

〔報告〕 キトラ古墳の微生物調査報告（2012年～2013年） および2004年から2013年までの微生物調査結果概要

木川 りか・喜友名 朝彦*・立里 臨*・佐藤 嘉則
佐野 千絵・杉山 純多*²

1. はじめに

キトラ古墳においては、2002年に文化庁により調査のための覆い屋が建設され、2004年に石室の発掘が行われた。その後、壁画の取り外し・保護作業が進められ、2008年には目視で確認される範囲の側壁の絵画部分、また天井の星宿図の取り外し作業が完了した。2009年以降は、絵画部分の取り外し終了を受けて紫外線の間欠的照射により微生物対策が実施され、2010年には、余白漆喰についてもほぼ取り外しが終了し、2013年9月には石室の埋戻しが行われた。

本報告では、2012年から2013年にかけてキトラ古墳石室内、および盗掘口のステンレス板取り外しに伴い採取された試料の微生物分離結果をまず報告し、さらに2004年のキトラ古墳石室の発掘から2013年の埋戻しに至るまでの石室内やそれらに隣接する区域での微生物調査の結果、培養法や非培養法で検出された微生物種の推移について概括する。

2. 2012年から2013年のキトラ古墳の微生物調査結果

2-1. 2012年9月24日石室内採取サンプルの観察結果および微生物分離結果

2012年9月24日にキトラ古墳石室内からサンプリングされた試料一覧を表1および試料採取箇所を図1に示す。また、顕微鏡観察結果を表2および図2に、菌類分離結果を表3、細菌分離結果を表4に示す。なお、菌類および細菌の簡易同定はコロニー性状と細胞の形態的特徴に基づいて行い、グループ分けした。各微生物分離株から選抜した分離株については遺伝子解析による同定を別途実施している。石室内では、とくに目立ってカビの菌糸などが広がっているような箇所は見当たらなかったが、今回の試料は、石と石の接合面の隙間や、クレーター状のくぼみの中のほか、表面部分で着色などがめだった箇所などから主にゲル状物質のサンプリングを実施している（図1、図2、表2）。

採取された試料の顕微鏡観察結果では、とくに採取した時点で褐色を呈しているバイオフィルムには、褐色の菌類が多く含まれている状況が観察され、薄く黄色を呈しているバイオフィルムでも、部分的に暗色の菌類が含まれている傾向がみられた（図2）。

また分離結果であるが、*Penicillium paneum* や *Trichoderma* sp., *Paecilomyces* sp.などの菌類以外に、暗色系の菌類 *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) *tumulicola*, *Cladophialophora* sp., *Phialophora* sp.などが分離された（表3）。*Phialophora* sp.は2007年の調査以降、石室から分離されている（表9）¹⁻⁵⁾が、*Cladophialophora* sp.が初めて石室で分離されたのは、2010年であった⁴⁾（表9）。さらに、2011年10月に天井部から採取された1試料で *Exophiala* sp.が分離されていたが⁵⁾（表9）、2012年9月の調査でも *Exophiala* sp.が天井石の試料ひとつから分離さ

*（株）テクノスルガ・ラボ

*²（株）テクノスルガ・ラボ千葉分室

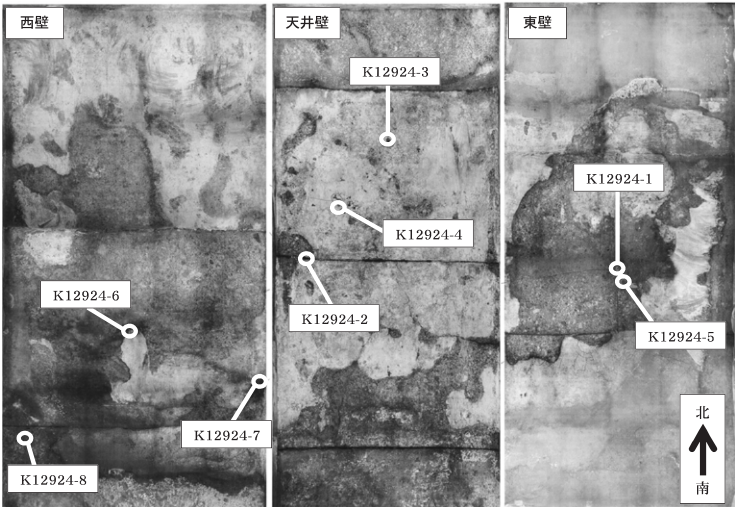


図1 キトラ古墳石室内（2012年9月24日調査）からの試料採取箇所（石室床面から見上げた壁画面展開図）

表1 キトラ古墳石室内（2012年9月24日調査）にて採取された試料一覧

試料No.	No.	採取箇所（記載事項）	試料の状態
K12924-1	①	キトラ古墳石室内 東壁中央すきま奥 120924	黄土色ゲル状塊（土壌）
K12924-2	②	キトラ古墳石室内 天井石中央西側すきま奥 120924	茶～黄土色ゲル状塊（土壌）
K12924-3	③	キトラ古墳石室内 天井石北側第2石中央付近クレター 120924	茶褐色ゲル状塊，黑色鉱物
K12924-4	④	キトラ古墳石室内 天井石中央付近西側クレター 120924	黒～茶褐色ゲル状塊（土壌等の混生体）
K12924-5	⑤	キトラ古墳石室内 東壁中央表面（①の右下） 120924	薄い黄土色～褐色ゲル状塊，黑色鉱物
K12924-6	⑥	キトラ古墳石室内 西壁中央南側中央白い糸状 120924	黄土色ゲル状
K12924-7	⑦	キトラ古墳石室内 西壁南側天井付近 120924	茶～黄土色ゲル状（土壌）
K12924-8	⑧	キトラ古墳石室内 西壁南側床付近白い粉状 120924	薄い黄土色ゲル状，黑色塊

表2 キトラ古墳石室内 (2012年9月24日調査; 試料 No. K12924) から採取した試料観察所見

試料No.	採取箇所 (記載事項)	顕微鏡観察所見	図番号
K12924-1	キトラ古墳石室内 東壁中央すきま奥 120924	試料は黄土色ゲル状塊。 細菌やカビ等の微生物の混生体 (バイオフィルム) (図2-1b), 特に暗色糸菌類 (黒褐色の分生子柄など) が多く (図2-1b, c, d), また, <i>Burgoa</i> 属の小型菌核 “黒粒” が認められる (図2-1e)。ダニ等の微小動物は認められない。	2-1
K12924-2	キトラ古墳石室内 天井石中央西側すきま奥 120924	試料は茶～黄土色ゲル状塊で, 土壌等を含む (図2-2a 白枠)。 細菌やカビ等の微生物の混生体 (バイオフィルム) (図2-2b, d), 特に暗色糸菌類の <i>Kendrickiella</i> 属の分生子柄 (図2-2b, c) やその他のアナモルフ菌類の分生子柄 (図2-2e) が多い。 ダニ等の微小動物は認められない。	2-2
K12924-3	キトラ古墳石室内 天井石北側第2石中央付近クレーター 120924	試料は茶褐色ゲル状塊で, 黒色鉱物を含む (図2-3a 白枠)。 細菌やカビ等の微生物の混生体 (バイオフィルム) (図2-3b, c), 特に暗色糸菌類の黒褐色の分生子柄 (図2-3e) や, <i>Glomastix</i> 型の分生子 (図2-3d) が多い。ダニ等の微小動物は認められない。	2-3
K12924-4	キトラ古墳石室内 天井石中央付近西側クレーター 120924	試料は黒～茶褐色ゲル状塊で, 土壌等を含む (図2-4白枠)。 細菌やカビ等の微生物の混生体 (バイオフィルム) (図2-4b), 特に他の試料に比べて, 暗色糸菌類が多く, 黒褐色の分生子柄 (図2-4b, c, d) や <i>Cladophialophora</i> 属の分生子 (図2-4e) が顕著である。ダニ等の微小動物は認められない。	2-4
K12924-5	キトラ古墳石室内 東壁中央表面 (1の右下) 120924	試料は薄い黄土色～褐色ゲル状塊で, 黒色鉱物状の塊を含む。 細菌やカビ等の微生物の混生体 (バイオフィルム) (図2-5b, c, d), 特に暗色糸菌類が多い。ダニ等の微小動物は認められない。	2-5
K12924-6	キトラ古墳石室内 西壁中央南側中央白い糸状 120924	試料は黄土色ゲル状。 細菌やカビ等の微生物の混生体 (バイオフィルム) (図2-6b, 暗色糸菌類が多く (図2-6d, e, f), 黒褐色の分生子柄基部に白色の漆喰碎片の塊が散見される。白色の漆喰碎片は針状結晶の集合体である (図2-6c)。ダニ等の微小動物は認められない。	2-6
K12924-7	キトラ古墳石室内 西壁南側天井付近 120924	試料は茶～黄土色ゲル状で, 土壌等を含む。 細菌やカビ等の微生物の混生体 (バイオフィルム) (図2-7b, c), 特に暗色糸菌類 (黒褐色の分生子柄など) が多く (図2-7b, c, d), また, <i>Burgoa</i> 属の小型菌核 “黒粒” が認められる (図2-7e)。ダニ等の微小動物は認められない。	2-7
K12924-8	キトラ古墳石室内 西壁南側床付近白い粉状 120924	試料は薄い黄土色ゲル状～黒色塊。 細菌やカビ等の微生物の混生体 (バイオフィルム (図2-8b)), 特に暗色糸菌類の黒褐色の分生子 (図2-8d) などが多く, また, <i>Burgoa</i> 属の小型菌核 “黒粒” に類した構造が認められる (図2-8c)。他の試料では認められない, 無色で球形～亜球形の細胞が1～数個ずつ不定形の袋状構造 (莢膜?) の中に形成される細胞が認められる (図2-8e)。ダニ等の微小動物は認められない。	2-8

