

博物館所蔵菌類標本へのカビ汚染についてのリアルタイムPCRによる追跡

浜田信夫¹・田口淳二²・佐久間大輔¹

Trace of fungal contamination on specimens of mushrooms stored in museum by real-time PCR

Nobuo HAMADA¹, Junji TAGUCHI², Daisuke SAKUMA¹

Abstract: Fungal contamination on dried mushroom specimens in the museum were tested. Alive fungal spores were not found in specimens examined, but DNA of dead fungal spores was often found in them. We elucidated when this fungal contamination had occurred. Spores of dead common xerophilic fungi, *Aspergillus penicillioides* and *Eurotium* sp. in each dry specimen of *Amanita* was measured by real-time PCR. Trace of fungal contamination was found in many specimens examined. A large variation of spore counts was recognized among specimens in logarithmic scale, and *A. penicillioides* was predominant. Thus, the propagation of fungi was thought to occur after collecting specimen, for example drying sample of mushrooms, and storage of specimens. Because fungal contamination occurred regardless stored period of specimens in the museum, a lot of this contamination in specimens seems to occur before storage in the museum according to dampness in surrounding environments.

抄録: 博物館の乾燥菌類標本のカビ汚染について調査を行ったところ、カビはDNAとして検出されるが、現在生存していないことが明らかになった。そこで、過去に採集、乾燥、標本の作製、保存のどの段階で、どの程度カビ汚染が起きたかについて、博物館に収蔵されている *Amanita* 属36標本のカサの部分を用いて検証した。手法としては、2種のカビの作成したプライマーを用いて、各検体のカビ数をリアルタイムPCRで測定し、その孢子数を調査した。得られた結果は次の通りであった。①両種の孢子数は標本ごとに桁違いのバラツキがあった。②検出された *A. penicillioides* の孢子数は、標本の乾重量100 mg 当たり平均約1000個、*Eurotium* sp. は約7個であった。③結果は、採集時からの様々な過程で、湿り気が発生し、標本上にカビが一時的に発生したことを示唆している。なお、産出された孢子数は標本の古さ、あるいは目視でのカビの有無とは関係ないので、保存前の段階で汚染がしばしば起きたと推測される。

Key words: *Aspergillus penicillioides*, conservation science, natural history specimen, herbarium, mushroom collection, real-time PCR

はじめに

菌類標本は、他の植物や動物、さらに昆虫標本と同様に、分類学上の外部形態や顕微鏡的な特徴を確認するため、その研究材料として保管されてきた。これらの特徴にダメージを与える有害生物としてカビ類やシバンムシなどが挙げられる。そのため、防虫管理及び防カビ管理が保存科学上の重要課題とされ、温湿度管理や燻蒸がなされてきた。近年では標本資料を利用した系統解析研究などのためDNA採取が行われるようになった(保坂, 2014)。すると、外見上問題がないように見えた標本からも *Aspergillus penicillioides* (Section, *Restricti*) などのカビのDNAが多数検出される事態がしばしば生じた。例えばDNA Barcoding などでは、動物、植物試料などをターゲットとしたユニバーサルプライマーを用いた場合にはカビ汚染は問題にならない

※大阪市立自然史博物館業績第511号 (2023年1月17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, 1-23 Nagai-Park, Higashiumiyoshi-ku, Osaka 546-0034, Japan

Corresponding author: M. Takahashi (email: m.takahashi@wish.ocn.ne.jp)

² (株)ダスキン・開発研究所 〒546-0034 大阪府吹田市南吹田4-19-5

Duskin Co., Research Center, 4-19-5 Minami-Suita, Suita, Osaka Pref. 564-0043, Japan

Corresponding author: N. Hamada (e-mail: mxio0715@nifty.com)

が、菌類を対象としたBarcodingは通常きのこ・カビ共通のプライマーを用いるため、カビDNAの汚染は大きな問題になる。

大阪市立自然史博物館では熱風乾燥標本は通常50℃の温風下に72時間程度さらすことで作成している。また、凍結乾燥標本は冷凍処理の後に、真空下で1日程度かけて徐々に加温しながら、最終的に70℃の加熱を48時間以上行っている。しかし、こうした条件でも、たとえば肉厚なものや高分子成分を多く含むものには乾きにくいものもある。乾燥後も吸湿性がよいものがあり、適切な管理を怠るとカビ汚染の危険性をはらんでいる。従来の形態学的な利用には問題がなくても、DNA利用のために優良な保存標本を残すには、更に厳格な微生物汚染を予防、あるいは有効な保存法の確立が不可欠である。

