

第8回 菌類標本の作成・利用・管理

細矢 剛*, 保坂健太郎

独立行政法人国立科学博物館 植物研究部 〒305-0005 茨城県つくば市天久保 4-1-1

Preparation, utilization, and management of the fungal herbarium specimens

Tsuyoshi Hosoya and Kentaro Hosaka

Department of Botany, National Museum of Nature and Science, 4-1-1 Amakubo, Tsukuba, Ibaraki 305-0005, Japan

1. はじめに

ある生物が存在することを客観的に証明するためには標本は必須である。標本とは、データが付されたさまざまな生物や鉱物資料であり、問題の生物の存在を証明する物的証拠（証拠標本 voucher specimen）であるとともに、未記載・未記録の生物を記載する上で基準や証拠となるものである。新種の記載の際に引用された標本はタイプ標本とよばれ、それ以外の標本とは一線を隔した価値を持っている。標本は、通常は標本庫にて維持管理されている。博物館や植物園ではさまざまな様態の標本を維持・管理しており、研究者のリクエストに応じてその貸し借りなどの管理を行っている（国立科学博物館編, 2003）。証拠標本としての標本の価値は、菌株保存施設における菌株、すなわち「生きた菌」に対比される。たとえば、多くの子囊菌類や担子菌類など、いわゆるきのこを形成する菌類の一部は培養すると不稔の菌糸しか形成しなくなるため、それだけでは菌類の形態を知ることはできない。したがって、標本は菌株と相補的な意味を持ち、菌類の利用を推進する上では、菌株を維持するばかりでなく、標本を維持することも重要となる。本稿では、このような標本の作成・利用・管理についての方法を、国立科学博物館の菌類標本庫（以下、当標本庫）における実施例を基に紹介する。なお、当標本庫における管理方法は、試行錯誤によって確立しつつあるもので、将来よりよい方法に変更することは十分ある。また、標本の管理体制は標本庫によって異なるものであり、

本稿に掲載されている方法は、その一例としてご理解いただきたい。

2. 標本と菌株

菌を生かした状態で維持することを目的にした「菌株」に対し、その形態をとどめるため、「標本」では基本的には菌を殺す。研究者の中には、生かした生物も標本として扱うべきとの意見をお持ちの方もいるようだが、形態を維持する目的からすると、筆者らは標本は植物命名規約で定められている通り、死んでいるか、形態が変化しない不活性な状態に保たれる必要があると考えている（日本植物分類学会国際植物命名規約邦訳委員会訳, 2007）。標本は、菌株と対をなすばかりでなく、菌株と相補する価値を持つものであるが、その管理上の特徴においては相対する性質が多い（表1）。多くの場合、一定の期間に収集される標本数は菌株のそれを上回るが、それはメンテナンスのコストが低いことも関係ある。菌株は分譲によって理論上無限に等質のコピーができるのに対し、標本は複製することは不可能で、一部の顕鏡や抽出などによって使用されれば、それだけ減少する。メンテナンスの上でも、菌株は複数のコピーを作成したり、別な保存方法や別な場所で管理してリスク分散が可能であるのに対し、

表1 管理面からみた菌株と標本の比較

	菌株	標本
増加	少ない	多い
メンテナンスコスト	高い	低い
複製可能性	ある	ない
メンテナンスリスク	高い	低い～高い
規格化	比較的容易	困難な場合がある