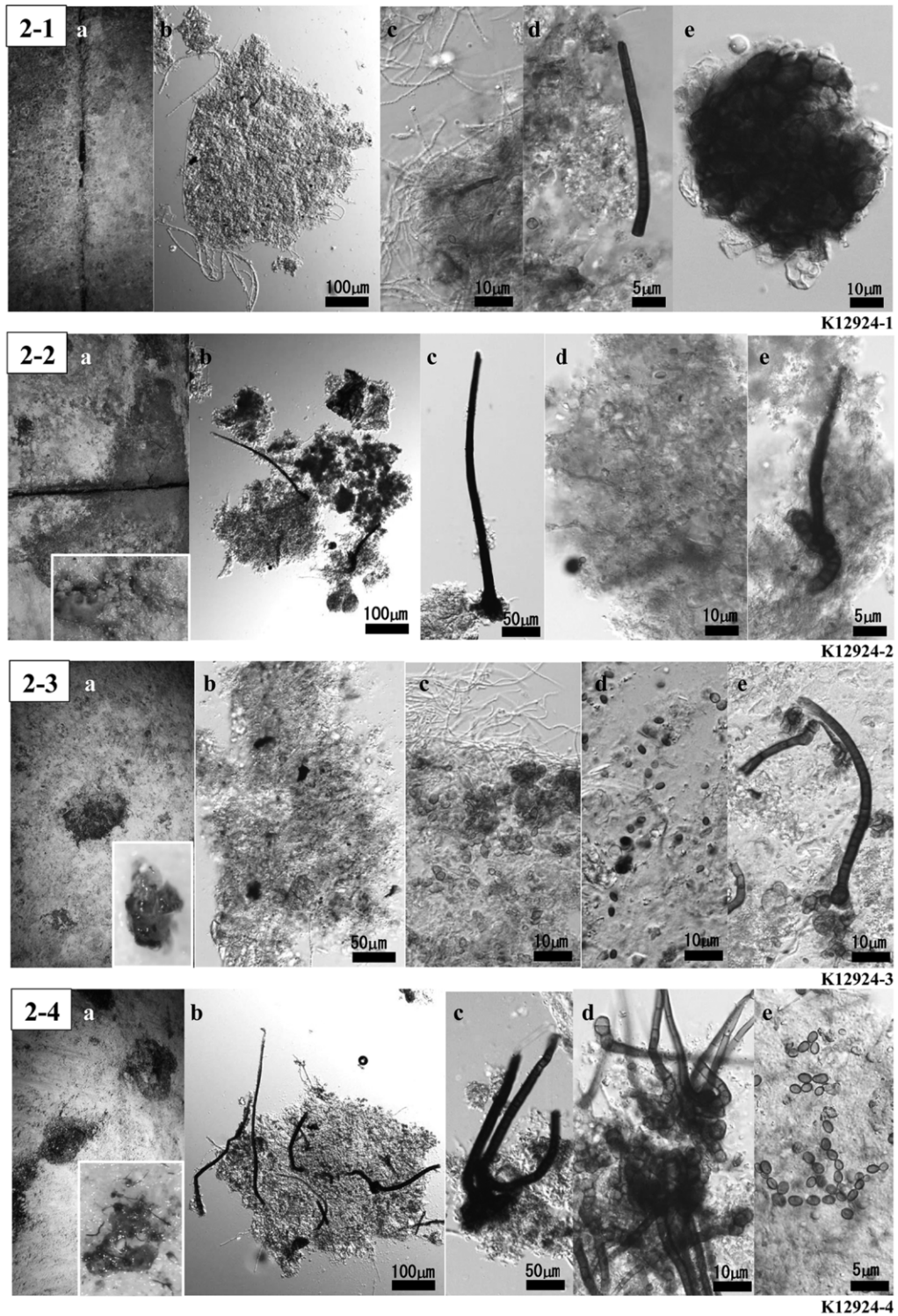


図2 キトラ古墳石室内 (2012年9月24日調査) から採取した試料の採取箇所の拡大像 (各図の a) および光学顕微鏡観察像 (各図の b-f) (各試料の観察所見は表2を参照)

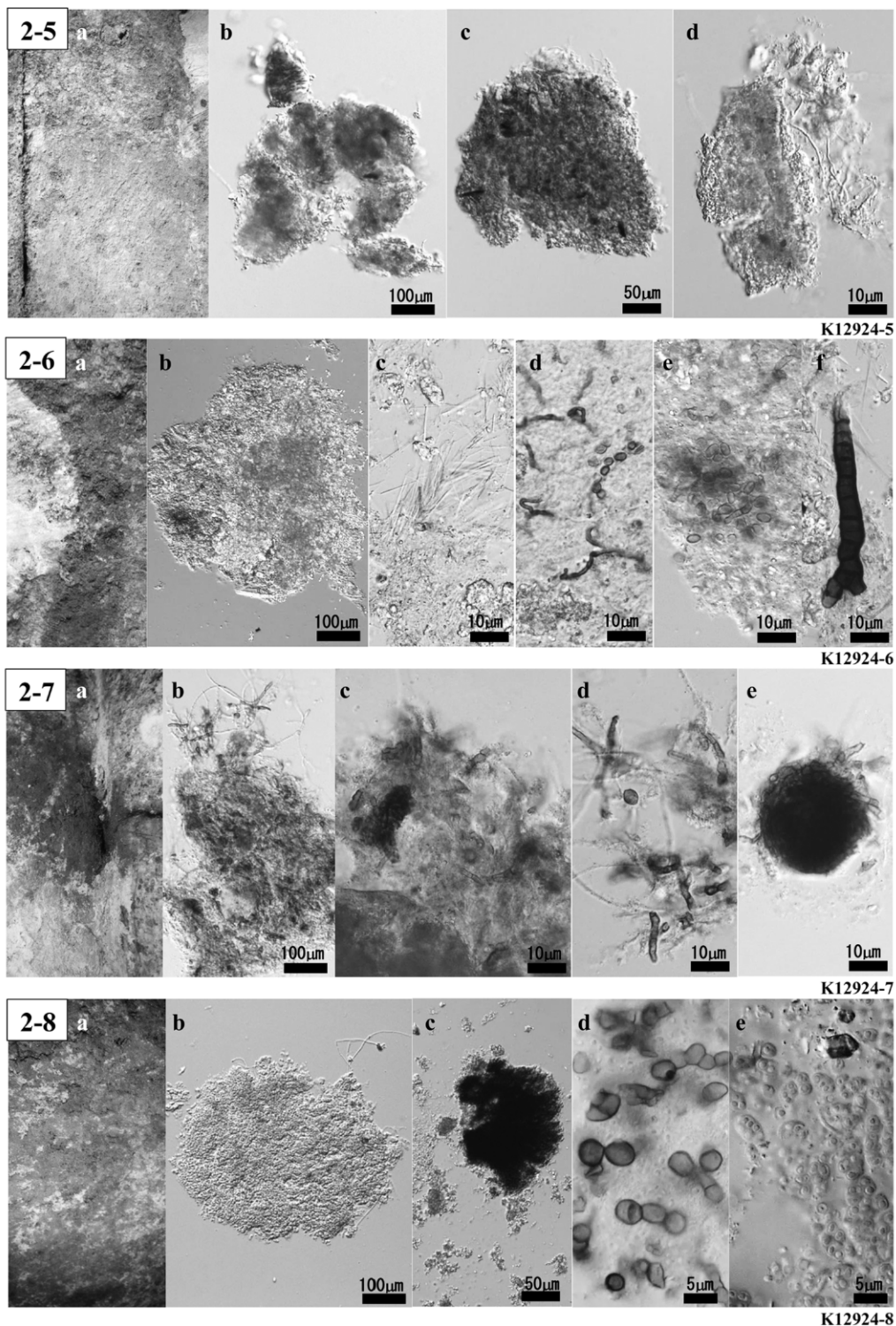


図2(続き) キトラ古墳石室内 (2012年9月24日調査) から採取した試料の採取箇所の拡大像(各図のa)および光学顕微鏡観察像(各図のb-f) (各試料の観察所見は表2を参照)

表3 キトラ古墳 2012年採取 8 試料 (2012年9月24日採取) からの菌類分離・簡易同定結果

試料番号 K12924									
1	2	3	4	5	6	7	8		
東壁	天井石	天井石	天井石	東壁	西壁	西壁	西壁		
中央すきま奥	中央西側すきま奥	北側第2石中央	中央付近西側	中央表面	中央南側	南側天井付近	南側床付近		
黄土色ゲル	茶/黄土色ゲル	茶褐色ゲル	黒/茶褐色ゲル	薄い黄土色ゲル	白い糸状 /黄土色ゲル	茶/黄土色ゲル	白色粉状 /黄土色ゲル		
分類群／グループ名									
※	2-2								
※		3-2			6-2				
※	1-5			5-2	6-4	7-3	8-4		
※	1-7	3-1	4-1		6-1				
※					6-3	7-5			
※			4-4						
※	1-6								
※	1-1	2-1		5-4	6-6	7-1			
※							8-3		
	2-8								
※	1-2	2-4	4-2	5-1		7-2			
※	1-3	2-5	4-3						
※	1-4								
※		3-6					8-5		
※	1-8y	2-9y		5-5y		7-6y			
					6-5				
			3-3(/3-4)	5-3	6-7		8-2		
	1-9								
		2-6							
		2-7	4-5						
						7-4			
							8-1		
	9	9	6	5	7	6	5		
					</				

※過去の調査(2004～2011年)で分離されたものと同じ種類である可能性が示唆された分離株を示す。
表中のグループ名の()内はコロニーの色調を、数値は分離株番号の枝番を示す。

表4 キトラ古墳 2012年採取8試料 (2012年9月24日) からの細菌分離・簡易同定結果

試料番号	K12924							
	1	2	3	4	5	6	7	8
	東壁 中央すきま奥	天井石 中央西側すきま奥	天井石 北側第2石中央	天井石 中央付近西側	東壁 中央表面	西壁 中央南側	西壁 南側天井付近	西壁 南側床付近
グループ名	黄土色ゲル	茶/黄土色ゲル	茶褐色ゲル	黒/茶褐色ゲル	薄い黄土色ゲル	白い糸状/黄土色ゲル	茶/黄土色ゲル	白色粉状/黄土色ゲル
グラム陰性桿菌 1 (粘性あり)	118-1 b	119-3 b	120-2 b		122-2 b			
グラム陰性桿菌 2 (粘性あり)	118-2 b							
グラム陰性桿菌 3		119-1 b						
グラム陰性桿菌 4 (粘性あり)		119-2 b				123-2 b		125-2 b
グラム陰性桿菌 5			120-1 b					
グラム陰性桿菌 6 (粘性あり)			120-3 b					
グラム陰性桿菌 7 (粘性あり)				121-1 b			124-2 b	
グラム陰性桿菌 8 (粘性あり)					122-1 b			
放線菌 1					122-3 b			
放線菌 2						123-1 b		
グラム陰性桿菌 9 (粘性あり)							124-1 b	
放線菌 3								125-1 b
計	2	3	3	1	3	2	2	2

表中のグループ名の () 内はコロニーの色調を、数値は分離株番号の枝番を示す。

れた。

2012年9月24日には、分離培養用の試料と同時に、非培養法による菌類叢解析用の試料も採取され、非培養法（パイロシークエンス法）による群集構造解析も実施された。その結果、非培養法による解析でも *Exophiala* sp., *Acremonium* (sect. *Gliomastix*), *Phialophora* sp., *Penicillium* sp.などが優先種として検出された⁹⁾。以上の結果から2012年9月時点では上記の属の菌類が石室内の優先的な種類となっていると推察される。

後述するように、*Cladophialophora*, *Exophiala* 両属菌類のなかには、人体に病原性をもつものがあることも報告されている⁷⁻⁹⁾。また一方で、*Cladophialophora*, *Exophiala* 両属菌類では、石材に発生する菌類ときわめて近縁であるものも報告されている^{9,10)}。これら両属の菌類が最近石室内から分離されるようになったのは、石室内で漆喰を取り外したのちに、石材が露出している箇所が増えたことと関係している可能性もある。