著者らは、まずはそれらの前提として博物館に保存されている菌類標本についてカビ汚染の実態を調査した。現在標本に生きたカビの胞子が付着しているか否かだけでなく、どの程度過去にカビ汚染が発生し、採集から、乾燥段階、標本の作製、保存のどの段階でカビ汚染が起きたかを知るため、リアルタイムPCR法を用いて、カビ汚染の痕跡を調べた。これまでの研究で検出されているように、保存状態がよければ、標本だけでなく、死滅したカビ胞子も長期間残存すると考えた。菌類標本上に付着している過去のカビ汚染の履歴である胞子由来のDNA量を調査し、その汚染の時期や原因の解明を試みるとともに、その予防策を検討した。

リアルタイムPCR法は、近年、遺伝子発現解析の他に、新型コロナウイルスや遺伝子組み換え食品の検査、遺伝子発現解析など様々な用途に利用され、病原菌の検出など微生物の定量解析にも応用されている（例えば、上，2001；有賀，2007など）。本報もこの簡便で迅速な測定特性をもつ方法を用いた。リアルタイムPCR測定装置は、サーマルサイクラーと分光蛍光光度計を一体化したものであり、サーマルサイクラーでDNAをPCR増幅しつつ、分光蛍光光度計でその増幅産物をモニタリングする装置である。

測定対象としたのは、きのこの標本に付着した次の2種の好乾性のカビ *A. penicillioides* とカワキコウジカビ属の1種 (*Eurotium* sp.) である。これらのカビはともに、水分活性 (Aw) が0.80未満の場合によく成長する (川上・杉山，2009)。ともに、日常生活において高浸透圧の食品によく見かけるカビである。生鮮食品ではなく、干し芋や干し柿などの保存食品によく生える。さらに、文化財でも木造の仏像や古文書などに優占していることが知られている (浜田，2014)。きのこ標本にも前述のように、十分乾燥しない場合や再吸湿した場合、あるいは保存環境中に結露が発生した場合などに、これらの好乾性カビが発生するリスクがある。なお、これらの好乾性カビは植物や昆虫などの保存標本にもごく普通に検出されるカビである (浜田，未発表)。

上記のようなこれまでのカビ汚染が、カビによる分解など直接的な劣化を問題にしていることに対し、今回の報告ではDNAコンタミによる汚染という、新技術の確立に伴う新たな問題を取り扱っている。すでに死んで表面的にはコロニーも見られないような状況でもDNAコンタミは生じるからである。

本報告は、カビ胞子のDNA量を測定することで、過去の死滅したカビの履歴も検討することを目的としたが、リアルタイムPCR法によって、劣化しつつあるきのこに侵入したカビの遺伝子を区別して、同定・定量する方法が未だ確立されていないわけではない。そこで、考察ではその手法や、検出されたカビの胞子数に関するデータの妥当性についても吟味した。

材料と方法

実験材料と測定対象

実験材料は、様々な経路を経て自然史博物館に収蔵されている、テングタケ (*Amanita*) 属の乾燥標本36点である。その子実体のカサの部分について、好乾性カビ *A. penicillioides*, *Eurotium* sp. の有無を調べた。なお、*Eurotium* sp. の種同定は行わなかった。

生菌数 (CFU) の測定

標本の一部 (約100mg) を用いて水で懸濁して、生きたカビがいるか否かを調べるために、培養実験を試みた。通常のPDA培地と、好乾性カビの分離に用いる高浸透圧培地であるDG18培地に抽出液を接種してカビ胞子の検出を試みた。

Table 1. List of samples of mushrooms and fungi for specific-primers test.

