predominant fungi on plant specimens contaminated by flooded hazard.

表1. 大水害で被災した植物標本に多く生育したカビの種類と成長特性.

sample#	origin	soil	date of collection	species	Identity	pigment on 1/2PDA	growth on DG18	fertility on DG18
3383	Hitoyoshi	much	20200721	<i>Trichoderma asperellum</i>	100%	-	+	-
3874	Hitoyoshi	much	20200721	<i>Trichoderma atroviride</i>	100%	-	+	+
14237-1	Hitoyoshi	much	20200723	<i>Penicillium onobense</i>	100%	-	+	+
14237-2	Hitoyoshi	much	20200723	<i>Trichoderma asperellum</i>	100%	-	+	-
142330-1	Hitoyoshi	few	20200815	<i>Talaromyces veerkampii</i>	100%	wine red	+	+
142330-2	Hitoyoshi	few	20200815	<i>Trichoderma harzianum</i>	100%	yellow	+	-
9441-1	Hitoyoshi	few	20200815	<i>Mucor moelleri</i>	100%	-	+	-
9941-2	Hitoyoshi	few	20200815	<i>Westerdykella multisporea</i>	100%	-	+	-
14239-1	Hitoyoshi	few	20200815	<i>Fusarium redolens</i>	100%	red	+	+
14239-2	Hitoyoshi	few	20200815	<i>Fusarium solani</i>	99.6%	yellow	+	+
25383-1	Hitoyoshi	much	20201010	<i>Trichoderma koningiopsis</i>	100%	-	+	-
25383-2	Hitoyoshi	much	20201010	<i>Trichoderma harzianum</i>	99.8%	yellow	+	+
25385	Hitoyoshi	much	20201010	<i>Trichoderma atroviride</i>	100%	-	+	-
25386	Hitoyoshi	much	20201010	<i>Trichoderma atroviride</i>	100%	-	+	+

Sample# indicates the specimen number of botanical herbarium in Hitoyoshi Castle History Museum.

Soil indicates the quantity of soil attached on the specimens, including the mounting paper.

Pigment indicates color stained the medium; growth and fertility indicates detection of fungal hyphae, and of fungal spores

倍や10,000倍に希釈してカビの胞子の検出を試みた。その中で、10,000倍でも複数のコロニーが検出できた優占カビのみを分離した。

培養用には、好乾性カビ検出用のグリセリンを18%添加したDG18培地と、組成を下記に示した好湿性カビ検出用の1/2PDA培地を用いた（浜田・阿部，2017）。しかし、DG18培地での各カビの生育がよくないので（Table 1 参照）、カビの成長や形態を調べる実験には、栄養をカットした、好湿性カビを検出しやすい1/2PDA培地を用いた。即ち、DG18培地では、*Trichoderma* の場合のように、コロニーはできて（growth: +）、胞子を形成する場合としない場合（fertility: +/-）が見られたためである。

希釈したサンプルは、クロラムフェニコール（Sigma 製）50mg/L を添加した1/2PDA培地：Potato dextrose agar（Difco 製）19.5g/L; Bacto Agar（Difco 製）7.5g/L を添加したシャーレに接種した。25℃で7-10日間培養した後、発生したコロニーの観察を行った。

カビの種類の同定に際しては、まず検鏡によって属の同定を試みた。その後、1/2PDA斜面培地で2週間以上単離培養した後、遺伝子解析を行った。各株からDNeasy Blood & Tissue Kit（Qiagen）を用いてDNAを抽出した。ITS1（5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3'）とITS4（5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'）というプライマーを用いて（White et al., 1990）、PCR法によりrDNAのITS1、5.8S、ITS2領域（約550bp）を増幅した。PCR条件は、最初に94℃・5分、次に94℃・30秒と55℃・30秒と72℃・1分を1サイクルとした系を35サイクル、最後に72℃・7分とした。得られたPCR産物をPCR Purification Kit（Qiagen）で精製し、ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer（Applied Biosystems）を用いて塩基配列を決定した。National Center for Biotechnology Information（NCBI）が提供するBLAST（<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>）を用いて塩基配列の相同性を調べた。