2－2．2013年2月18日、盗掘口ステンレス台取り外しの際の採取サンプルの観察結果および微生物分離結果

2013年2月18日、盗掘口ステンレス台の取り外しの際、盗掘口石材や石の養生材などからサンプリングされた試料の一覧を表5に、試料の顕微鏡観察結果を表6および図3に、またそれらの試料からの菌類分離結果を表7に、細菌分離結果を表8に示す。また主要な菌類分離株のコロニーの写真を図4に示した。

2010年、2012年には石室内から *Cladophialophora* sp.が分離されていたが、今回も石材に黒く発生していたカビ様物質（あるいは、ステンレス板にそのカビがはがれて落下していた試料）から *Cladophialophora* sp.が分離された（図5、表7）。また、シリコン製の保護材を外したあとの閉塞石の上に、黒いカビ様のものが発生しており（図6）、この試料から主要な菌類として *Phialophora* sp.が分離された。*Exophiala* sp.は、サンプリングの際は、石材上の白くみえる部分から採取された試料で分離された（図7）が、このカビは別の古墳環境でも表面が白くみえるカビとして分離、検出されており¹¹⁾石材上に発生するカビとして注目される。

表5　キトラ古墳盗掘口ステンレス台取り外し（2013年2月18日）に伴う採取試料一覧

試料名	No.	試料採取箇所
天井側 ステンレス上 黒粒状 (K13218-1)	①	キトラ古墳石室入口盗掘口天井側ステンレス上 黒粒状
天井側 ステンレス上 黒粒状 (K13218-2)	②	キトラ古墳石室入口盗掘口天井側ステンレス上 黒粒状
天井 ステンレス 石との接地面 スポンジ (K13218-3)	③	キトラ古墳石室入口盗掘口天井側 石接地面 テープ・ウレタン スポンジ
キトラ 東側 ステンレス板 朱雀側 (K13218-4)	④	キトラ古墳石室入口盗掘口東側 ステンレス板 朱雀側 ウレタン-すず箔
西側 アクリル羽根 石接地面 シリコン (K13218-5)	⑤	キトラ古墳石室入口盗掘口西側 アクリル羽 石接地面
天井石 黒色 (K13218-6)	⑥	キトラ古墳石室入口盗掘口天井石上の黒いカビ
天井石 左側 (K13218-7)	⑦	キトラ古墳石室入口盗掘口天井石上左側 平らな面上の黒いカビ
閉塞石 シリコンの下 黒色 (K13218-8)	⑧	キトラ古墳石室入口盗掘口 閉塞石 ウレタン-シリコンの下の黒いカビ
盗掘口 東側下部 (K13218-9)	⑨	キトラ古墳石室入口盗掘口東側下部 白っぽいカビ

表6 キトラ古墳石室内 (2013年2月18日調査; 試料 No. K13218) から採取した試料観察所見

試料No.	採取箇所 (記載事項)	顕微鏡観察所見	図番号
K13218-1	キトラ古墳石室 入口盗掘口天井 側ステンレス上 黒粒	試料には黒色の粒状の塊が多数認められた (図3-1a)。 黒色の粒状の塊は <i>Burgoa</i> 属の小型菌核ではなく、茶褐色～黒褐色の暗色系アナモルフ菌類の菌糸や分生子が多数集合している様子が認められた (図3-1b, c, d)。ダニ等の微小動物の死骸が認められた (図3-1e)。	3-1
K13218-3	キトラ古墳石室 入口盗掘口天井 側 石 接 地 面 テープ・ウレタン スポンジ	試料には黒～茶褐色のすす状～黒色の粒状の塊が多数認められた (図3-2a, b)。 黒色の粒状の塊は <i>Burgoa</i> 属の小型菌核ではなく、茶褐色～黒褐色の暗色系アナモルフ菌類の菌糸や分生子が多数集合している様子が認められた (図3-2c, d)。ダニ等の微小動物の死骸が認められた (図3-2e)。	3-2
K13218-4	キトラ古墳石室 入口盗掘口東側 ステンレス板 朱雀側 ウレタン- すず箔	試料には黒～茶褐色のすす状～黒色の粒状の塊が多数認められた (図3-3a, b)。 黒色の粒状の塊は <i>Burgoa</i> 属の小型菌核ではなく、茶褐色～黒褐色の暗色系アナモルフ菌類の菌糸や分生子が多数集合している様子が認められた (図3-3c, d)。ダニ等の微小動物の死骸が認められた (図3-3e)。	3-3
K13218-5	キトラ古墳石室 入口盗掘口西側 アクリル羽 石 接地面	試料には黒～茶褐色のすす状～黒色の粒状の塊が多数認められた (図3-4a, c)。 黒色の粒状の塊は <i>Burgoa</i> 属の小型菌核ではなく、茶褐色～黒褐色の暗色系アナモルフ菌類の菌糸や分生子が多数集合している様子が認められた (図3-4c, d, e, f)。ダニやそれ以外の微小動物の死骸が認められた (図3-4b, c)。	3-4
K13218-6	キトラ古墳石室 入口盗掘口天井 石上の黒いカビ	試料には黒～茶褐色のすす状～黒色の針状～粒状の塊が多数認められた (図3-5a)。 黒色の粒状の塊は <i>Burgoa</i> 属の小型菌核ではなく、茶褐色～黒褐色の暗色系アナモルフ菌類の菌糸や分生子が多数集合しているもので (図3-5b, c, d, e), <i>Cladophialophora</i> 属の分生子 (図3-5d) や暗色系菌類の黒褐色の分生子柄も多数認められた (図3-5e, f)。ダニ等の微小動物は認められない。	3-5
K13218-7	キトラ古墳石室 入口盗掘口天井 石上左側 平ら な面上の黒いカビ	試料には黒～茶褐色のすす状の塊が多数認められた (図3-6a)。 茶褐色～黒褐色の暗色系アナモルフ菌類の菌糸や分生子 (図3-6b, c, e) や <i>Kendrickiella</i> 属の分生子柄 (図3-6d) や <i>Cladophialophora</i> 属の分生子 (図3-6f) が認められた。ダニ等の微小動物は認められない。	3-6
K13218-8	キトラ古墳石室 入口盗掘口 閉 塞石 ウレタン- シリコンの下 の黒いカビ	試料は茶～黒色塊で、土壌や漆喰碎片を含む (図3-7a)。 細菌やカビ等の微生物の混生体 (バイオフィーム) (図3-7b), <i>Kendrickiella</i> 属の分生子柄 (図3-7c), 暗色系菌類の菌糸や分生子が多数認められた (図3-7d, e, f)。ダニ等の微小動物は認められない。	3-7
K13218-9	キトラ古墳石室 入口盗掘口東側 下部 白っぽい カビ	試料には黒～茶褐色のすす状の塊が多数認められた (図3-8a)。 茶褐色～黒褐色の暗色系アナモルフ菌類の菌糸や分生子 (図3-8b, d, e), <i>Gliomastix</i> 型の分生子 (図3-8c) が認められた。微小動物の死骸の一部が認められた (図3-8f)。	3-8

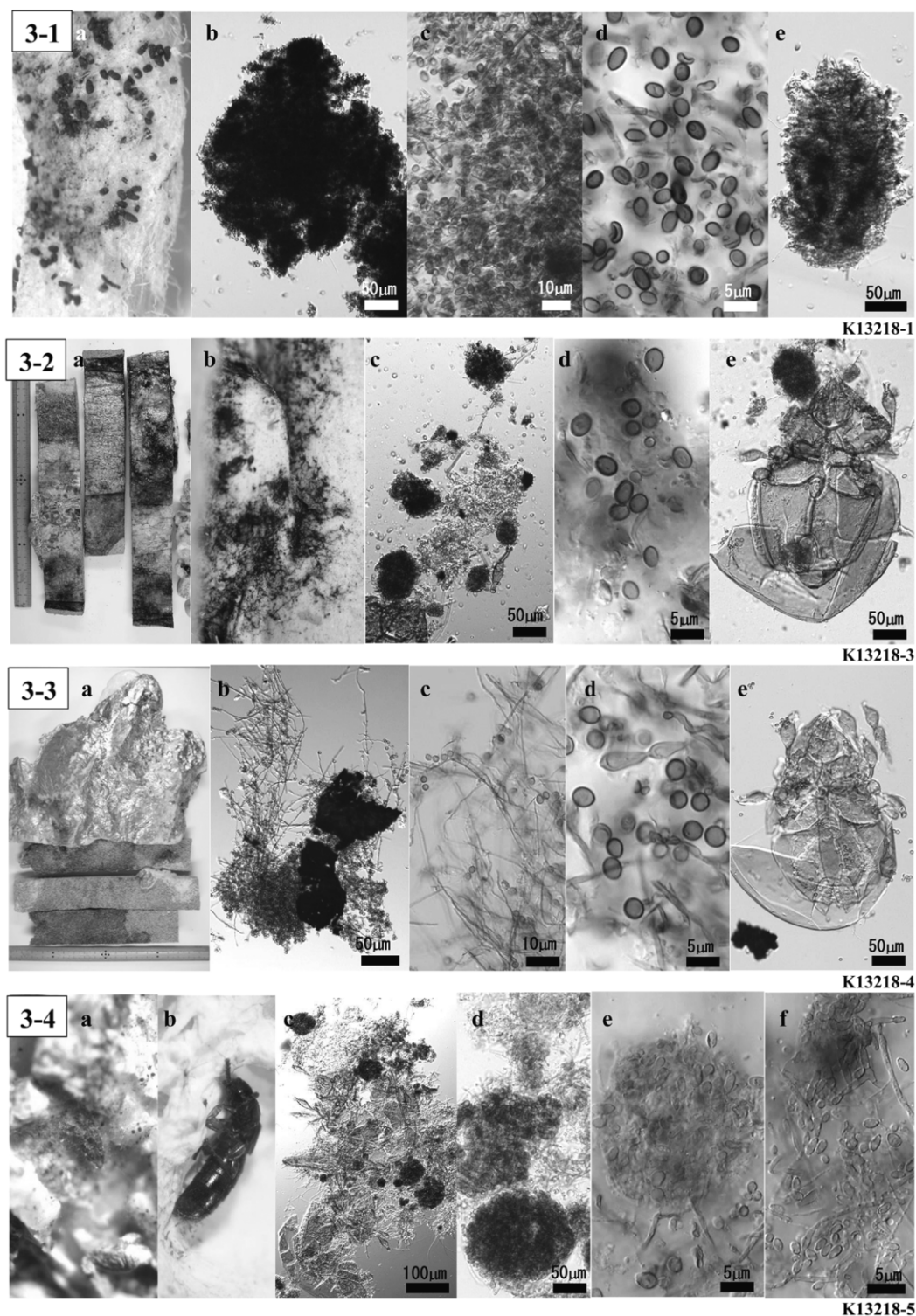


図3 キトラ古墳石室内 (2013年2月18日調査) から採取した試料の全体像/部分拡大像(各図のa, 3-2と3-4はa,b)および光学顕微鏡観察像(各図のb-f)(各試料の観察所見は表6を参照)

