

## 海洋の極限環境に生息する難培養微生物の生理生態的研究

中川 聡 (京大・院農)

地球表面積の7割を占める海洋の平均水深は約3,800mにも達する。海洋のほとんどは暗黒・低温・高圧の深海であり、そこは生命の気配に乏しい砂漠のような環境である。だが、1977年に東太平洋で発見された深海底熱水活動域は、熱帯雨林に匹敵するほどの生産力をほこる。現場には、特定の微生物(群)と強固な共生関係を築く多様な無脊椎動物が高密度に棲息している。共生微生物は噴出熱水中の化学成分をエネルギー源とし、宿主生物のほぼ全ての栄養を賄っている。発見当時、本生態系は局所的かつ特殊な現象と位置づけられたが、現在までに500を超える深海底熱水活動域が世界中で発見されており、さらに未発見の熱水活動域がその数倍存在すると見積もられている。

深海への科学的アクセスの機会は限られるが、私は幸運にも在学中の2002年より、海洋研究開発機構(当時は海洋科学技術センター)の研究生として、高井研博士・稲垣史生博士から指導を受ける機会を得た。以来、深海底熱水活動域や海底下深部等の極限環境における生態系を主たる研究対象とし、現場に棲息する難培養微生物、特に化学合成(共生)微生物の進化や生理生態に興味を持ち研究を行ってきた。今回、第三回日本微生物生態学会奨励賞を頂いたのはひとえに関係者の皆様のおかげであり、心より感謝している。これまで国内外の陸上・船上で知り合った研究者、調査船クルーや学生さんなどの顔を思い浮かべると、とてつもない運に恵まれていることには我ながら驚くばかりである。

深海底熱水活動域に特異な微生物共生系が発見されて40年。他の微生物共生系と比べると、その研究は大きく遅れているが、近年の海洋探査技術やオミクス研究技術の進歩により、例えば深海底熱水活動域に固有の共生微生物が、ヒトに蔓延する病原性微生物の祖先的性質を有するといった意外な知見がもたらされている。深海の共生系と様々な共生系を対比することにより、病原性微生物を含む様々な微生物-大型生物の相互作用を包括的に理解するだけでなく、応用展開するエキサイティングな時代を迎えつつあると感じる。

本発表では、深海底熱水活動域に優占して棲息する微生物を中心に、その多様性や生理・生態、生存戦略や進化、我々との関わりについて議論したい。

## 植物内生放線菌を用いたキャベツセル苗黒すす病の生物防除

清水将文（岐阜大・応生科）

キャベツの栽培現場では、セル成型育苗方式による子苗の生産が広く普及している。その理由としては、生育の揃った均質な苗を大量生産できる、育苗にかかる労働時間やコストを低減できる、などが挙げられる。一方で、種子伝染性病原菌による被害を受けやすいという難点があり、種子伝染性病害の蔓延を如何に防ぐかが重要な課題となっている。キャベツセル苗に発生する種子伝染性病害の中で最も重要な病害は、*Alternaria brassicicola*による黒すす病である。黒すす病菌を保菌した種子をセル育苗培土に播種すると、発芽前あるいは発芽直後の苗腐敗や発芽苗の立枯れが生じるとともに、罹病苗上に形成された多量の分生胞子が上部灌水などで周囲の健全苗にも飛散し、短期間のうちに感染が拡大してしまう。黒すす病にはポリオキシシン剤が有効であり、同病防除剤として唯一登録されている。しかし、ポリオキシシン剤だけに防除を頼っていると、耐性病原菌が発生してしまう恐れが高いため、黒すす病防除対策の充実が必要と考えられた。

そこで我々は、黒すす病に対する生物防除法の開発を目指し、生物防除エージェントの探索を行った。その結果、圃場生育のキャベツから分離した放線菌の中に優れた黒すす病防除能をもった菌株 (*Streptomyces* sp. MBCN152-1) を見出した。MBCN152-1株を混和した培土で育苗したキャベツ苗では、噴霧接種した黒すす病菌による発病が顕著に抑制された。さらに、MBCN152-1株混和培土に黒すす病菌保菌種子を播種した場合も発病が顕著に抑制されたことから、黒すす病の一次伝染および二次伝染の両方に対して有効な菌株であることが確認された。MBCN152-1株は、キャベツ苗の表面に定着するとともに、表皮細胞内部にも菌糸を伸展して定着できる内生放線菌であった。同菌株の防除機構を調べたところ、キャベツ苗表面で黒すす病菌の菌糸に寄生し、苗への感染を抑制していることが明らかとなった。