sample#	Name	Japanese name	Source
1	<i>Amanita</i> sp.	ニセコタマゴテングタケ (仮称)	Dried
2	<i>Leucoagaricus rubrotinctus</i>	アカキツネガサ	Dried
3	<i>Chlorophyllum molybdites</i>	オオシロカラカサタケ	Dried
4	<i>Aspergillus restrictus</i>		Cultured
5	<i>Eurotium</i> sp.	カワキコウジカビ	Cultured
6	<i>Aspergillus niger</i>	クロコウジカビ	Cultured
7	<i>Cladosporium cladosporioides</i>		Cultured
8	<i>Penicillium chrysogenum</i>		Cultured
9	<i>Aspergillus penicillioides</i>		Cultured
10	<i>Eurotium</i> sp.(same with #5)	カワキコウジカビ	Cultured

Samples of mushrooms were dried within 1day after collection, and measured within a week.
Each sample number is corresponding to that of Fig. 2.

リアルタイムPCRによるカビDNA量の測定と孢子数の定量

生菌数を調査した標本と同一サンプルからDNA抽出をするとともに、DNA量から推定される2種の死滅したカビの孢子数の定量を試みた。

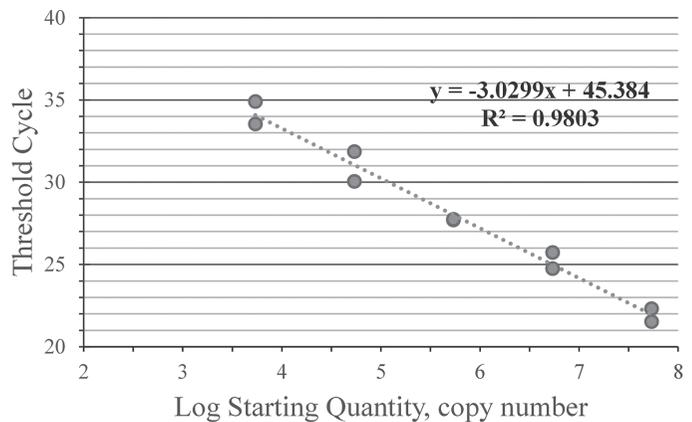
1. 検出用プライマーの設計

A. penicillioides, *Eurotium* sp. をそれぞれ特異的に検出できるプライマーとして、28SrRNA領域のライブラリーを検討の上、次のように設計した。ApeniLf3: 5'-GTATCGTCCTCCGGGACGTC-3', ApeniLr2: 5'-GGGTC-GTTTGCAACCATTACGC-3', Euro28Sf1: 5'-CGGCTTTCGGGCCGGTGTAC-3', Euro28Sr1: 5'-GACACCCCTGG-CTATAAGGCGC-3'。このプライマーの種特異的な反応を確認するため、Table 1に示す3種のきのこおよび6種のカビの菌体を用いて検証を行った。DNAが抽出され、ITS1領域が増幅していることを2%アガロースゲル上で確認したのち、上記の*A. penicillioides*と*Eurotium* sp.の特異的増幅プライマーを用いて、前述のきのこやカビの菌体についてPCRを試みた。

2. DNA量による定量のための検量線の作成

1ml当たりの生孢子数(CFU)が分かっている菌液からDNAを抽出し、DNA量をバイオ・ラッド社のMyiQ2を用いて測定した。

まず*A. penicillioides*: 8.8×10^6 個/ml, *Eurotium* sp.: 1.0×10^6 個/mlの孢子懸濁液を作成し、遠沈管に対象の菌液を入れ4℃ 9000r.p.m 15分遠心にてカビを回収後、市販DNAキットにてカビの懸濁液1ml当たりのDNAを抽出した。各々5倍希釈系列を作成し、1.で作成したプライマーを用いて増幅し、インターカレータ法にて検量線が作成されていることを確認した(Fig. 1)。

Fig.1. Standard curve for measuring DNA of *A. penicillioides*.

3. 検体のカビ汚染量の推定

標本の一部(100mg)から水抽出により回収された懸濁液から5mlを遠沈管に移し、4℃ 9000r.p.m 15分間



Fig. 2. DNA band amplified by primer of *A. penicillioides* (upper) and *Eurotium* sp. (lower). Each sample number is corresponding to that of Table 1; M: marker.