* Corresponding author

E-mail: hosoya@kahaku.go.jp

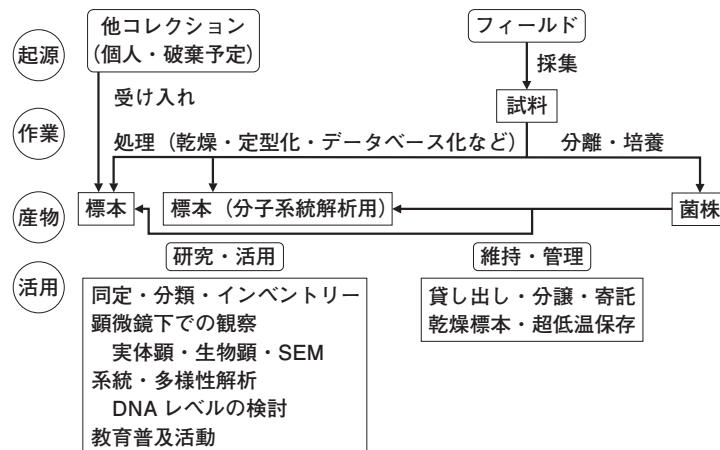


図1 標本の起源から利用までの流れ

自然界から得られた試料は整形され、データが付与されて標本となる。試料から得られた菌株の一部も標本として利用される。標本の一部は、分子系統学的利用を考慮して別途保存される。

標本は物理的に分割しなければ複数場所での管理はできない。管理面でもっとも重要なのは、対象の様態である。菌株は保存容器を統一することによって、管理対象を容易に規格化できる。これに対し、標本にはさまざまな様態（標本の状態や、保存されている標本の形）があり、統一的な管理は容易ではない。以上のように、標本の管理は、菌株の管理とさまざまな面に対比される性質がある。

3. 標本の作成

図1には、標本の由来（起源）、標本化および利用の過程を示した。多くの場合、標本は研究者の自助努力によって採集された試料を整形したり、適切な収容器（紙袋、箱など）に収容することによって作製される（図2）。菌類の標本は、作製の方法によって、乾燥標本、液浸標本に大別される。前者は熱風、冷風、凍結乾燥などの方法によって標本を乾燥したもの、後者は、さまざまな保存液中に標本を浸したもので、保存液としてはアルコールや、ホルマリン（5-10%）が使用される。ゼラチン質や肉質などの部分が多いきのこの外形をとどめるには、液浸標本が適していることが多い。いずれの標本でも、生時の形態（外形・微小形態）を維持するのがよい方法とされるが、作製法には一長一短があり、すべての面で新鮮時の形態を完璧な形で維持した標本作製することは現在では不可能である。また、菌類によっても、その成長段階によっても、作製法には適・不適がある。微小なきのこやカビなどの顕微鏡的構造を観察する上では、冷風乾燥や

温風乾燥がもっとも簡単であるとともに、適しており、大型のきのこの外形を維持する上では凍結乾燥法が適していることが多いが、実際には機器の必要性から温風乾燥がなされることが多い。なお、時間をかけすぎると菌体内のDNA分解酵素などが作用したり、あまり高温（70℃以上）で乾燥するとDNAが分解するなど悪影響があるといわれており、後に標本からDNAを抽出することを考えた場合には、すばやく、低温（60℃以下）で乾燥するのがよいとされている。

4. 標本の管理

1) 様態からみた標本の分類

菌類の標本の多くは植物標本に比べると小型であるか、大型のものでも切り分けることによって小型化できることが多い。植物に発生した標本は、植物標本の要領で押し葉にしたり、乾燥したりすることができる。あまり立体的でない場合には、多くの場合には紙を折ってできた封筒（ポケット）に入れられる（ポケット型標本）。このような標本は、それぞれをカードのように扱い、並べ替えたりすることが簡単である。また、ポケット型標本はより大型の台紙に貼ってさく葉標本のように管理することもある。立体的な構造を維持するためには箱に入れるが（箱型標本）、箱の大きさによっては、並び替えなどの維持管理は容易ではないこともあり、注意を要する。当標本庫では、標本の様態（フォーマット）をポケット型（P）、紙箱型（小）（B）、紙箱型（大）（C）、さく葉型（R）、液浸（L）に分類している（図2）。標本庫によっては、さまざま