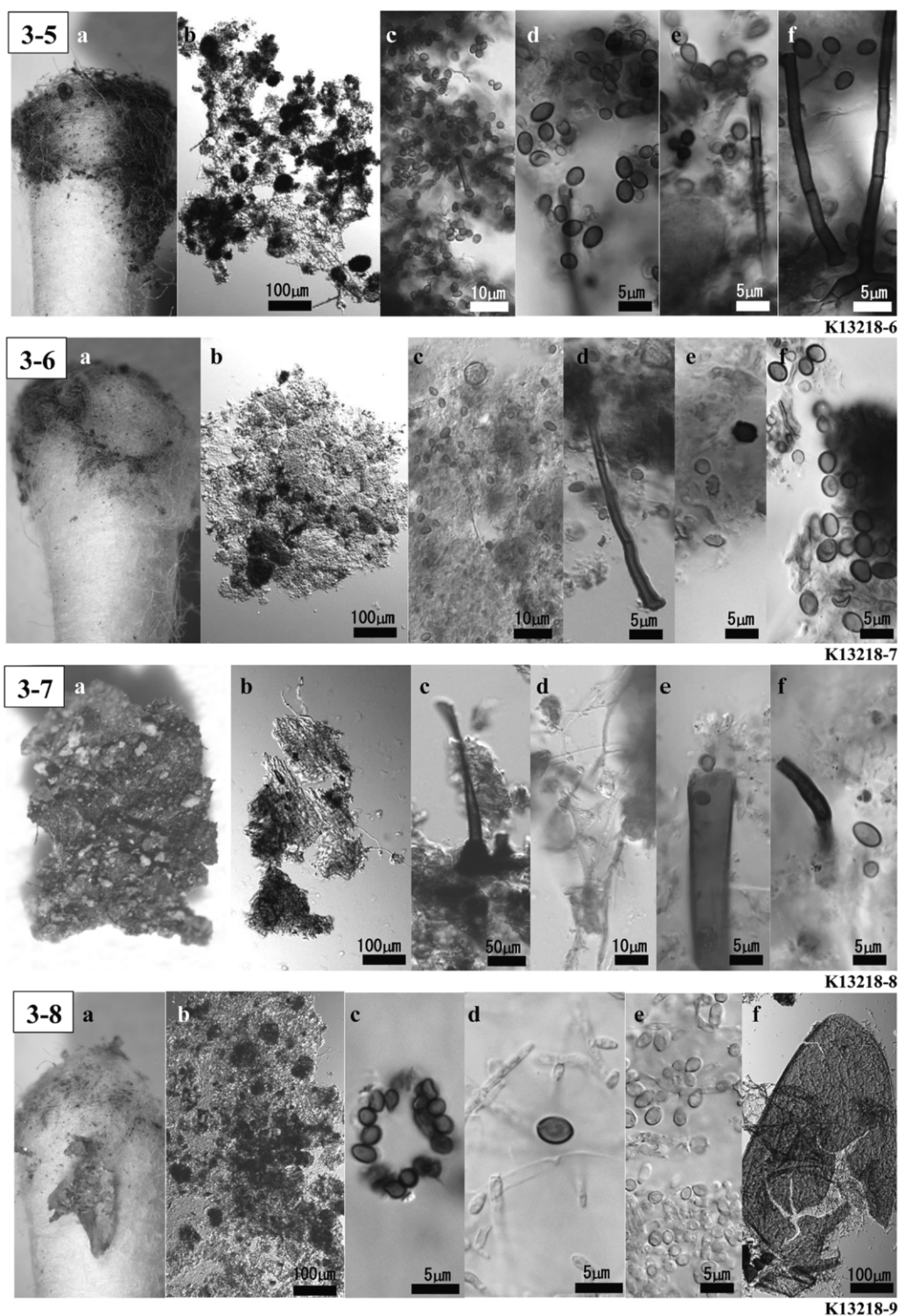


図3(続き) キトラ古墳石室内 (2013年2月18日調査) から採取した試料の全体像/部分拡大像(各図のa, 3-2と3-4はa,b)および光学顕微鏡観察像(各図のb-f)(各試料の観察所見は表6を参照)

表7 キトラ古墳 2013年2月18日盗掘口から採取した9試料からの菌類分離・簡易同定結果

試料採取箇所および 試料の基質・状態	試料番号								
	K13218								
	1 天井側	2 天井側	3 天井	4 東側	5 西側	6 天井石	7 天井石	8 閉塞石	9 盗掘口
分類群／グループ名	ステンレ ス上	ステンレ ス上	ステンレ ス 石 と の接地面 スポンジ	ステンレ ス 板 朱 雀側	アクリル 羽 根 石 接 地 面 シリコン	黒色	左側	シリコン の下黒色	東側下部
	黒粒状	黒粒状	黒褐色	黒褐色	黒褐色	黒色	黒色	黒色	白っぽい カビ
<i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) <i>murorum</i>			3-6	4-6	5-7				
<i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) <i>tumulicola</i>			3-7						9-7
<i>Acremonium</i> cf. <i>strictum</i>					5-13		7-5		
<i>Acremonium</i> -like hyphomycete 1 (オレンジ色, 湿性, しわ状)	1-2				5-12			8-2	
<i>Acremonium</i> -like hyphomycete 2 (白灰褐色, 放射状, 裏面亀裂)	1-3		3-8	4-7	5-14		7-8		9-10
<i>Acremonium</i> -like hyphomycete 3 (色2に類似)			3-9			6-6			
<i>Acremonium</i> -like hyphomycete 4 (薄オレンジ色)							7-3	8-3	
<i>Acremonium</i> -like hyphomycete 5									9-4
<i>Acremonium</i> -like hyphomycete 6 (成長遅い, オレンジ白色)							7-9		
<i>Acremonium</i> -like hyphomycete 7 (白色, 成長遅い)			3-10						
<i>Acremonium</i> -like hyphomycete 8 (黄白色)	1-8			4-16					
<i>Alternaria</i> sp.				4-13					
<i>Aspergillus</i> cf. <i>versicolor</i> (黄緑色)			3-5						
<i>Cladophialophora</i> sp. (緑色～緑褐色)	1-1			4-10		6-5	7-12		
<i>Cladosporium cladosporioides</i> complex 1		2-4							
<i>Cladosporium cladosporioides</i> complex 2					5-9				
<i>Clonostachys</i> cf. <i>rosea</i>				4-11					
<i>Exophiala</i> sp. (緑褐色)									9-9
<i>Fusarium solani</i> species complex (FSSC)					5-8				
<i>Penicillium paneum</i>			3-1	4-1		6-1	7-1		
<i>Penicillium</i> sp. 1	1-5								
<i>Penicillium</i> sp. 2 (青色)			3-2	4-2		6-3		8-1	9-1
<i>Penicillium</i> sp. 3 (黄色色素)			3-3						
<i>Penicillium</i> sp. 4 (緑色, 生育遅い)			3-4						
<i>Penicillium</i> sp. 5 (黄色, 塊状)				4-3					
<i>Penicillium</i> sp. 6 (黄色, <i>Penicillium</i> sp. A-like)				4-4					
<i>Penicillium</i> sp. 7 (濃緑色～黄色)				4-5	5-3	6-2			9-3
<i>Penicillium</i> sp. 8 (黄緑色色素)					5-1				
<i>Penicillium</i> sp. 9 (黄色色素, 青緑～黄色)					5-2/5-6				
<i>Penicillium</i> sp. 10					5-4	6-8			
<i>Penicillium</i> sp. 11 (青緑色, 生育遅い, 放射状)					5-5				
<i>Penicillium</i> sp. 12 (青色, 放射状)							7-2		
<i>Penicillium</i> sp. 13 (黄色色素)									9-2
<i>Phialophora</i> sp. (茶褐色)							7-6	8-7	
<i>Sagenomella</i> sp. (白色～灰色, 放射状)		2-1							
Sterile mycelium (菌核様構造形成, 明色)							7-10		
Sterile mycelium 1 (白色, 成長遅い)	1-7	2-2							
Sterile mycelium 2 (白色綿状)							7-4		
Sterile mycelium 3 (黄白色, 平坦)							7-7		
Sterile mycelium 4							7-13		
Sterile mycelium 5 (白色)								8-4	
Sterile mycelium 6 (黄色色素)							7-11		
<i>Trichoderma</i> cf. <i>harzianum</i>									9-5
Unidentified basidiomycete 1 (白色～黄土色, クランプ)	1-6								
Unidentified basidiomycete-like spp. (白色綿状)		2-3				6-4		8-5	9-6
<i>Verticillium</i> -like hyphomycete 1 (白色綿状)	1-4		3-11	4-12	5-15				
<i>Verticillium</i> -like hyphomycete 2 (白色綿状)				4-9					
<i>Verticillium</i> -like hyphomycete 3 (白色綿状)					5-10				
<i>Verticillium</i> -like hyphomycete 4 (白色)					5-11				
<i>Verticillium</i> -like hyphomycete 5				4-8					
Yeast 1 (白クリーム色, 菌糸状)			3-12y	4-15y	5-16y/ 5-19y	6-7y		8-6y	9-8y
Yeast 2 (平滑)			3-13y/ 3-14y	4-14y					
Yeast 3 (しわ状)					5-17y				
Yeast 4 (平滑-菌糸状)					5-18y				
計	8	4	14	16	18	8	13	7	10

表中のグループ名の () 内はコロニーの色調を, 数値は分離株番号の枝番を示す。

表8 キトラ古墳 2013年 2月18日盗掘口から採取した9 試料からの細菌分離・簡易同定結果

試料番号	K12924								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
天井側	天井側	天井側	天井	東側	西側	天井石	天井石	閉塞石	盗掘口
試料採取箇所および 試料の基質・状態	ステンレス上	ステンレス上	ステンレス との接地面 ボンジ	ステンレス板 朱雀側	アクリル羽根 石接地面 シリ コン	黒色	左側	シリコンの 下 黒色	東側下部
グループ名 (コロニー色調)	黒粒状	黒粒状	黒褐色	黒褐色	黒褐色				白っぽいカビ?
グラム陰性桿菌1 (淡黄色, 粘性 あり)	126-1b								
グラム陽性桿菌1 (黄色, 粘性あ り)	126-2b								
グラム陽性桿菌2 (淡黄色)	126-3b								
グラム陰性桿菌2 (淡黄色)	126-4b					131-2b			
グラム陽性桿菌3 (淡黄色)			128-1b						
グラム陽性桿菌4 (透明)			128-2b						
グラム陽性球菌1 (黄色)			128-3b						134-2b
グラム陰性桿菌3 (淡黄色, 粘性 あり)				129-1b	130-2b				
グラム陰性桿菌4 (淡黄色)					130-1b				
グラム陰性桿菌5 (淡黄色, 粘性 あり)						131-1b	132-1b		134-1b
放線菌1 (黄色)						131-3b		133-1b	
放線菌2 (オレンジ色)									134-3b
計	4	0	3	1	2	3	1	1	3