遠心後上澄みを除去し、残った菌液から市販キットにてDNAを抽出した。検量線作成時と同様の手法で各検体の5ml当たりのカビ数をリアルタイムPCRで測定し、1ml当たりの孢子数に換算した。さらに、乾燥した標本のカサ100mg当たりに含まれる孢子数として示した。

なお、由来の異なるサンプル群を比較する目的で、孢子数の対数平均を求めた。この場合は各々の孢子の値に1を加えた後、対数に換算して平均及び標準誤差を求めた。各表中で、要因ごとに孢子の対数平均及び標準誤差を示した。分かり易くするため、得られた平均値は常数でも示した。

結果

1. 生きたカビの検出

各サンプル標本から分離培養を試みたが、PDA培地、DG18培地共に、生きたカビは全く検出できなかった。これは、Table 2でカビのDNAが大量に検出された標本でも同様であった。また、目視で観察を行ったが、いずれの標本上にもカビ汚染は見つからなかった。

2. 種特異的プライマーの妥当性

実験に用いた2種のカビの種特異的なプライマーを用いたPCRでは、調べた3種のきのこ標本とも増幅産物は得られなかった (Fig. 2, Table 1)。ただ、いくつかのカビでは、断片長の類似したものや異なる増幅産物が得られた。たとえば、*A. penicillioides*のプライマーは、他の2種の*Aspergillus*属のカビでは増幅は見られなかったが、7の*Cladosporium*と8の*Penicillium*では、類似した位置に増幅したバンドが見られた。なお、4の*A. restrictus*は好乾性カビの希少種であるが、このカビでは増幅されていないこともわかった。次に、*Eurotium* sp.のプライマーは、*A. penicillioides*では類似した位置のバンドで増幅産物が見られなかったが、4や6-8のカビでは増幅が認められた。

Table 2. Distribution of dead fungal spores belonging each category in stored specimens of mushroom.

Range of spore number per 100mg	<i>A. penicillioides</i>	<i>Eurotium</i> sp.
10000-	0	0
1000-9999	20	1
100-999	14	5
10-99	1	3
1-9	1	21
0	0	6
	36	36
avg±s.e.(log)	3.00±0.12	0.85±0.16
average	1006.4	7.0

Fungal spores were calculated as cfu per 100mg of fragment of fruit body.

Sample numbers in the table are counts of samples for each fungal spore range.

Note: Average spore number of all kind of alive fungi in 100mg house dust is 3.79 ± 0.04 in logarithmic scale, and 6152.2 in natural number.

3. 死滅カビの孢子数の推定

次に、2種の好乾性カビの特異的なプライマーにより、各テングタケ標本のカサのサンプルから両種のものと思われるDNAが検出された。これらは1.の結果を踏まえて、すでに死滅したカビ由来のものと判断した。各サンプルが含有する2種のカビ孢子の推定数の分布をTable 2に示した。

Eurotium sp. については、ごく限られた標本から検出されたのに対して、*A.*

penicillioides は多数の標本から検出された。胞子数に換算すると、*A. penicillioides* については、最大で9788.1個/100mgで、1000-9999個/100mgの胞子数の標本が最も多かった。一方、*Eurotium* sp. では、最大で7520.1個/100mgで、1-9個/100mgのごく少数の胞子数の標本が最も多かった。胞子数が100個/100mg以上の標本は、*A. penicillioides* は34/36 (92%) に対して、*Eurotium* sp. はわずか6/36 (16%) であった。なお、それぞれの胞子数の平均は、*A. penicillioides* は1006.4個/100mgで、*Eurotium* sp. の7.0個/100mgに比して100倍以上だった。「*A. penicillioides* の死滅した胞子数」の平均値は、室内塵中の平均生胞子数に比して、約 1/6 であった (Table2, 浜田・岩前, 2018)。

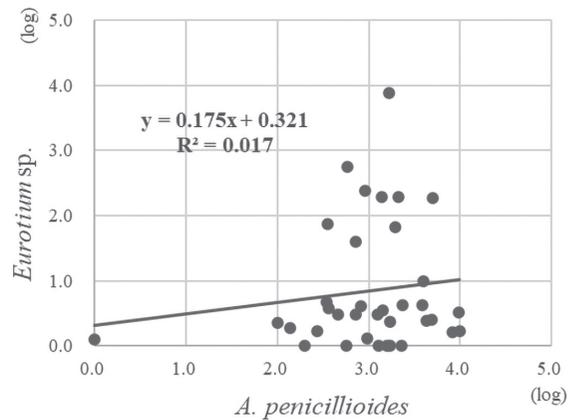


Fig. 3. Relationship of dead fungal spores of *A. penicillioides* and *Eurotium* sp.