各分離株について、好乾性カビ用培地での生育特性を調べるため、胞子を滅菌針でDG18培地に接種した。そして、25℃で培養し、7-8日後の菌体の形成や胞子形成を観察し、その結果をTable 1に示した。

結果と考察

1) 検出された加害カビの特性について

検出されたカビについて種の同定を行うために、形態観察とともに、遺伝子解析を行った（Table 1）。14検体の遺伝的な相同性は、*F. solani* などの2株を除いていずれも100%だった。被害標本にはしばしば*Trichoderma*



Fig.1 Fungal colony on wet botanical specimen suffered from flooding. Bar 5mm.

図1. 洪水により浸水した植物標本上に発生したカビのコロニー。

が優占しており、小さいが、白い菌体と、緑色の粉状の胞子の塊が認められた。標本の葉や茎の部分だけでなく、濡れた標本の台紙の上にもコロニーが見られた (Fig.1)。分離株を培養した結果、*Trichoderma* の中でも、*T. atroviride* は3標本で確認され、コロニーは *T. asperellum* に比して、より菌糸が綿毛状に毛羽立っていた (Kubicek and Harman, 1998)。また、胞子の表面は滑らかなものが多かった。また、2標本で見つかった *T. harzianum* はともに黄色の色素を産出した。2種の *Fusarium* は共に多くの大胞子を作り、*F. redolens* は綿状の菌体で赤色の色素を分泌し、幅の比較的に広い大胞子が確認された。黄色色素を産出してコロ

ニーが酵母状に見える *F. solani* も認められた。また、*Penicillium* (アオカビ属) が検出されたが、1種は青色の胞子を作る *P. onobensa* であり、もう1種類は *Penicillium* と近縁の *Talaromyces veerkampii* で、濃い赤色の色素を分泌した。その他に、*Phoma* (フォーマ属) に似た被子器を持つカビは、暗色の胞子を持つ *Westerdykella multispora* であった。*Mucor* (ケカビ属) は遺伝子解析により、*M. meolleri* と同定した。

まず、*Trichoderma* が大量の泥水に浸水した標本で多く見られるのが目を引く。検出された4種の *Trichoderma* のカビは、いずれも貧栄養な土壌に見られるコスモポリタンなカビである。また、菌糸はキチンなどの分解性が高い酵素を分泌し、シイタケ栽培の汚染原因菌であったり、動物性の腐敗菌や植物寄生菌であったりする。また、*Fusarium* と同様に、セルロース分解能があることも見逃せない。ゆえに、多様な環境に生育し、土壌中にも広く分布しているカビが、汚染水とともに標本に付着して繁殖したと考えてよいだろう。

一方、これらの標本に付着したカビは、乾燥機による85℃、72時間乾燥で、*Trichoderma* のカビの胞子はほぼ1/10が死滅せずに残った。ただ、より乾燥に強いと言われる好乾性カビも、乾燥条件下では3カ月程度で死滅する (浜田, 2014)。ゆえに、そのまま乾燥状態で保存すれば、カビは数カ月以内には死滅すると思われる。

Trichoderma はしばしば黄色の色素を分泌し、*Fusarium* は赤色や紫色の色素を分泌する。本サンプルの場合も、紫色の色素が標本の台紙に認められた。この汚染カビは、培養時の色素の色とは多少異なるが、*F. redolens* によると思われる。

2) 加害カビの起源について

検出されたカビは、いずれも土壌から分離される植物腐生菌である。*Fusarium* や *Penicillium* の各種は、植物の根系からも根系と無関係の土壌からも分離されている。