表中のグループ名の () 内はコロニーの色調を, 数値は分離株番号の枝番を示す。

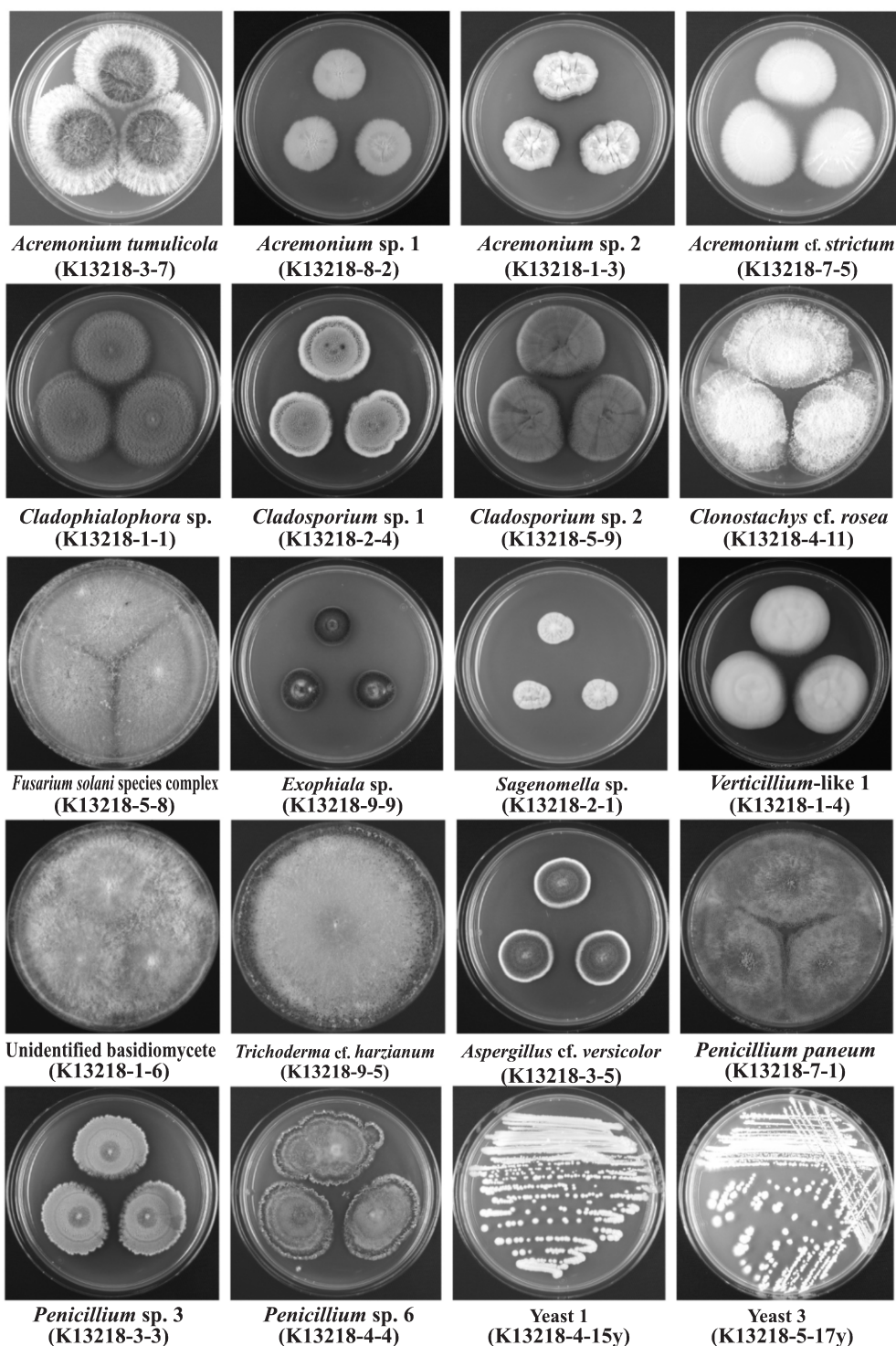


図4 キトラ古墳石室内採取9試料(2013年2月18日採取: K13218)から分離された菌類(カビ・酵母)の代表菌株の巨視的観察像(PDA, 25°C, 1週間~4週間培養)。

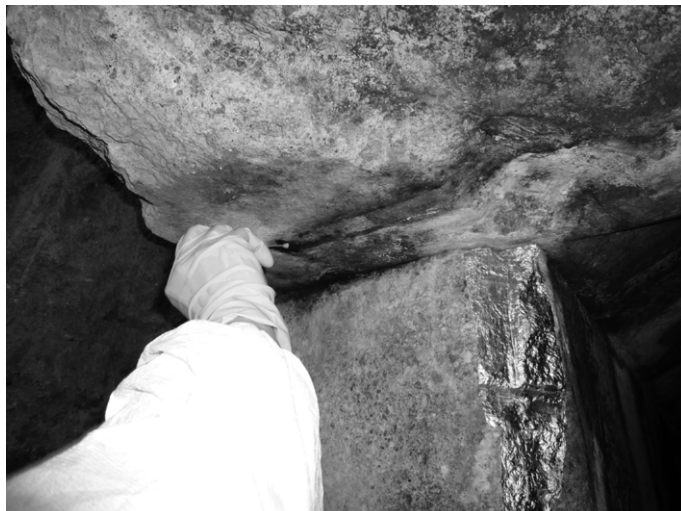


図5 盗掘口ステンレス板をはずしたあとの天井石左側 平らな面の黒いカビ *Cladophialophora* sp. などのカビが検出された（試料7）



図6 閉塞石 盗掘口の下面 ウレタン・シリコンの下の石面の黒いカビ *Phialophora* sp. などのカビが検出された（試料8）



図7 盗掘口ステンレス板をはずしたあとの閉塞石東側下部 白っぽいカビ *Exophiala* sp. などのカビが検出された(試料9)

この他、暗色系のカビ *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) *murorum* や *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) *tumulicola*, *Cladosporium* sp. などや、その他のカビとして *Acremonium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium solani* species complex (FSSC), *Trichoderma* sp. など以前から石室内で検出されたものも分離されている。

なお、上記2-1, 2-2での菌類の微生物分離に際しては、塗抹法・湿室法で行い¹²⁾、菌類については、ポテトデキストロース寒天培地「ダイゴ」(日本製薬, 東京) (PDA) (クロラムフェニコール50 mg / l, ローズベンガル50 mg/l 添加)にて、25℃で約2か月間をかけて培養、分離を行った。

3. 2004年から2013年2月までのキトラ古墳の微生物調査結果からの考察

3-1. 最初是一般的な土壌のカビ、のちに褐色や黒色を呈する種類のカビが出現する傾向について

2004年のキトラ古墳石室の発掘調査以降の出来事と、培養法によって分離・検出されたカビ等を表9にまとめた。

キトラ古墳の石室内でカビなどの微生物の発生が問題となった2004年当初、石室内で主に検出されるカビは、*Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. などが主であり¹³⁾(表9)。いずれも土壌のなかに一般的にみられるカビであった。

しかし、しばらくカビの発生が続くと、やがて濃い色を呈するカビや細菌等が石室内に見い出されるようになった。2005年の9月には *Acremonium* sp., *Fusarium* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Cylindrocarpon* sp. など、かなり微生物種に多様性がみられるようになり、壁面へ粘性のあるバイオフィルムの形成や漆喰壁で穴の形成もみられるようになった¹⁴⁾(表9)。このバイオフィルムは、細菌、酵母、カビが集合した膜状構造体であることが明らかになり¹⁴⁾、また漆喰に穴が生じる現象は、のちに酢酸菌(*Gluconacetobacter* 属細菌)の影響であることが強く示唆された^{2,15-17)}。

2006年4月末からは天井の天文図に黒粒状の菌類が発生し、この菌は、硬い菌核様構造体を形成する担子菌門アナモルフ菌類 *Burgoa anomala* であると同定された^{15,18)}。さらに、2006年に

表9 キトラ古墳での出来事と培養法で分離, 検出されたカビ等

時期	出来事と培養法で分離, 検出されたカビ	カビの対策・処置法
2004 文献 13,14,28)	石室の発掘調査 青龍などの取り外し作業 ＜石室内から分離, 検出されたカビ＞ 石室内での作業後, 石室内でカビが発生し始める。 <i>Trichoderma</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Acremoium</i> sp. (灰色), <i>Fusarium</i> sp., <i>Cylindrocarpon</i> sp. ＜小前室側閉塞石から分離, 検出されたカビ＞ <i>Phialocephala</i> sp. (後に <i>Kendrickiella phycomyces</i> と再同定)	＜石室内＞ バラホルムアルデヒド燻蒸, 部分的なエタノール湿布 ＜小前室閉塞石＞ 次亜塩素酸ナトリウム溶液で処理, 除去
2005 文献 14,32)	白虎など漆喰壁画の取り外し作業 壁面に粘ちょう性のバイオフィルムが出現し始める 漆喰にところどころ穴があく現象が出現し始める ＜石室内から分離, 検出されたカビなど＞ <i>Acremoium</i> sp., <i>Cylindrocarpon</i> sp., <i>Phialocephala</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Paecilomyces</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp., およびバイオフィルムを形成するバクテリア (<i>Rhizobium</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Serratia</i> , <i>Sphingomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> など), 酵母 天井の漆喰の穴から酢酸菌 (バクテリア) <i>Gluconacetobacter tumulicola</i>	週2回程度の点検・カビ除去 バラホルムアルデヒド燻蒸, 部分的なエタノール湿布, 約8%ホルマリン溶液, 消毒用エタノール-0.3%ホルマリン溶液など
2006 文献 15, 18)	漆喰壁画の取り外し作業 壁面のバイオフィルム拡大 天井部などへの黒い菌類の発生 ＜石室内から分離, 検出されたカビなど＞ <i>Burgoa anomala</i> (天井部などで黒色の小型菌核を形成), <i>Penicillium</i> sp., <i>Acremoium</i> (sect. <i>Giomastix</i>) sp. (黒色すす状), 酵母など	週2回程度の点検・カビ除去 エタノール, イソプロパノール, (アルコール類は限定的, 必要最低限で使用), 3%～5%ホルマリン溶液, イソチアゾリン系薬剤
2007 文献 1, 18)	漆喰壁画の取り外し作業 (側壁まで完了), 一部の天文図の取り外し作業 天井の漆喰の変色 ＜石室内から分離, 検出されたカビなど＞ <i>Burgoa anomala</i> (天井部などで黒い小型菌核を形成), <i>Penicillium</i> sp., <i>Acremoium</i> (sect. <i>Giomastix</i>) sp. (黒色すす状) <i>Paecilomyces</i> sp., <i>Gliocladium</i> sp., <i>Phialocephala</i> sp., <i>Phialophora</i> sp., <i>Phoma</i> sp., <i>Ophiostoma</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp., <i>Verticillium</i> sp., 酵母など。暗色系のカビを含め, 微生物の種多様性は増していつている傾向がみられた	週2回程度の点検・カビ除去 エタノール, イソプロパノール, (アルコール類はごく限定的に使用), 3%～5%ホルマリン溶液, イソチアゾリン系薬剤, エタノール:ホルマリン9:1溶液 (床面)
2008 文献 2, 32)	天文図の取り外し作業完了 ＜石室内から分離, 検出されたカビなど＞ <i>Penicillium paneum</i> , <i>Penicillium</i> spp., <i>Clonostachys</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Phialophora</i> sp., <i>Ophiostoma</i> sp., <i>Cylindrocarpon</i> sp., <i>Phialocephala</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp., <i>Acremoium</i> sp., 酵母など そのほか酢酸菌2種, <i>Gluconacetobacter tumulicola</i> および <i>Gluconacetobacter asukensis</i> がいくつかの箇所から分離された	アルコール類はごく限定的な使用, 3%～5%ホルマリン溶液