汚染要因の解明

A. penicillioides と *Eurotium* sp. の2種のカビの生育条件が一致しているか否かを確認するために、各標本の両種の胞子数の相関を調べた (Fig. 3)。2種の胞子数の間に相関は認められなかった。

次に、採集年代別に3グループに区分して、胞子数の平均を比較した (Table 3)。供試標本は最も古いもので1969年採集と50年以上の経過したものだったが、*A. penicillioides* も *Eurotium* sp. も共に、その胞子数に年代ごとに一定の傾向は見られず、有意の差は認められなかった。

博物館標本には、菌類観察会などでの採集後、博物館員らが収集し、収蔵した「採集標本」(表中Original)と、個人によって作成・保存され、後に博物館に移管された「移管標本」(同Gifted)がある。両者の標本の胞子数を比較すると、両種ともに移管標本の方が胞子数の多い傾向が見られた (Table 4)。すなわち、移管標本の *A. penicillioides* の胞子数の平均は1339.3個/100mgで、採集標本の約1.8倍、*Eurotium* sp. については、移管標本では13.4個/100mgで、採集標本の約3.6倍と有意の差が見られた。

Table 3. Comparison of dead fungal spores among specimens stored during different periods.

Collected year	sample number		<i>A. penicillioides</i>	<i>Eurotium</i> sp.
1960-1979	11	avg±s.e.(log)	2.96±0.14	0.78±0.28
		average	916.6	6.0
1980-1999	14	avg±s.e.(log)	2.95±0.25	1.00±0.26
		average	891.4	9.9
2000-	11	avg±s.e.(log)	3.11±0.19	0.72±0.32
		average	1289.3	5.2

Fungal spores were calculated as cfu per 100mg of fragment of fruit body.

Table 4. Comparison of dead fungal spores between specimens collected originally and ones gifted.

Specimen	sample number		<i>A. penicillioides</i>	<i>Eurotium</i> sp.
Original	18	avg±s.e.(log)	2.88±0.21	0.57±0.20
		average	756.2	3.7
Gifted	18	avg±s.e.(log)	3.13±0.11	1.13±0.24
		average	1339.3	13.4*

Fungal spores were calculated as cfu per 100mg of fragment of fruit body.

The asterisk denotes a significantly elevated value.

考察

1. リアルタイムPCRによる測定の妥当性

過去の研究例から、リアルタイムPCRは特定の sequence を定量できる。今回のように標本のカビ汚染を対象とした遺伝子解析では好乾性カビの痕跡DNAが、資料であるきのこ実体のDNAと混在している状況ではあるが、プライマーの選択によってカビだけのDNAが測定できた。また、本報で使用したプライマーは供試テストの結果からも、全般に一般的な複数のカビが同時に生えていても特異的に区別して定量できる良好な成績を示したと言えるだろう。

ただ、*A. penicillioides* 検査用のプライマーによる測定では、一般的な好湿性の *Penicillium* や *Cladosporium* で断片長の比較的近い増殖産物が得られ、区別できない可能性があることが分かった (Fig. 2)。しかし、好湿性のカビが、乾燥状態の標本中で発生する可能性は低いと思われる。一方、*Eurotium* sp. のプライマーでは近い増殖産物がいくつかのカビで得られたケースもあり、過剰な検出値になっている可能性について、今後さらなる検証が必要だろう。しかし、Fig. 3のように、測定された2種の好乾性カビの痕跡DNA量が相関しないことから、これら2種のプライマー間での判別はなされており、互いの結果に影響していないことが示された。電気泳動での視覚的な断片長にくらべ、機器の検出精度は十分高く、他のカビの検出可能性は低いと思われる。なお、ブランクサンプルとして水を用いたが、推定孢子数が100程度となったケースがあったので、推定値が小さい場合の検出精度は十分ではない可能性がある。

