

住環境由来真菌の付着および発育

Adhesion and growth of fungi isolated from indoor environment.

土肥 友恵 Tomoe DOI

1. はじめに

生活環境中にはさまざまな真菌がみられ、われわれの住環境を汚染しているものが多い。真菌汚染は見た目の悪さが著しく、真菌とアレルギーとの関連も指摘されているにもかかわらず、汚染の始まりである真菌の基質への付着、発芽などの発育や、光との関係についてはよく知られていない。

そこで、これらは真菌による住環境汚染を防御する際、重要な課題であると考え、「住環境由来真菌の付着および初期発育」、「住環境由来真菌の初期発育形態」、「住環境由来真菌に及ぼす光の影響」について検討した。

2. 材料および方法

2-1. 住環境由来真菌の付着および初期発育

2-1-1. 供試真菌

Aspergillus niger TSY-0763 および *Cladosporium sphaerospermum* TSY-0853 を供試真菌とした。これらは筆者らが住環境中から分離同定したものである。

2-1-2. 試験方法

1) 胞子付着試験

塩化ビニル板を供試試料とした。濃度 10^5 /ml の胞子液 900 ml に試料を入れ、200 rpm、10 分間攪拌の後、水道水で 5 分間洗い流した。これらの試料を顕微鏡観察にて面積当たりの胞子付着数を算出した。対照としてスライドガラスを使用した。

2) 発芽率測定および発育形態の観察

胞子付着試験後の試料を 25 °C、98 %RH および 84 %RH に置いた。1 週間毎に 4 週間後まで、付着した胞子の発芽率、菌糸の発育形態を観察し、各相対湿度での発育度を調べた。

2-2. 住環境由来真菌の初期発育形態

2-2-1. 供試真菌

Cladosporium cladosporioides TMC168, *Penicillium waksmanii* OUT260, *Alternaria alternata* TTF006, *Aspergillus niger* TTF021, *Trichoderma* sp. OUT724

2-2-2. 試験方法

4 cm×4 cm に切断した合板を供試試料とした。胞子液を供試試料に接種し、25 °C、94 %RH 以上に置いた。経時的に試料上の真菌を顕微鏡で観察した。また、二重蛍光染色法にて発育形態と活性を観察した。

2-3. 住環境由来真菌に及ぼす光の影響

2-3-1. 供試真菌

住環境中からよく分離される 24 真菌種 35 株を供試真菌とした。

2-3-2. 試験方法

1) 明暗の発育比較試験

前培養した供試真菌を平板培地に一点接種し、培地の全面に蛍光灯を照射した「明環境」、光を完全に遮断した「暗環境」で、25 °C で 5~10 日間培養した後、胞子産生性、色調などのコロニー性状を観察した。

2) 光の影響の確認試験

前培養した供試真菌を平板培地に一点接種し、培地の全面に光を照射した「全面照射」、光を遮断した「光遮断」、光を部分的に照射した「部分照射」の 3 条件で 25 °C で 3~11 日間培養した後、胞子産生性、色調などのコロニー性状を観察した。

3. 結果および考察

3-1. 住環境由来真菌の付着および初期発育

3-1-1. 胞子付着試験

胞子の塩化ビニル板への付着について調べたところ、胞子付着数の平均値は、*A. niger* は 29.5 /mm²、*C. sphaerospermum* は 16.8 /mm² であり、対照としたスライドガラスへの胞子付着数の平均値は、*A. niger* は 0.6 /mm²、*C. sphaerospermum* は 0.5 /mm² であった。スライドガラスよりも塩化ビニル板への付着数が明らかに多く、塩化ビニル板に胞子が付着しやすいことが確認された。

3-1-2. 発芽率測定

胞子を付着させた試料を 25 °C、98 %RH 以上および 84 %RH の条件下に置き、試料表面に付着した胞子の発芽率を求め、その経時的変化を Fig.1, 2 に示した。*A. niger* は 98 %RH 以上では 4 週間後には発芽率 16.2 %であったが、84 %RH では発芽はみられなかった。*C. sphaerospermum* は 98 %RH 以上では 3 週間後の発芽率は 61.6 %であったが、4 週間後にはほとんどの胞子が発芽し、さらに菌糸が伸長したため発芽率は測定不能となった。84 %RH では 4 週間後に 32.8 %の発芽率であった。

C. sphaerospermum は *A. niger* と比較して、低い相対湿度でも発芽が可能であり、これは住環境で *Cladosporium* による汚染が多くみられることと関係があると考えられる。発育条件である栄養分が乏しく、かつ相対湿度がある程度低い環境であっても、*C. sphaerospermum* は発芽および発育が可能であり、汚染を進めているものと考えられる。

3-1-3. 発育形態の観察

菌糸の発育形態を観察したところ、84 %RH では菌糸はほとんど分岐せず、98 %RH 以上では菌糸は一次分岐するものもみられた。高湿度条件では、胞子の活性が高くなるためによりエネルギーを必要とする一次分岐が可能であると考えられる。

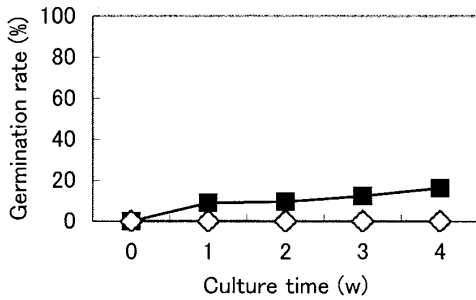


Fig.1. Germination rate of *Aspergillus niger* on polyvinyl chloride plates at 25°C, 98 %RH(■) and 84 %RH(◇).