時期	出来事と培養法で分離, 検出されたカビ	カビの対策・処置法
2009 文献 3)	壁画のない部分 (余白部分), 泥におおわれた漆喰部分の取り外し ＜石室内から分離, 検出されたカビ＞ <i>Penicillium paneum</i> ., <i>Fusarium solani</i> (FSSC), <i>Trichoderma</i> sp., <i>Acremoium</i> (sect. <i>Giomastix</i>) <i>masseei</i> , <i>Acremoium</i> (sect. <i>Giomastix</i>) <i>murorum</i> , <i>Burgoa anomala</i> , <i>Acremoium</i> spp., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Clonostachys</i> sp., <i>Cylindrocarpon</i> sp., <i>Ophiostoma</i> sp., <i>Paecilomyces lilacinus</i> , <i>Penicillium</i> spp., <i>Phialophora</i> spp., 酵母など	年 2 回の集中取り外し方式に変更, 間欠的紫外線照射 (1 日に30分間 2 回照射), および場合によっては1000ppm の次亜塩素酸ナトリウム溶液でコロニーの除去
2010 文献 4)	余白漆喰もほぼ取り外しが終了 間欠的紫外線照射が実施されて以降は, 目視上ではあまりカビなどの微生物の発生が問題になることはなくなった ＜石室内 (漆喰・石材表面だけでなく, 石材間の隙間などの土も含む) から分離, 検出されたカビなど＞ <i>Burgoa</i> sp., <i>Fusarium solani</i> (FSSC), <i>Phialophora</i> sp., <i>Acremoium</i> spp., <i>Phoma</i> sp., <i>Acremoium</i> (sect. <i>Giomastix</i>) <i>murorum</i> , <i>Acremoium</i> (sect. <i>Giomastix</i>) <i>tumulicola</i> , <i>Cladophialophora</i> sp., <i>Clonostachys</i> spp., <i>Penicillium paneum</i> ., <i>Paecilomyces lilacinus</i> , <i>Arthrinium</i> sp., <i>Arthrotrichum</i> sp., <i>Cladosporium-like</i> sp., <i>Phialocephala</i> sp., <i>Penicillium</i> spp., 酵母など	年 2 回の集中取り外し, 間欠的紫外線照射
2011 文献 5)	＜石室内 (土壌も含む) から分離, 検出されたカビなど＞ <i>Penicillium paneum</i> , <i>Acremoium</i> (sect. <i>Giomastix</i>) <i>tumulicola</i> , <i>Cladosporium-like</i> spp., <i>Exophiala</i> spp., <i>Phialophora</i> spp., <i>Clonostachys</i> sp., <i>Paecilomyces lilacinus</i> , <i>Acremoium</i> sp., <i>Penicillium</i> spp., <i>Burgoa</i> sp., 赤色系射出酵母を含む酵母, 放線菌など	間欠的紫外線照射
2012 本報告 表 3	＜石室内 (土壌も含む) から分離, 検出されたカビなど＞ <i>Acremoium</i> (sect. <i>Giomastix</i>) <i>murorum</i> , <i>Acremoium</i> (sect. <i>Giomastix</i>) <i>tumulicola</i> , <i>Acremoium</i> sp., <i>Cladophialophora</i> sp., <i>Clonostachys</i> sp., <i>Exophiala</i> sp., <i>Paecilomyces lilacinus</i> , <i>Penicillium paneum</i> , <i>Penicillium</i> spp., <i>Phialophora</i> spp., <i>Phialocephala-like</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp., 酵母など	間欠的紫外線照射
2013 本報告 表 7	＜盗掘口ステンレスカバーに付着した, あるいはその下の石材から分離, 検出されたカビなど＞ * 紫外線は直接あたっていない箇所にあたる <i>Acremoium</i> (sect. <i>Giomastix</i>) <i>murorum</i> , <i>Acremoium</i> (sect. <i>Giomastix</i>) <i>tumulicola</i> , <i>Acremoium</i> spp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Aspergillus versicolor</i> ., <i>Cladophialophora</i> sp., <i>Cladosporium</i> spp., <i>Clonostachys</i> sp., <i>Exophiala</i> sp., <i>Fusarium solani</i> (FSSC), <i>Penicillium paneum</i> , <i>Penicillium</i> spp., <i>Phialophora</i> sp., <i>Sagenomella</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp., <i>Verticillium-like</i> spp., 酵母など	間欠的紫外線照射

カビの分離には, 2004年には MA を使用, 2005年以降は PDA を使用。

下線はキトラ古墳サンプルから培養法による分離で初めて検出されたものを示す。

網掛けは, 暗色系の菌類であることを示す。

は黒色のすす状を呈する *Acremonium* (sect. *Giomastix*) sp.が壁面に発生した¹⁵⁾ (表 9)。

このような推移は, 2001年以降, 高松塚古墳でカビの問題がおきたときにも, 同じような傾向として観察された。高松塚古墳でも, 2001年に取合部のカビの発生を契機としてカビの発生が問題となった当初は, 取合部, 石室から主に分離されたカビの種類は, *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp.などであった^{12,19)}。しかし, 徐々に分離されるカビ等の種類は多くなる傾向が認められ, 2006年以降は暗色系の *Acremonium* (sect.

Gliomastix) sp.が、高松塚古墳でも石室内に発生した^{12,19)}。

なお、フランスのラスコー洞窟内で、2001年にカビが大発生した場合にも、当初の主要な種は *Fusarium* sp. (FSSC クレード) であった^{20,21)} (この属の近縁種は高松塚古墳、キトラ古墳の石室内でもやはり検出されている) が、のちに暗色系の *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) *murorum* や、その後はさらに黒色の *Ulocladium* sp.などが発生したことが報告されており^{21,22)}、似たような地中環境にある壁画面では、類似した種類のカビが、似たパターンで出現する可能性が示唆されている。

キトラ古墳においては、さらに最近では、従来にも主要に分離されていた *Penicillium* *paneum* や *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) *tumulicola*, *Trichoderma* sp. *Paecilomyces* sp.に加え、暗色系の菌類である *Cladophialophora* sp., *Phialophora* sp.が多くのサンプルから分離されるようになった (表3)。*Phialophora* sp.は2007年の調査以降、石室から分離され (表9)¹⁻⁵⁾, *Cladophialophora* sp.は2010年、2012年に石室で分離された⁴⁾ (表9)。*Exophiala* sp.は2011年以降検出されており⁵⁾ (表9)、間欠的 UV 照射を開始して以降は、このような比較的 UV に耐性が強いと推察される暗色系のカビが相対的に多く検出される傾向がうかがえる。ただし、これは詳しく後述するように、全体としてのカビの量が増えているということではなく、UV 耐性の弱いカビが減ったために、相対的にこれらのカビが検出される比率が上がったと考えるべきであろう。

3-2. 消毒用薬剤処置、人の出入りの影響について

表9に、カビの対策、処置法や使用された薬剤などについても示した。

2004年に石室の発掘調査が行われた後は、何度か石室内のパラホルムアルデヒド燻蒸が実施された。しかし、その後、壁画の取り外し作業が実施されるに至り、毒性の高いパラホルムアルデヒドの燻蒸を頻繁に実施することは困難となった。そこで、カビが発生した際には、エタノール、ホルマリンなどを使って、菌糸を除去するという対応も行われた (表9)。しかし、こののちバイオフィームが壁面に発生するに至り、アルコール系の殺菌剤 (特にエタノール) は出来る限り限定して使用するようになり、必要な場合には、イソプロパノールや、ホルマリン溶液が使用されることとなった。一方で、天井の穴の形成やバイオフィーム生成の進行を抑制するために、主要な微生物分離株への効果を実験で確認したうえで²³⁾、イソチアゾリン系の薬剤も使用された^{1,15)}。

この後、石室内から分離されるカビなどの微生物の多様性は増していつている傾向がみられた (表9)¹⁾。

漆喰壁画の取り外しのためには、石室内での作業が必要であるが、石室内作業に伴い、相対湿度およそ100%の環境ではカビなどが発生してしまう。カビを放置すると、以前高松塚古墳の石室では黒いしみが発生したこともあり¹⁹⁾、放置するリスクを考えると、物理的な除去と殺菌を実施することになる。しかし、殺菌に薬剤を使用すると、とくに有機系の薬剤の場合は、薬剤が薄まったり、分解したりすることによって、いずれは微生物に資化 (炭素源や窒素源などの栄養源として利用される) されることにもつながり²⁴⁾、ジレンマとなっていた。しかし、色材で描かれた壁画がある時は、また作業者が頻繁に石室に出入りする間は、絵画の色材にも人体にも直接の影響が少ないと考えられる薬剤を使用するしかなかった。

4. キトラ古墳の壁画取り外し後の間欠的 UV 照射対策と菌叢

4-1. 間欠的 UV 照射など有機物を残さない微生物制御方法への切り替え

従来、石室内の作業が実施されたあとは、石室内でカビが発生しやすく、その除去のため薬剤を使用するという形にならざるを得なかった。薬剤を使用すると、有機物が石室内へ供給されるため、できるだけ有機物の薬剤は控えたいということはあるが、壁画が石室内にある間は、壁画の色材への影響が懸念される方法は使えず、UV（殺菌灯、UV-C による）などの照射はできなかった。しかし、壁画の取り外し作業が終了したのち、2009年3月以降は、石室内のカビ等の発生を抑制するために、有機物の薬剤を使用しない方法として、間欠的 UV 照射が実施されることとなった^{3,25)}。開始にあたっては、それまで石室内で分離された主要なカビ・酵母分離株、細菌株への UV 照射の効果を実験で確かめた上で³⁾実施した。

その後、作業者が入ったあとでも、所定時間 UV を照射したあとは目視レベルで観察されるカビの発生はほとんどなくなり、カビによる被害は減少した³⁾。

間欠的 UV 照射に加え、絵のある壁画部分の取り外しが完了したのちは、カビなどのコロニーが発生した場合、その部分のみ約0.1%の次亜塩素酸溶液で殺菌、除去処置が行われることもあった。壁画が石室内にある間は、次亜塩素酸溶液についても色材への影響を考慮して使用されることはなかったが、壁画の取り外し後に限定して使用された。

2009年3月以降、石室内の微生物制御法を紫外線殺菌灯による間欠的照射、および必要な場合は低濃度の次亜塩素酸ナトリウム溶液を用いて物理的に除去する方式に切り替えてのち、石室内で白いカビの菌糸の発生はほとんどみられなくなった³⁻⁵⁾。