2. きのこと標本のカビ汚染—観察とDNAのギャップ—

きのこは元来水分含量が多く、野外ではすみやかに小動物の摂食を受け、細菌やカビによる腐食を受けやすい (佐久間, 2019)。標本作成は植物や昆虫に比べても作成にも管理にも手間がかかる。現在当館が所蔵する本郷次雄コレクションも大学内、更に自宅で保存していた間に虫害に見舞われ、パラホルムアルデヒドを用いている (佐久間, 2019)。こうした虫害の発生する環境であれば、好乾性カビの生える Aw 以下の0.60にまで乾燥を持続させていたと期待することは難しい。実際に、標本によって2種の孢子数が指数関数的に異なるのは (Table 2)、カビ汚染が生体標本に均一に付着したのではなく、標本化後に内部で繁殖した何よりの証拠と言えよう。

古い標本内のDNAは時間とともに劣化し、断片化していく (Hosaka & Uno, 2013)。これまで、佐久間は本郷コレクションの古い標本からDNAを抽出しようとしたところ、きのこのDNAは抽出できず、*A. penicillioides* のDNAばかりが大量に検出されるという経験を何度もした (未発表)。本報の結果は、きのこDNAのパラホルムアルデヒドによる断片化の促進後、あるいはきのこのDNA劣化後にカビが繁殖し、きのこのDNA量に比べてカビのDNA量が事後的に過剰になった状況を推測させる。

こうした標本も顕微鏡での孢子や担子器の確認には特に問題がない。もちろん過剰なカビの繁殖は酵素による生物劣化により組織観察を難しくすると思われるが、カビDNAが検出されても特にカビを観察することはできない。一時的な加湿状態により標本上に発生した *A. penicillioides* も *Eurotium* sp. も、基質が再び十分に乾燥して、その状態が長く続くと、そのコロニーは菌糸の部分がまず分解して消失し、孢子のみが生きたまま残る。そして、さらにそれらの孢子も数カ月の乾燥によって死滅すると思われる。付着したカビのDNAには、こうした脱落したものも含まれるだろう。観察とDNA利用のギャップにはこうした側面もある。なお、数十年前に増殖したカビは、きのこと同様に断片化が進むと思われ、この面では過小評価につながる。このような問題は、今後の課題と言えよう。

3. カビ汚染はいつ、どこで発生したか

採集時からの様々な過程で、繰り返し湿気の多い状態が発生し、一時的なカビの発生が、多くの標本で起きた可能性がある。しかし、汚染の多さは標本の古さ (= 保存期間の長さ) とは関係がない (Table 3)、保存場所によらず起きるのではなく、保存環境や作成手法などによる様々な要因が影響していることが推測される。

標本の作成手法の問題もある。近年、博物館だけでなく、アマチュアの間でも標本化にはディハイドレー

ター（ドライフルーツなどを作る市販の家電）を、きのこの乾燥に使用しているという（保坂，2014；佐久間，2019）。しかし、標本作成は1990年代以前には温室用のひよこ電球（上田，1985）や、古くは火鉢などの利用が一般的で、2000年代頃に小型温風ヒータの利用（佐久間，1997）と変遷してきた。こうした古い手法は送風量が不十分で、乾燥が十分かどうかが問題である。とりわけ、好乾性カビはAwが0.65でも生えてくる。大型や肉厚のきのこでは加熱による乾燥はきのこの内部が生煮えになる可能性があり、十分な乾燥がなされないことが予想され、こうした場合少量の残留水分で好乾性カビが生えることに留意する必要がある。同様の問題は手法が比較的新しく、標本作成条件の検討が不十分な凍結乾燥標本でも起こり得る。凍結乾燥で作られた試料の中にも孢子数の多いものが見られたことから、今後の検討が必要である。

次に、問題は標本収蔵庫の環境である。既報（浜田・佐久間，2018）で、当自然史博物館の収蔵庫と大阪府内の国宝などを収蔵している寺社の収蔵庫について、空中浮遊カビ相を比較した。その結果、同じように空調が完備されていても、管理状況や建物によって、実際の内部の環境は大きく異なることが分かった。寺社の収蔵庫では、温湿度の維持が不完全で、冬季に結露が発生するために、顕著な落下孢子の増加が見られたが、一年を通して空調が安定的に維持されている当博物館の収蔵庫では落下孢子はほとんど見られなかった。また、収蔵庫の大きさは内部の環境の恒常性に影響を与えるので、間仕切りのない大きな収蔵庫ほど収蔵庫全体の湿度状態などが安定し、標本を乾燥環境におくことにより、庫内に侵入したカビ孢子も標本に付着する以前に死滅することが示唆された。