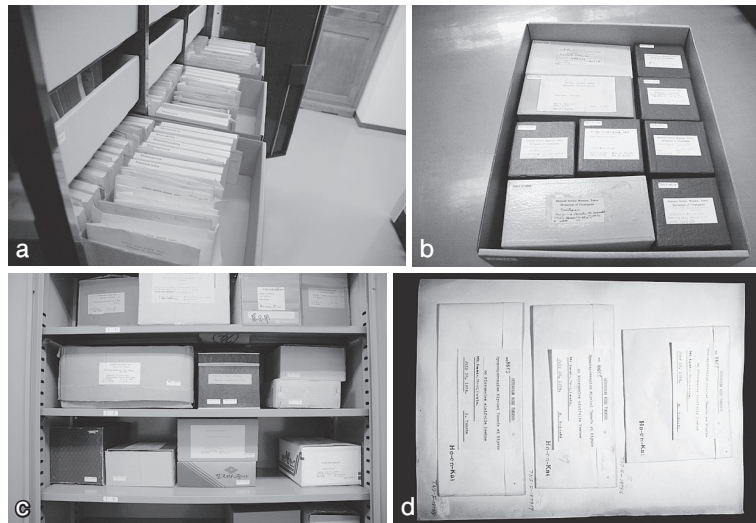


図2 さまざまな標本の様態

a: パケット型, b: 紙箱, c: 大型の紙箱, d: さく葉型 (パケットが台紙に貼付されたもの)

まな理由で手放された一連のコレクションを受け入れることがあり (図1), これらの様態は, 標本庫が定めた規格とは異なる場合も多い.

2) 価値からみた標本の分類

標本は, その価値の点からも分類できる. 標本庫においてはタイプ標本 (新種の記載に引用された標本) は, もっとも重要とされ, 管理場所なども別 (耐火保存庫に入れ, 施錠するなど) にされることが多い. タイプ標本には, ホロタイプ, アイソタイプ, シンタイプ, パラタイプなどの種類があり, 国際植物命名規約によって規定されている. このほか, 特殊な標本としてはエキシカータ (Exsiccata. 何らかのテーマによってまとめられ, 複数部が出版物として発行される標本のセット) があり, 標本の価値が高いと考えられる. 当標本庫では, 標本をタイプ標本 (T), 一般標本 (G), エキシカータとコレクション (E) の3つの系列 (series) に分類している.

3) 標本の配架

標本庫における標本は, 図書館における書物と対比される. しかし, 図書は比較的形がそろっているのに対し, 上述のように標本にはさまざまな形があり, その配架は容易ではない. 多くの場合, 標本には固有の番号が与えられているが, 単一の数字ではなく, 個人の管理コードがそのまま利用されている場合も多い (たとえば, TH-1234, KH-JP-2008/456 など). 管理

上のメリットがもっとも高いのは, 標本にユニークな単一の番号を与えることであり, 当標本庫では菌類標本には, TNS-F- という識別コードの後に標本ごとにユニークな数字が付される.

もっとも単純で分かりやすい標本の並べ方は番号順や学名 (アルファベット順) であろう. しかし, 標本の中には, 箱型 (B, C) のように並べ替えが難しいものもあるし, さく葉型 (R) のように複数の番号の標本が一つの台紙に貼付されている標本がコレクションとして受け入れられる場合もあり, 番号による配架位置の管理を難しくしている. 当標本庫には10万点を超える標本が登録されており, それらの大部分 (様態=P, B, R) は約7,000個の紙製の引き出しに, 大型の標本 (様態=C) や液浸標本はロッカーに収容されている. 標本庫に求められるもっとも重要なことは「見つけやすく, 間違えなく戻せる」ことである. そのためには, できる限り配架規則を単純にする必要がある. 当標本庫では, 標本の様態と系列によって, アルファベット順と, アドレス管理の2つの方法によって標本の配架位置を管理している (表2). もっとも多数を占めるパケット型 (P) の一般標本 (G) は, 菌類の上位分類 (鞭毛菌類・接合菌類・子囊菌類・担子菌類・不完全菌類に加え, 分類不明, 未同定) に分類され, その内部を学名のアルファベット順で配架し, 同一学名の場合は, 番号順としている (分類不明, 未同定は番号順). ただし, 担子菌類は標本数が多いため, さらにさび菌類, くるぼ菌類, ヒダナシタケ類, その

表2 標本の配架規則

様態 (系列)	タイプ (T)	一般 (G)	エキシカータとコレクション (E)
P (バケツ)	アルファベット順		アドレス管理
B (紙箱・小)			
C (紙箱・大)			
R (さく葉型)	—	—	
L (液浸)	アドレス管理		—