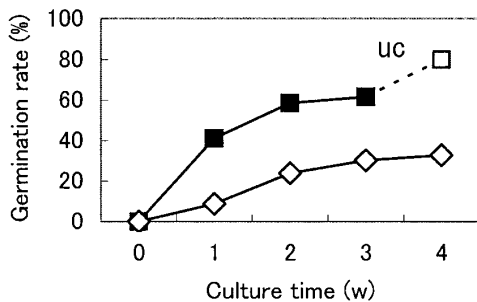


Fig.2. Germination rate of *Cladosporium sphaerospermum* on polyvinyl chloride plates at 25°C, 98 %RH(■) and 84 %RH(◇). ----□uc: uncountable because of hyphal growth of each conidia.

3-2. 住環境由来真菌の初期形態

3-2-1. 合板での発芽開始日数

合板に供試真菌を接種し 25 °C, 94 %RH 以上に置いた結果, 発芽には数日間を要した。ポテト・デキストロース寒天 (PDA) 培地では数時間で発芽を開始したのに対して, 合板では時間を要したが, 真菌種により差を認め, 特に *C. cladosporioides* の発芽開始は著しく速やかであった。これは, *Cladosporium* が住環境を汚染しやすい原因の一つであると考えられる。

3-2-2. 合板での初期発育像

菌糸形態は, PDA 培地上で観察されたような直線状のものではなく, 不規則な構造で合板の繊維の中に入り込んでおり, 汚染の重要な役割を果たしているといえる。また二重蛍光染色法では基質汚染した菌糸の強い発育活性が観察され, 汚染防止には早期の対策が必要であることが示唆された。

3-3. 住環境由来真菌に及ぼす光の影響

3-3-1. 明暗の発育比較試験

明環境と暗環境でのコロニー性状を観察したところ, 35 株中 24 株の発育に対して光の影響を認めた。光の影響を特に強く受けた真菌は, *Trichoderma*, *Phoma*, *Aureobasidium*, *Alternaria*, *Arthrinium* および *Epicoccum* などであった。光の影響を受けた真菌は共通して, 明環境での孢子産生性が高い傾向がみられた。光を遮断した環境でも真菌は孢子を産生するが, 光を照射することにより, 菌種に

よってはコロニー性状に著しい差を認めた。このことから光が真菌の孢子産生性などの発育に何らかの影響を及ぼすことが明らかとなった。

3-3-2. 光の影響の確認試験

全面照射, 部分照射, および光遮断条件下で真菌への光の影響を確認した。*A. alternata* は, 光を照射した部位は暗褐色の孢子が多量であり, 特に部分照射したものは照射部位のみで孢子を多量に産生していることがはっきりと観察された。光を遮断した部位は菌糸を多量に形成した。他の供試真菌でも同様に, 全面照射したものは孢子産生性が高いことが確認され, 部分照射したものは, 照射部位での孢子産生を認めた。真菌は光合成をしないが, 発育に対する光の影響は非常に大きいことが明らかとなった。

4. 総括

住環境由来真菌の付着および発育について検討したところ, 真菌の住環境における発育などの生物学的特性について一つの知見を得た。これは真菌汚染防御の観点からも重要であると思われる。今後は真菌の付着や発育のさらに詳しい性質や, 光だけでなく生活環境中のさまざまな要因が真菌へ及ぼす影響などを研究することが必要であろう。

謝辞

本研究を実施するにあたり国立医薬品食品衛生研究所 高鳥浩介先生, 衛生微生物研究センター 李憲俊先生のご指導, ご助言を得た。記して謝意を表す。

文献

- 1) 相原真紀, 田中辰明, 高鳥浩介, 防菌防黴, **28**, 421-426 (2000)
- 2) 高鳥浩介, 太田利子, 李憲俊, 秋山一男, 信田隆夫, 真菌誌, **35**, 409-414 (1994)
- 3) 渡辺正勝, 精密機械, **50**, 31-38 (1984)

発表状況

- 1) 「放射放熱器の銅管の抗菌性および効カビ性に関する研究」日本家政学会第 53 回大会研究発表要旨集, 240 (2001.5. 倉敷)
- 2) 「放射成分の多い放熱器における微生物の発育に関する研究」空気調和・衛生工学会学術講演会講演論文集, 1253-1256 (2001.9. 京都)
- 3) 「住環境中にみる真菌の発育初期活性」日本防菌防黴学会第 29 回年次大会, 152 (2002.5. 東京)
- 4) 「住環境にみる真菌の低温下での活性評価」日本家政学会第 54 回大会研究発表要旨集, 246 (2002.6. 東京)
- 5) 「光の真菌に及ぼす影響」空気調和・衛生工学会学術講演会学術講演会講演論文集, 1389-1392 (2002.9. 福岡)
- 6) 「住環境由来真菌の基質への付着および初期発育」日本防菌防黴学会 (投稿中)
- 7) "Einfluss von Licht auf Schimmelpilze" Gesundheitsingenieur" Oldenbourg Verlag, Muenchen (投稿中) (指導教官 田中辰明教授)