なお、*T. asperellum* や *T. atroviride* などのいずれの種も、好乾性カビ検出培地で緑色の胞子の塊を作らない株が認められた (Table 1)。また、被子器を形成する *Wellderkelle* は菌糸の生育は少なく、被子器も見られなかった。一方、*Penicillium* や *Fusarium* は共に胞子も形成した。ただ、菌糸の成長速度は、1/2PDA培地に比して非常に遅かった。検出されたカビは、多くが好湿性カビで貧栄養下でも生育する特性があるといえよう。さらに、いずれの種も室内環境から分離されないことから、水害によって野外環境から侵入したカビであると思われる。

保存した植物標本に生えるカビについては、これまでも多くの報告がある。そして、それらの汚染カビのほとんどが、好乾性カビだった。例えば、好乾性カビとして知られている *Eurotium herbarum* や *Cladosporium herbarium* の学名は、植物のさく葉標本から分離されたことに由来する（濱田・山崎，2009）。この原因は、標本の収蔵庫などの湿度管理などが適切に行われない場合に発生する事故である。収蔵室の一部で結露が発生し、その少量の水分を利用する好乾性カビが発生すると考えられる（浜田・佐久間，2018）。

今回分離されたカビには、好乾性カビが全く含まれなかった。ゆえに、被害を受ける以前に、好乾性カビによる被害はなかったと言えるし、浸水後にも、好乾性カビによる被害がなかったことを意味する。ゆえに、汚染しているカビは、浸水した汚染水由来のカビであるといえよう。

3) 水損植物標本カビ被害への初期対処への提言

文書など紙資料については洪水被害への対処例も多く、淡水の泥水と津波による塩水の被害とでの比較事例がいくつかみられる。東日本大震災の釜石市の場合には、津波被害で海水が付着した場合は、海水の影響でカビ発生割合が低かった（青木，2013）。同様の事例は赤沼（2012）も指摘している。Higashijima et al. (2012) は実験的に塩水によるカビの抑制を確認している。同様の傾向は植物標本でも見られた（久米田ほか，2015）。また、津波被害標本では比較的耐塩性である *Penicillium* が最も多かった。今回、淡水の泥水により水損した植物標本はカビ相も全く異なり、救出と搬送までの間の高温多湿な条件もあり、カビの被害が広がった。淡水による水損では津波被害より初期対応が重要なことが示唆される。

東日本大震災では、三菱化学の提供による酸素吸収剤 RP 剤と、酸素遮断が可能な密閉袋「エスカル」に文化財資料や剥製などを封入してカビの進行を止めたほか、布団圧縮袋に入れて空気を脱気し一時的に封印する対処も行われた（松井ほか，2012；熊谷ほか，2013；青木，2013）。また、植物標本では発送前にカビ被害発生部位にエタノール噴霧も行われ、85℃と通常の標本乾燥より高温での対処も行われた（津波により被災した文化財の保存修復技術の構築と専門機関の連携に関するプロジェクト実行委員会，2014）。

今回は、コロナ禍の中での対応でもあり、回収及び発送作業を限られた人員で対処せざるを得ず、十分な初期対応ができなかった。しかし、上記の東日本大震災での対応を参考にすると、ビニール袋に封入するだけよりは衣類圧縮袋と電動ポンプ、吸水紙を用いた乾燥を兼ねたカビ対策をしながらの移送、あるいは RP 剤とエスカルによる酸素を遮断した袋による対策が効果的だったかもしれない。いずれも、事前の備蓄が重要になる。配送の遅れには冷凍庫の確保の問題があった。冷凍庫は植物標本や紙資料の一時保管に有効な手段であり、カビ被害の進行も一時的に止められる。こうした事前の体制と適切な対応により、カビ被害は最小限にとどめられる。

今回85℃乾燥後も一定の胞子の生存は確認された。一方で、発生したカビは強い湿潤条件に依存した菌であった。このことから、高温での乾燥よりも、なるべく多くの標本を、少しでも素早く乾燥状態に持ち込むことが、より重要ではないかと考えられる。乾燥状態を長期間保つことによって、生き残っている胞子も発芽することができずに死滅する。乾燥がしっかり施され、適切な保管によって乾燥状態を維持すれば、標本上にカビの痕跡があっても、再発生、拡大することを憂慮する必要はないだろう。