他の担子菌類の4群に分けてその内部をアルファベット順としている。属レベルしか与えられていない標本は、各属の最後に番号順に配架している。科以上の分類しか与えられていないものも、アルファベット順であるが、これらについてはそれぞれの上位分類の中に「科以上の分類しか与えられていないもの」のコーナーを作って同様に対応している。菌類には属名が多いため、どの属がどの分類群であるかを間違えないように、分かりやすくする必要があるので、当標本庫では、保有しているすべての属の上位分類を記した「辞書」を整備している。一方、保管場所（アドレス）を管理している標本は、その収容位置（棚および引き出し）にユニークな番号を与えており、そこに標本を収容している。一つの引き出しの中に収められる標本箱の数はせいぜい数個から30個以下なので、引き出しまでたどれれば、容易に捜すことができる。

4) 標本の保守

乾燥標本を維持する上でもっとも大きな問題は虫とカビである。いずれも標本庫を低温・低湿度に維持することで被害を避けられるが、コストの面から難しいことも多い。そのため、標本庫を定期的に薫蒸して標本を維持している。その他、昆虫の忌避剤であるナフタレンなども使用する。薫蒸にはピレスロイド系薬剤が使用されることが多い。また、一定期間での低温保存（-20℃、数日から2週間など）も虫卵を殺すなど、殺虫効果がある（園田，2004）。

液浸標本の場合、薫蒸は不要だが、保存液は蒸発するため（特にアルコール）、定期的に交換・追加することが必要である。ホルマリンの場合、保存液の表面に流動パラフィンを重ねし、観察時に除去するようにすると管理の手間が省ける。その場合、標本の利用時には、水でなくオイルを特異的に吸収するオイルソープシート（スリーエムヘルスケア株式会社など）を利用して流動パラフィンを除去する必要がある。

5) 分子系統学的研究のための標本

近年は、分子系統学的研究の目的で、標本の一部を破壊しDNA抽出することも多くなってきた。通常の乾燥標本や液浸標本からDNAを得ることも可能であるが、その後の解析には不十分な質・量のDNAしか残っていないことも多い。これは標本の乾燥の仕方や、その後の保管条件（湿度や温度）、燻蒸剤の種類、保管期間などがDNA分子の状態に大きな影響を持つためである。そのため、DNAを安定な状態に保存した分子系統解析用標本が配慮されるようになった。このためには、菌糸体や子実体の一部をそのまま、水あるいは緩衝液中に入れて、あるいは凍結乾燥してクライオチューブ中で超低温保存（-80℃以下）することが多い。代表的な緩衝液組成は、20% DMSO 溶液 (Seutin *et al.*, 1991), 2X CTAB 緩衝液: hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB) 4.0 g, 100 mM Tris pH 8, 20 mM EDTA, 1.4 M NaCl や 2% sodium dodecyl sulfate (SDS) であり、これ以外にも 100% エタノールやアセトン (Fukatsu, 1999) などいろいろな組成の DNA 保存用の保存液がある。いずれも、菌類組織を数か月保管する程度であれば、常温下でも DNA の質にはほとんど影響はない。また、DNA を吸着する繊維と各種の薬品（タンパク質変性作用のあるものなど）で構成された FTA カード（ワットマン）に組織の一部（きのこのヒダなど）を強く擦り付け、組織液を吸収させる方法も有効であることが多い。これらの標本は、上に述べた標本とは異なる場所で必要に応じて冷蔵・凍結などをされて保管される。国立科学博物館においては、館内の分子生物学研究資料センターがその任にあっている。なお、DNA 抽出用の標本については、それに加え、証拠標本を乾燥または液浸標本として残しておくことが最低限必要である。