4-2. 間欠的 UV 照射処置を始めて以降の菌叢について

<培養法による菌類等の分離結果の考察>

表9に2004年以降、培養法によって石室等から分離されたカビ等について概要を一覧表としてまとめた。しかし、分離のために採取された試料については、毎年決められた定点から採取されているわけではなく、点検のときに変色していたりカビ様物質が観察されたり、暗色化している、ゲルが生じているなど、気になった場所から採取を行っているため、完全にランダムにサンプリングしたものの状況をみているわけでないことは留意すべきである。このためここに示す結果はあくまで、定性的な観点からの概要として見る必要がある。また、2004年には、主に MA 培地が分離培地として使用されているが、2005年以降は菌類の分離培地としては主に PDA が使用されている点も若干異なっている。

ただ先にも述べたように、少なくとも2004年に石室を発掘した直後に主に分離されていた *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp. などに加えて、2006年ごろからは、石室から *Burgoa* 属や、*Acremonium* (sect. *Gliomastix*) spp. など暗色系の菌類が従来よりも多くの箇所から分離されている傾向は明確にみられており、石室内の被害を目視で観察した結果とも一致する。さらに2007年には、*Phialophora* sp., *Ophiostoma* sp., *Cladosporium* sp. など別の種類の暗色系の菌類も分離され始めた。

2009年3月から間欠的 UV 照射を開始して以降、2010年には黒色系の *Cladophialophora* sp., *Arthrinium* sp. なども分離されるようになり、さらに、2011年には暗色系の *Exophiala* sp. が分離されている。*Burgoa* 属の黒色の小型菌核構造が UV 照射にきわめて高い耐性をもつことからわかるように、暗色系の菌類のほうがメラニン系の色素などを有するために比較的 UV に対する耐性が強く、生残しやすい可能性は考えられる。実際に、キトラ古墳石室からの分離株

で実験したところ、暗色系の *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) sp. および *Phialophora* sp. の分離株の分生子や、暗色系ではないが *Penicillium paneum* の1株では、 0.01m W/cm^2 の UV 強度で30分殺菌灯を照射しても、一万分の一程度の割合で生き残る場合があることが示されている²⁶⁾。

ただし、石室内では間欠的 UV 照射を実施する前のように、目立った菌糸状のカビなどがみられるわけではなかった。全体としてカビの発生量が増えたということではなく、UV に耐性が弱いカビが全般的に抑えられた結果、全体の微生物のバイオマスの量は減少したなかで比較的 UV 照射に耐性の強いものが残ったと推察される。

石室内の観察結果からみても全体のカビのバイオマスは、有機物の供給がなくなったこと、UV 照射を実施していることから、以前と比較すると相当減っていると推察され、2009年以降に主に検出された菌類が石室内で進行形の被害を及ぼしているということを意味しているわけではない。

2011年10月13日の石室内の調査以降、分離されているカビとして *Exophiala* sp. があり、2012年9月の調査でも *Exophiala* sp. が天井石の試料ひとつから分離されている。ただし一方では、*Exophiala* sp. は2013年2月18日の調査で、UV 照射をしていない閉塞石盗掘口の小前室側 (図7) から分離されており、この閉塞石からの検出については、UV 照射の影響とはいえない。さらに、*Exophiala* sp. は、それまで UV 照射をしていない他の古墳の石材からも、主要な菌類として検出されており¹¹⁾、むしろある条件下で石材に発生しやすい菌類として考える必要があるかもしれない。

Exophiala sp. とならび、2010年以降の調査では、暗色系の *Cladophialophora* sp. が検出されている。ただし、*Cladophialophora* sp. も2013年2月の調査で UV が直接当たらなかったステンレス板に隠れた盗掘口の閉塞石石材上 (図5) でも検出されており、この場合も UV 照射されていない場所にあたる。

2012年9月の石室内調査、2013年2月の盗掘口調査では、暗色系の *Phialophora* spp. も複数個所から分離されている。しかし、この場合も、一方では UV が照射されなかった石材面 (図6) から *Phialophora* sp. が分離されており、また、*Phialophora* sp. については、高松塚古墳の取り合い部を中心に検出された暗色系のカビの主要な種類のひとつでもあった¹²⁾。高松塚古墳では UV 照射は実施されなかったことから、こちらについても、UV 照射とこのカビの出現の因果関係は、現在のところ明白ではない。

<非培養法による菌類等の分離結果の考察>

2011年10月、2012年9月にキトラ古墳石室内から採取したサンプルの佐藤らによる非培養法による解析の結果、2011年10月のサンプル、2012年9月のサンプルのいずれの場合も、細菌では放線菌が優先種として検出されている^{6,27)}。間欠的 UV 照射を開始したのち、石室内壁面が以前よりも、比較的乾いた印象になっていることは点検時に観察されていたが、放線菌は比較的乾燥にも強いことから、これらが優先種として検出された可能性も考えられる。また、2012年9月に採取された8試料の菌類の群集構造解析結果においても、培養法で分離されている *Exophiala* 属、*Phialophora* 属、*Acremonium* 属、*Penicillium* 属が高い出現頻度で検出された試料があり⁶⁾、いずれの方法でも共通した優先種として、以上の属の菌類が検出されている。

4-3. UV 照射に対する耐性菌などは出てきたのか

これまでに、間欠的 UV 照射を始める前にキトラ古墳石室内から分離された菌株のほか、間

欠的 UV 照射を数か月から約 2 年続けたのちに採取された試料から分離された主要な菌株 (*Penicillium paneum* 2 株, *Burgoa* sp. 3 株, *Fusarium solani* 2 株, *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) sp. 5 株, *Cladophialophora* sp. 1 株, *Phialophora* sp. 1 株のほか, 細菌 9 株) で UV 耐性試験を実施した²⁶⁾。その結果, 上記の菌株を用いて調査した範囲では, UV 照射の前後の分離株を比較した際, 顕著に UV 耐性が上昇したというものはみられていない²⁶⁾。*Burgoa* 属の黒色の小型菌核構造については UV 照射期間の前後にかかわらず, いずれの時期の分離株も UV 照射にきわめて高い耐性をもつことが明らかになっているが^{3,26)}, この場合にも菌糸の状態にあるときには UV が十分な殺菌効果を及ぼすので, このことが石室内での拡大を抑制していたと推察される。

なお, 上記の UV 耐性試験では *Exophiala* sp. については調査をしていないため, 2011 年以降, 石室内で検出されたこのカビがどの程度 UV 耐性を持っているのかについては今後の検討を要する。

5. 石材に発生するカビ

石室外では 2004 年の 8 月に, 天井石前面で黒から褐色の剛毛のようなカビ *Phialocephala* sp. (後に *Kendrickiella phycomyces* と再同定)^{12,13,28)} の発生が認められた。このカビは, 石材などに発生しやすいカビで, 黒褐色を呈し, しかも堅固な針状の構造をつくるカビであるため除去が容易ではなく, 拡大しないようにのちに次亜塩素酸などを使用して, 徹底除去が実施された¹³⁾。2005 年以降は, 石室内の石材部にも発生しているところがみつき, さらに 2007 年以降は似た構造をもつ *Ophiostoma* sp. も石室内で分離されるようになった。

2010 年以降石室内で分離されるようになった *Cladophialophora* sp., 2011 年以降分離されている *Exophiala* sp. についても, 図 5, 図 7 にみられるように, 石材に発生しているが, これらは石材から分離されている菌類群ときわめて近縁であることが報告されており^{9,10)}, これらの菌類が頻繁に分離されるようになったのは, 漆喰壁が取り外されて, 石材が露出する面積が増えてきたことにもよるかもしれない。

6. ヒト病原性菌類について

日本国内で分離されるカビは, 一般に輸入真菌ほど顕著な病原性が知られている種は少ないとされ, 国立感染症研究所の安全管理規則でバイオセーフティレベル 3 以上に分類されているものについても, そのほとんどが国外で分離が報告されるものである²⁹⁾。しかしながら, キトラ古墳で 2007 年以降分離されている *Phialophora* 属などの暗色系のアナモルフ菌類には, 黒色真菌症や深部皮膚真菌症をひきおこす種があることが報告されており^{7,30)}, 前述したように, *Exophiala*, *Cladophialophora* 両属にも黒色真菌症や深部皮膚真菌症の原因になるなど人体に病原性をもつ種類も報告されている^{7,8,9,30,31)}。そのため, 今後とも古墳環境での作業では従来通り, 適切な装備をして実施することが必要であると考えられる。

7. まとめ

本報告では, 2012 年から 2013 年にかけてキトラ古墳石室内および盗掘口部分から採取された試料の微生物分離結果を報告し, 2004 年から 2013 年の埋戻しに至るまでの石室内等の微生物調

査の結果を概括した。

2004年当初は、石室内の試料から主に分離されるカビは、*Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. などであり、いずれも土壌のなかに一般的にみられるカビであったが、やがて暗色を呈するカビやバクテリア等が石室内に見い出されるようになった。2005年の9月には微生物相 (microbiota) にかなり多様性がみられるようになり、壁面へ粘性のあるバイオフィルムの形成や漆喰壁で約1 cmの大きさの小穴の形成もみられるようになった。そのうち、2006年から「黒粒」と呼ばれた小型菌核形成担子菌類 *Burgoa anomala*¹⁸⁾ や、黒色のすす状を呈する *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) spp. が石室内に発生した。このような推移は、2001年以降、高松塚古墳でカビの問題がおきたときにも、同じような傾向として観察されている^{12,19)}。

さらに最近では、従来主に分離されていた種類の微生物以外に、暗色系菌類の *Cladophialophora* sp., *Phialophora* sp. が多くのサンプルで分離されるようになった。また、*Exophiala* sp. は2011年以降検出されており、間欠的 UV 照射を開始して以降、このような比較的 UV に耐性が強いと推察される暗色系のカビが相対的に多く検出される傾向がみられた。ただし、これは全体としてのカビの量が増えているということではなく、UV に耐性の弱いカビが減ったために、相対的にこれらのカビが検出される比率が上がった結果と推察される。

以上のような調査結果が、今後の土中の古墳環境の微生物制御を考える際の参考となることを願う。

参考文献

- 1) 木川りか, 間瀬創, 佐野千絵, 三浦定俊: キトラ古墳の微生物等の状況報告 (2007), 保存科学, **47**, 129-134. (2008)
- 2) 木川りか, 佐野千絵, 間瀬創, 喜友名朝彦, 立里臨, 西島美由紀, 杉山純多: キトラ古墳の微生物等の状況報告 (2008), 保存科学, **48**, 167-174. (2009)
- 3) 木川りか, 佐野千絵, 喜友名朝彦, 立里臨, 杉山純多, 高島浩介, 久米田裕子, 森井順之, 早川典子, 川野邊渉: キトラ古墳の微生物調査結果と微生物対策について (2009), 保存科学, **49**, 253-264. (2010)
- 4) 木川りか, 佐野千絵, 喜友名朝彦, 立里臨, 杉山純多, 早川典子, 川野邊渉: キトラ古墳の微生物調査報告 (2010), 保存科学, **50**, 193-197. (2011)
- 5) 木川りか, 佐野千絵, 喜友名朝彦, 立里臨, 杉山純多, 早川典子, 川野邊渉: キトラ古墳の微生物調査報告 (2011), 保存科学, **51**, 167-171. (2012)
- 6) 佐藤嘉則, 木川りか, 喜友名朝彦, 立里臨, 西島美由紀, 杉山純多: パイロシーケンス法によるキトラ古墳石室内の微生物群集構造解析, 保存科学, **54**, 111-120. (2015)
- 7) 宮治誠, 西村和子: 『住まいとカビと病原性』, 八坂書房, 東京. (2009)
- 8) 西村和子: コラム「ヒト病原真菌」2, 日本微生物資源学会誌, **25**(1), 63-65. (2009)
- 9) de Hoog, G. S., Vicente, V. A., Najafzadeh, M. J., Harrak, M. J., Badali, H., Seyedmousavi, S.: Waterborne: *Exophiala* species causing disease in cold-blooded animals, *Persoonia* **27**: 46-72. (2011)
- 10) Gueidan, C., Villasenor, C. R., de Hoog, G. S., Gorbushina, A. A., Lutzoni, F.: A rock-inhabiting ancestor for mutualistic and pathogen-rich fungal lineages, *Studies in Mycology* **61**: 111-119. (2008)
- 11) 佐藤嘉則, 木川りか: 虎塚古墳における生物調査, 虎塚古墳の保存科学的研究, 平成23～25年度