以上より、水損植物標本の対処にあたっては1) 速やかな空気遮断または冷凍庫への移送 2) 乾燥にあたっては高温よりも速やかな乾燥状態への移行と乾燥状態の維持を優先することを提言する。

謝辞

本研究は、熊本県人吉城歴史館所蔵前原勘次郎植物標本安定化処理の一環として行われた。つまり、水害を受けた貴重な標本を未来に残すボランティアによる復元作業の一部である。今後の標本再生作業に役立つデータを得ることを目的とした。復元作業の合間に採取にご協力いただいた方々を含め事業に協力いただいたすべての方に感謝したい。また、一部 JSPS 科研費（JP19K21658）の支援を受けて行われた。

引用文献

- 赤沼英男 2012. 岩手県立博物館における文化財レスキューの現状と課題—陸前高田市救出資料を中心に. 被災地の博物館に聞く 東日本大震災と歴史・文化資料 (国立歴史民俗博物館編 吉川弘文館): 10-59.
- 青木 睦 2013. 東日本大震災における被災文書の救助・復旧活動 (特集 災害とアーカイブズ) 国文学研究資料館紀要 アーカイブズ研究篇 9:3-42.
- 浜田信夫 2014. 世界の文化財とカビ 環境管理技術 32: 27-36.
- 浜田信夫・阿部仁一郎 2017. 管楽器におけるカビ汚染の現状. 日本防菌防黴学会誌 45:345-351.
- 浜田信夫・佐久間大輔 2018. 自然史博物館の収蔵庫と展示室における落下カビ調査. 大阪市立自然史博物館研究報告 72:161-166.
- 濱田信夫・山崎一夫 2009. 本の虫と本のカビ. 生活衛生 53:57-63.
- Kubicek, C. P. and Harman, G. E. (eds.) 1998. *Trichoderma and Gliocladium* vol.1. Taylor and Francis Ltd. London.
- 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 2012. 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.
- Higashijima, K., Hori, B., Igarashi, K., Enomae, T. and Isogai, A. 2012. First aid for flood-damaged paper using saltwater: The inhibiting effect of saltwater on mold growth. *Studies in Conservation* 57:164-171.
- 熊谷 賢・岩見恭子・山崎剛史・富岡直人 2013. 陸前高田市立博物館における剥製・動物遺存体資料の救出・安定化作業と課題. 半田山地理考古 1:91-101.
- 久米田裕子・坂田淳子・高鳥浩介・木川りか・佐藤嘉則・佐久間大輔 2015. 津波による被災植物標本のカビ被害調査. 保存科学 54:75-82.
- 松井 章・渡辺文彦・田中康成・金田明大・降幡順子・山本祥隆・田代亜紀子・高妻洋成 2012. 奈良文化財研究所における「文化財レスキュー事業」に関する記録. 東北地方太平洋沖地震被災文化財等救援委員会平成23年度報告書 (東北地方太平洋沖地震被災文化財等救援委員会事務局編 独立行政法人国立文化財機構). 96-106.
- Nishida, H., Yokoyama, J., Wagstaff, J. S. and Callomon, P. (eds.) 2017. Disaster and Biodiversity. *Biology International Special Issue* 36. IUBS.
- Spande, H. 2009. Conservation Legacies of the Florence Flood of 1966: Proceedings of the Symposium Commemorating the 40th Anniversary. *Archetype*, 184pp.
- 内田優花・佐野千絵・赤沼英男 2017. 津波被災紙資料における ATP + AMP 拭き取り検査の活用. 保存科学 56:113-130.
- 津波により被災した文化財の保存修復技術の構築と専門機関の連携に関するプロジェクト実行委員会 2014. 安定化処理: 大津波被災文化財保存修復技術連携プロジェクト.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR protocols: A guide to methods and applications (Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., White, T. J., eds), pp.315-322, Academic Press, California.