6) データベース

標本の管理と利用を進める上でもっとも重要なのはデータベースの整備である。データベースで管理する項目を設定する上では一般的なデータベースの常識に

表3 データベースの主要なフィールド一覧と概要

No.	フィールド	データ形式	内容
1	ID	Auto Num	データベースが自動的に与えてくれるレコード番号 (自動採番).
2	Check1	Y/N	選択に使用するユーティリティーフィールド.
3	Check2	Y/N	選択に使用するユーティリティーフィールド.
4	Select	Text	
5	Flag	Text	
6	Format	Text	標本の様態.
7	Series	Text	標本の系列.
8	Adrs1	Text	標本の管理位置.
9	Adrs2	Text	標本の管理位置.
10	Process	Text	標本の作製過程 (温風, 冷風, 凍結乾燥など).
11	RegDate	Date	登録日.
12	RegBy	Text	登録者.
13	LastUpdated	Date	編集日.
14	EdBy	Text	データ編集者.
15	Discl	Text	公開可否. 1=公開, 0=非公開. 2=限定付き公開.
16	UndisclReason	Text	非公開の理由.
17	DisclDate	Date	非公開限定日 (非公開の場合に使用).
18	Dupl	Num	標本数 duplication の数 (本体を含む); 本体のみなら 1.
19	TNSF	Num	登録番号. 標本ごとにユニークな番号が与えられる.
20	Genus	Text	属名.
21	SpEpithet	Text	種小名.
22	SpAuthor	Text	オリジナルデータの種小名著者.
23	IFAuthor	Text	IndexFungorum から求めた著者名.
24	ISRank1	Text	種内ランク 1 (var. forma など).
25	ISEpithet1	Text	種内種形容語 1.
26	ISAuthor1	Text	種内分類群命名者 1.
27	ISRank2	Text	種内ランク 2 (forma, f.sp. など).
28	ISEpithet2	Text	種内種形容語 2.
29	ISAuthor2	Text	種内分類群命名者 2.
30	IdenQ	Text	同定 status. ...cf, aff. など.
31	Validity	Text	学名の正しさについてのコメント.
32	Wamei	Text	和名.
33	SecondaryElements	Text	副次要素.
34	OriCountry	Text	採集国名 (一次要素).
35	OriSiteJ	Text	採集地の一次情報 (和文・漢字表記の場合).
36	OriSiteE	Text	採集地の一次情報 (英文の場合).
37	SiteJCountry	Text	国名 (二次情報).
38	SiteJDistrict	Text	地方区分.
39	SiteJProv	Text	旧国名.
40	SiteJPref	Text	県名.
41	SiteJCnty	Text	郡.
42	SiteJTown	Text	市町村.
43	SiteJAza	Text	字・区以下.
44	SiteJNatLoc	Text	自然地名.
45	SiteJIsl	Text	島名.
46	LatNS	Text	北緯・南緯.
47	LatD	Num	緯度 (度).
48	LatM	Num	緯度 (分).
49	LatS	Num	緯度 (秒).
54	MinElev	Num	最低高度.
55	MaxElev	Num	最高高度.
56	ElevUnit	Text	高度の単位. ラベル内容にしたがって入力する. m=meter; ft=feet.
57	OriDate	Text	採集日の一次情報. オリジナルの記載をそのまま写す.
58	Year	Num	採集年.
59	Month	Num	採集月.
60	Day	Num	採集日.
61	OriHabitat	Text	採集環境 (基質).
62	Substrate	Text	ホストが特定できない場合の基質名.

これらのフィールドについては、英文の項目もある。

経度についても同様。

表3 データベースの主要なフィールド一覧と概要 (続き)

No.	フィールド	データ形式	内容
63	HostE	Text	ホスト学名 (二次情報).
64	HostJ	Text	ホスト和名 (二次情報).
65	ColJ	Text	採集者名 (漢字表記).
66	ColE	Text	採集者名 (英文表記).
67	DetJ	Text	同定者名 (漢字表記).
68	DetE	Text	同定者名 (英文表記).
69	Donor	Text	寄贈者 (和英).
70	NomenStatus	Text	タイプ標本の場合, タイプの種別.
71	OrigHerb	Text	オリジナルの標本管理コード 1.
72	OrigNo	Text	オリジナルの標本管理コード 2.
73	NotesOri	Memo	備考 (一次情報).
74	NotesOpenedJ	Memo	NotesOri から誘導される公開可能な情報 (和文).
75	NotesOpenedE	Memo	NotesOri から誘導される公開可能な情報 (英文).
76	NotesClosed	Memo	NotesOri から誘導される公開不可能な情報.
77	Memo	Memo	標本管理上のメモ.