これに比し、断熱などの不十分な個人宅での保管や、大学の研究室に一時的に収蔵された後に移管されたきのこ標本は、過去に温度変化に伴う結露などにより、繰り返し短期的な吸湿と乾燥を繰り返す中で、好乾性カビが発生した可能性が高いと言えよう。傍証として、標本上のカビでは*A. penicillioides*が優占した。これまでの住環境のデータから見ても、2種類の好乾性カビは、その水分活性に大きな違いはないと思われる。ただ、その生育条件が同一でないことも確かだ（Fig. 3）。また一般の住環境において*Eurotium* sp. は少数派で、*A. penicillioides*ほど優占しているわけではない（濱田，1997）。個人宅での保存期間が長い標本では、このような汚染源の多少は影響するだろう。標本、特に凍結乾燥標本は館内外の空間で長期間展示されることがある。こうした環境での虫害だけでなく吸湿とカビ害についても十分な配慮が必要なことを再確認しておきたい。

以上、現在試料上で生菌が検出されず、カビの伸長による試料の劣化が進行していないこと、収蔵庫内での孢子検出がないことなどから、保存期間中ではなく、作成過程、あるいは博物館収蔵以前でのカビ発生、展示など収蔵庫外での吸湿とカビ発生などが、収蔵されているきのこ標本に対するカビDNAコンタミに大きく影響していることが示唆された。

環境中のカビについては、湿った環境が数日間継続すると、いくつかのカビは、発芽し、菌糸が成長し、孢子を形成する。ただ、環境中の水分が消失すると、成長は途中で停止するし、孢子を形成しても、水分のない状態が続くとカビは死滅し、孢子も失活する。そして、再び環境が湿ると、浮遊孢子から感染してカビ汚染が発生する。標本に認められた汚染カビも、このような栄枯盛衰を繰り返していたと考えられる。故に、標本に蓄積された死滅したカビの遺伝子は、これまでの標本の来歴の証言者といえよう。

謝辞

本報告に先立ち今村彰生博士、菊池淳一博士、脇村圭氏、乾美浪氏らとの共同研究により菌類標本から*A. penicillioides*が検出されたことが本研究の出発点になった。記して感謝したい。また本研究の一部はJSPS科研費19K21658の成果である。

文献

- 新井英夫 1974. 文化財の生物劣化. 防菌防霉 2: 107-114.
有賀博文 2007. リアルタイム定量 PCR 法の原理と活用. 日本水産学会誌 73 (2): 292-295.
濱田信夫 1997. 菌類の採集・検出と分離：浮遊カビ（空中真菌）の採集・検出と分離. 日菌報 38: 177-183.

- 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・岩前 篤 2018. 室内塵の高温性カビ汚染の傾向. 日本防菌防黴誌46: 395-400.
- 浜田信夫・馬場 孝・佐久間大輔 2022. 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. 大阪市立自然史博物館研究報告 75: 29-34.
- 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.
- 保坂健太郎 2014. 菌類（特にきのこ類）の採集と標本作成及びその利用方法. 分類 14: 193-202.
- Hosaka, K. and Uno, K. 2013. Assessment of the DNA quality in mushroom specimens: a recovery of the whole ITS sequence from fragmented DNA of the type specimens. Bulletin of the National Museum of Nature and Science, series B (Botany) 39: 53-60.
- 上 昌広 2001. 深在性アスペルギルス症の非侵襲的診断方法. 日本医真菌学会雑誌42 (4): 181-188.
- 川上裕司・杉山真紀子 2009. 博物館・美術館の生物学. 雄山閣, 東京, 174pp.
- 佐久間大輔 1997. 番外 標本の作り方—キノコ—(1). Nature Study 43 (11): 3-6.
- 佐久間大輔 2019. きのこの教科書. 山と溪谷社, 東京, 186 pp.
- 上田俊穂 1985. 検索入門 きのこ図鑑. 保育社, 大阪, 223pp.