- 日本学術振興会科学研究費補助金研究成果報告書, 研究代表者 矢島國雄, pp. 51-58. (2014)
- 12) Sugiyama, J., Kiyuna, T., An, K.-D., Nagatsuka, Y., Handa, Y., Tazato, N., Hata, J., Nishijima, M., Koide, T., Yaguchi, Y., Kigawa, R., Sano, C., Miura, S.: Microbiological survey of the stone chambers of Takamatsuzuka and Kitora Tumuli, Nara Prefecture, Japan: a milestone in elucidating the cause of biodeterioration of mural paintings. *In: Study of Environmental Conditions Surrounding Cultural Properties and Their Protective Measures: Proceedings of The 31st International Symposium on the Conservation and Restoration of Cultural Property* (ed. by Sano, C.), pp. 51-73. National Research Institute for Cultural Properties, Tokyo. (2009)
- 13) 木川りか, 佐野千絵, 間瀬創, 三浦定俊: キトラ古墳の前室および石室における菌類調査報告, 保存科学, **44**, 165-171. (2005)
- 14) 木川りか, 間瀬創, 佐野千絵, 三浦定俊: キトラ古墳における菌類等生物調査報告(2), 保存科学, **45**, 93-105. (2006)
- 15) 木川りか, 佐野千絵, 間瀬創, 三浦定俊: キトラ古墳における菌類等生物調査報告(3), 保存科学, **46**, 227-233. (2007)
- 16) 佐野千絵, 西島美由紀, 喜友名朝彦, 木川りか, 杉山純多: 高松塚古墳石室内より分離された主要な微生物のギ酸・酢酸生成能, 保存科学, **49**, 209-219. (2010)
- 17) Kigawa, R., Sano C., Nishijima, M., Tazato, N., Kiyuna T., Hayakawa, N., Kawanobe, W., Udagawa, S., Tateishi, T., Sugiyama, J.: Investigation of acetic acid bacteria isolated from the Kitora tumulus in Japan and their involvement in the deterioration of the plaster of the mural paintings. *Studies in Conservation* **58**: 30-40. (2013)
- 18) Kiyuna, T., An, K.-D., Kigawa, R., Sano, C., Miura, S., Sugiyama, J.: "Black particles", the major colonizers on the ceiling stone of the stone chamber interior of the Kitora Tumulus, Japan, are the bulbilliferous basidiomycete fungus *Burgoa anomala*. *Mycoscience* **56**(3) (2015) in press; <http://dx.doi.org/10.1016/j.myc.2014.08.005>.
- 19) 木川りか, 佐野千絵, 石崎武志, 三浦定俊: 高松塚古墳の微生物対策の経緯と現状, 保存科学, **45**, 33-58. (2006)
- 20) Pallot-Frossard, I., Orial, G., Bousta, F., Mertz, J.-D.: Lascaux cave (France) A Difficult Problem of Conservation. *In: Study of Environmental Conditions Surrounding Cultural Properties and Their Protective Measures: Proceedings of The 31st International Symposium on the Conservation and Restoration of Cultural Property* (ed. by Sano, C.), pp. 7-14. National Research Institute for Cultural Properties, Tokyo, Tokyo. (2009)
- 21) Orial, G., Bousta, F., François, A., Pallot-Frossard, I., Warscheid, T.: Managing biological activities in Lascaux: Identification of microorganisms, monitoring and treatments. *In: Lascaux and Preservation Issues in Subterranean Environments, Proceedings of the International Symposium, Paris, February 26 and 27, 2009* (ed. by Coye N.), pp. 219-251, Fondation Maison des sciences de l'homme, Paris. (2011).
- 22) Geneste, J.-M.: The major phases in the conservation of Lascaux Cave. *In: Lascaux and Preservation Issues in Subterranean Environments, Proceedings of the International Symposium, Paris, February 26 and 27, 2009* (ed. by Coye N.), pp. 51-71, Fondation Maison des sciences de l'homme, Paris. (2011).
- 23) 木川りか, 佐野千絵, 立里 臨, 喜友名朝彦, 小出知己, 杉山純多: キトラ古墳のバイオフィル

- ムから分離されたバクテリア・菌類に対するケーソン CG 相当品 (抗菌剤) の効果, 保存科学, **46**, 39-50. (2007)
- 24) 木川りか, 佐野千絵, 喜友名朝彦, 立里 臨, 杉山純多, 早川典子, 川野邊渉: キトラ古墳から分離された細菌や酵母の修復用高分子材料に対する資化性試験, 保存科学, **51**, 157-166. (2011)
- 25) 川野邊渉, 木川りか: キトラ古墳壁画の新たな保存措置方法について, 古墳壁画保存活用検討会保存技術ワーキンググループ (第3回), 資料4-1, 平成21年3月9日, 文化庁
- 26) 木川りか, 喜友名朝彦, 立里 臨, 佐藤嘉則, 杉山純多: キトラ古墳から分離された微生物の紫外線 (UV) 照射試験結果について, 保存科学, **52**, 157-166. (2013)
- 27) 佐藤嘉則, 木川りか, 喜友名朝彦, 立里 臨, 西島美由紀, 杉山純多: 非培養法によるキトラ古墳の細菌調査, 保存科学, **52**, 1-10. (2013)
- 28) Kiyuna T., An K. -D., Kigawa R., Sano C., Miura S., Sugiyama J.: Bristle-like fungal colonizers on the stone walls of the Kitora and Takamatsuzuka Tumuli are identified as *Kendrickiella phycomyces*. *Mycoscience* **53**: 446-459. (2012)
- 29) 国立感染症研究所病原体等安全管理規則 別冊1, 「病原体等のBSL分類等」, 国立感染症研究所, 平成22年6月
- 30) de Hoog, G. S, Guarro, J., Gené, J., Figueras, M. J.: Atlas of Clinical Fungi, 2nd Edition, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, The Netherlands. (2000)
- 31) 千葉大学真菌医学研究センター, 病原真菌・放線菌カタログ, <https://daphne.pf.chiba-u.jp/distribution/catalog>. (2012)
- 32) Tazato, N., Nishijima, M., Handa, Y., Kigawa, R., Sano, C., Sugiyama, J.: *Gluconacetobacter tumulicola* sp. nov. and *Gluconacetobacter asukensis* sp. Nov., isolated from the stone chamber interior of the Kitora Tumulus. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **62**: 2032-2038. (2012)

キーワード: キトラ古墳 (Kitora Tumulus); 生物劣化 (biodegradation); カビ (molds); バクテリア (bacteria); UV 照射 (UV irradiation); 微生物相 (microbiota)

Summary of the Microbial Surveys of the Kitora Tumulus from 2004 to 2013

Rika KIGAWA, Tomohiko KIYUNA*, Nozomi TAZATO*,
Yoshinori SATO, Chie SANO and Junta SUGIYAMA*²

In January 2004, excavation of the Kitora Tumulus took place and the relocation of the paintings started. In 2013, the relocation works were completed and the stone chamber of the Kitora Tumulus was buried again.

In this report, the results of our surveys of microorganisms detected using cultivation/culture-dependent methods during the period from 2004 to 2013 are summarized, and details of the results of our recent surveys of the stone chamber interior in September 2012 and of the southern stone part of the Tumulus in February 2013 are provided.

Soon after people began to go into the stone chamber in 2004, fungal appearances were visible to the naked eye on the wall plaster and murals. In the beginning, fungi such as *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., and *Fusarium* sp. appeared as the major contaminants inside the stone chamber. Ethanol was mainly used to kill and remove such fungal colonies, as it was thought to be one of the mildest of fungicides to the pigments of the murals. In early 2005, small colonies of viscous gels appeared on some parts of the walls. In the summer of 2005, the viscous gels suddenly developed to form biofilms on the plaster walls. In the fall of 2005, small holes (ca. 10mm diam) with black substances inside became obvious on the plaster walls. Such holes might have been caused by the activity of microbes, especially by an acetic acid bacterium, *Gluconacetobacter* sp. (later identified as *G. tumulicola*), which had been isolated from one of the black substances from a hole in the ceiling. Dark colored fungi, such as the basidiomycetous fungus *Burgoa* sp. (later identified as *B. anomala*) characterized by bulbils and the anamorphic fungi *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) spp. characterized by darkly pigmented ameroconidia, were also detected inside the stone chamber.

In 2008, almost all of the paintings on the side walls and the star charts on the ceiling were relocated. By our survey in 2008, species of the fungal genera *Penicillium*, *Clonostachys*, *Cladosporium*, *Phialophora*, *Ophiostoma*, *Cylindrocarpon*, *Phialocephala* and *Trichoderma* were isolated from the samples collected from the stone chamber interior.

As some chemicals can be a nutrient source for growth of some microbes, measures such as intermittent UV irradiation were applied from March 2009 to 2013 in order to control microorganisms in the stone chamber interior. Growth of most fungal mycelia was suppressed effectively. However, dark/dematiaceous fungal species of genera such as *Acremonium* (sect. *Gliomastix*), *Phialophora*, *Cladophialophora*, *Arthrinum*, and *Exophiala* were often detected as predominant species. This suggests that those dark fungal species might have been dominant as relatively tolerant species to UV irradiation though signifi-

*TechnoSuruga Laboratory Co., Ltd.

²*TechnoSuruga Laboratory Co., Ltd., Chiba Branch Office

cant visible damage by such species was not observed. On the other hand, dark colored fungi, such as *Phialophora*, *Cladophialophora*, and *Exophiala*, were also isolated from the surface of the southern stone of the Tumulus where UV irradiation was not applied. Therefore, direct relationship between UV irradiation and detection of such species is not clear at present. Since *Phialophora*, *Cladophialophora*, and *Exophiala* were often isolated from stone surfaces, they may be considered as fungi that grow on stones. As some of these genera are known to be human pathogens, appropriate precautions are necessary to handle such biofilms in the tumulus environment.