加え、次にあげるような点が重要である。①一次情報と二次情報は別にして扱う (特に地名について、できれば、ラベルの画像データが保存されているとなおよい)。②分けられる項目は分ける (採集年月日は年・月・日に分ける, 学名は属名, 種小名, 著者名, …のように分ける, など)。③形式をそろえて入力する (細矢剛, 細矢 剛, ホソヤ ツヨシのような入力はタブー, どれかに統一する, 英数字はすべて半角とする, など)。④数字と文字の区別を明確にする (たとえば, 標本番号を数字と設定したら, 複数の標本を同一番号で管理しようとする場合, 1234a, 1234b のような与え方は基本的には避ける。そのような場合は, 枝コードを別なフィールドとして用意するべきである)。このような原則は, データを解析したり, 利用したりする上ではきわめて重要である。たとえば, 地名に「東京」や「東京都」があれば, 同じ地名でもデータとしては2つにカウントされる。そこで, 一次情報にはラベル通り「Tokyo」「東京」「東京都」などと入力し, 二次情報として「東京都」を導出することが必要である。参考までに, 当標本庫で管理されているデータフォーマットの主要部分を示す (表3)。標本のラベルのオリジナル情報を大切にすることで重要なフィールドと, 標本の保守管理をするために必要なフィールドが多数あることが特徴である。標本によっては, 2つ以上の菌要素が同一の標本上に存在する場合がある。しかし, アルファベット順に並べる上では2つの菌名を同時に扱うのは不可能なので, どちらかを選び, 他方を「副次要素」として管理できるようにフィールドを付け加えている。また, 関連するデータを別途データベースとして準備し, これらを相互参照できるような形のリレーショナルデータベースとしている (図3)。現在,

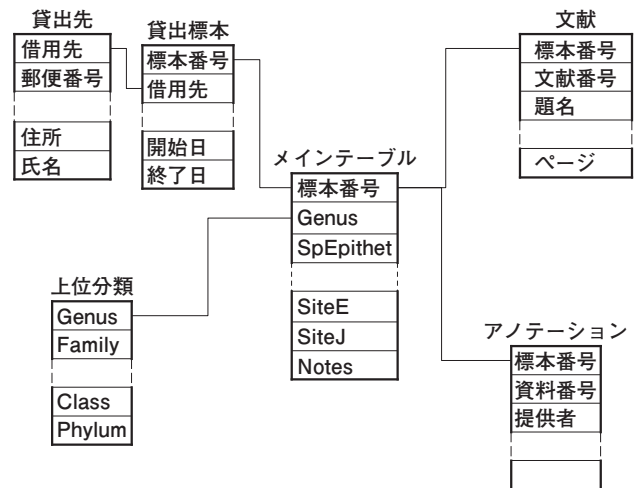


図3 リレーショナルデータベースの概要

標本データベースを中心としたさまざまなデータベースがあり, 相互に利用される。

その成果の一部はホームページで公開されている (<http://svrsh2.kahaku.go.jp/fungal/>)。

以上によって整理された標本庫から必要な標本を取り出すには必ずコンピュータの助けが必要になる。求める菌の標本の学名を入力することにより, その標本の様態, アドレスなどが表示される。そして, その情報に基づいて, 標本が取り出される。コンピュータが存在しなかった昔には, このようなことは想定できなかったが, 今後はコンピュータの助けのない検索は考えられない。

さらに, 標本ラベルデータを印字したり, 標本の貸出を管理するアプリケーションを作成すると, 作業能率が向上する。これらの業務には市販のデータベース

(Microsoft Access や FileMaker など) で十分に対応できる。

なお、地球規模生物多様性情報機構 (Global Biodiversity Information Facility; GBIF; <http://www.gbif.org/>) などの国際プロジェクトでは、地球規模で生物多様性を理解するため標本情報を集積し、公開している。その際には DarwinCore と呼ばれるデータ項目の一覧 (http://gbif.ddbj.nig.ac.jp/gbif_search/darwincore.html) が標準となる。将来はこれを事実上の国際標準として、データベースが構築されていくものと考えられ、新たなデータベースの構築の際には、参照することが望ましい。なお、当標本庫のデータベースは、DarwinCore で扱われている項目を網羅している。

5. 標本の利用

1) 標本の貸し借り

機関どうしの貸し借りとなるもので、研究者個人への貸し出しは行わないのが通常である。機関の責任者や、担当キュレーターに正式には手紙で申し込む。なお、標本の貸し出し日数は機関によって決められており、それを上回って借用している研究者がある機関は、その機関の他の研究者からの依頼が断られることもあるため、借用期限は厳守する。また、貸し借りの手続きは機関によって決められている (土居, 1989)。

2) 分子系統学的目的での標本の利用

防虫目的の薫蒸を行わない欧米の標本庫からの標本は、通常の乾燥標本であっても、かなり古い標本から DNA を得ることができる場合がある。これに対し、日本の標本庫の場合は、特に古い標本は薫蒸処理に使用された薬剤によっては DNA が断片化していることが多く、その場合良質の DNA を回収することは難しい。分子系統解析を目的としている場合、別途許可が必要となる場合があるため、借り受けた標本から無断で DNA を抽出することは控え、事前にキュレーターに許可を得るべきである。また、そのことによって、分子系統学的目的のために保存された標本が入手できる場合もある。成果を発表する際には、標本庫の名前を論文中の謝辞に盛り込み、標本庫へ出版物の別刷りを送る、などの事後手続きも必要である。

6. おわりに

博物館の標本庫は宝の山だといわれる。たとえば最近の研究によれば、標本庫に保管されている菌類標本の遺伝的多様性の 7 割程度は、いまだに GenBank に

も登録されていない、未知のものであるという (Brock *et al.*, 2009)。しかし、整理されていなければ活用も利用も難しい。標本の管理という作業は、報告書で読めば 1 行で済んでしまうような単純作業かも知れないが、時間がかかる上に、標本を活用する上ではきわめて重要なことである。そして、情報のデータベース化が標本の活用を可能にしつつある。現在、日本では日本産の菌類の総目録 (インベントリ) 作りが進んでいる。目録そのものは情報だが、その情報の根拠となるのは標本である。よって、標本を保存することは、信頼のおける目録を作る上での前提条件となる。将来はこの目録もデータベース化されることであろう。そうなれば、日本既知の菌類の存在は標本でどの程度裏づけられるのか、正確に把握でき、インベントリを標本で証拠づけられるようになるばかりでなく、未収集の標本をいかにして収集するべきか (どの地域から、どのグループを)、戦略的に検討することができるようになる日も近いことであろう (細矢, 2006a, b)。さらに、標本に由来する DNA や菌株を別途保存することによって、菌類の多様性に関する研究は飛躍的に進歩するものと考えられ (細矢, 2006a)、日本における菌類多様性研究へのますますの貢献が期待される。

文献

- Brock, P.M., Döring, H. & Bidartondo, M.I. 2009. How to know unknown fungi: the role of a herbarium. *New Phytologist* **181**: 719-724.
- 土居祥兌 1989. キノコ・カビの生態と観察増補改訂版, 築地書館, 東京.
- Fukatsu, T. 1999. Acetone preservation: a practical technique for molecular analysis. *Molecular Ecology* **8**: 1935-1945.
- 細矢 剛 2006a. 日本産菌のタイプ標本および標本データベースの構築と世界発信. *日菌報* **47**(S): 72-73.
- 細矢 剛 2006b. 菌類標本庫の再整理とデータベース化. *国立科学博物館ニュース* **449**: 26-29.
- 国立科学博物館 (編) 2003. 標本学: 自然史標本の収集と管理, 東海大学出版会, 秦野.
- 日本植物分類学会国際植物命名規約邦訳委員会訳 2007. 国際植物命名規約 (ウィーン規約) 日本語版, 日本植物分類学会, 上越.
- Seutin, G., White, B.N. & Boag, P.T. 1991. Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analyses. *Can. J. Zool.* **69**: 82-90.
- 園田直子 2004. 博物館と虫害対策. *歴博* **123**: 11-14. (担当編集委員: 岡根 泉)