## 水銀耐性微生物が持つ特殊能力の解明とその環境バイオ技術への活用に関する研究

遠藤銀朗（東北学院大・工学総合研）

水銀等の有害無機物質による水質汚濁や土壌汚染は、20世紀以降になって頻発するようになった環境問題である。かつては先進工業国において多くの汚染事例が見られたが、近年は新興国や開発途上国において深刻な有害無機物質による環境汚染事例が見られるようになってきている。また、大気や海洋に広く拡散した低濃度有害無機物質に対する呼吸や摂食を通じた長期曝露が問題視されるようになってきている。このような環境汚染問題を解決するために、演者はこれまで水銀等の有害無機物質によって汚染された環境を修復すると同時に、廃水や廃棄物からそれらの汚染物質を除去し、微量であっても環境に放出させないための技術として、バイオテクノロジーを活用する研究を行ってきた。本講演では、時間の都合上、演者がこれまで行ってきた上記の研究のうち、水銀耐性微生物による水銀化合物分解および水銀イオンの還元能力や吸着能力の解明と、そのような特殊能力を用いた環境バイオテクノロジーの開発に関する研究で得られた成果に限定して述べさせていただく。

微生物の水銀耐性やその要因となる水銀耐性遺伝子に関する研究は、これまで演者以外にも何人かの研究者によって研究がなされてきた。演者らも含めて明らかにできた微生物による水銀耐性のメカニズムは、微生物細胞内で水銀化合物を最終的に金属水銀に変換して細胞から気化排出するか、水銀を細胞表面で吸着捕捉し細胞質内に入らないようにすることによって耐性を獲得しているということである。そして、それらの微生物はその水銀変換能の要因となる水銀耐性オペロン(*mer*オペロン)と呼ばれる一連の遺伝子クラスターを持つか、あるいは高い水銀結合能を有する細胞外高分子を生産する能力を持つことを明らかにできた。また、演者らは微生物生態学的観点からの水銀耐性遺伝子に注目してその地域のおよび地球的な規模での遺伝子の拡散を調べた。その結果、トランスポゾンによる水銀耐性遺伝子の伝播と染色体への組み込み・安定化が、地球上における微生物種間での遺伝子の拡散に重要な役割を果たしているという知見を得ることができた。

上記の研究の成果を踏まえて、演者らはこれまでいくつかの水銀除去用バイオ技術について提案を行ってきた。本講演では、水銀によって汚染された水の浄化に有効と考えられる、いくつかのバイオリクターやバイオプロセスについても紹介する。

## 菌根性きのこの生物学的基礎研究～タマゴタケを例に分類、生態、菌糸体培養法について～

遠藤直樹（鳥取大・農）

菌根性きのこは、生きた樹木と菌根を形成し、共生するきのこ類である。本菌群は、マツタケやトリュフを筆頭に、食用価値の高い野生きのこ類の多くを含んでおり、栽培化も望まれている。しかし、菌根性きのこはその大半が難培養性種であり、有効な純粋培養法が確立されておらず、生理・生態が未解明である。そのような分類群では、交配試験に基づく生物学的種の検討も困難なため、隠蔽種の存在に代表される分類学的な問題も多く抱えている。そこで本講演では、演者がこれまで研究対象としてきた菌根性担子菌タマゴタケを例に、菌根性きのこの分類、生態、および培養における問題点とそれらの解決に向けた一連の基礎研究について紹介する。タマゴタケは欧州に分布する近縁種 *Amanita caesarea* とともに「皇帝のきのこ」と呼ばれて食用にされている。本種の学名は過去に *A. caesarea* や *A. hemibapha* とされてきた歴史があり、また *A. caesareoides* ではないかと主張する研究者もいるなど、十分な決着がついていなかった。そこで本研究ではまず、国内産標本と *A. hemibapha* や *A. caesareoides* のタイプ標本を比較検討した。その結果、タマゴタケは形態学的・分子系統学的に *A. hemibapha* とは異なり、*A. caesareoides* とは一致した。ゆえに、タマゴタケの学名は *A. caesareoides* とするのが妥当であると結論づけられた。次に、本種の基本的生態を把握するため、自然宿主と菌根形態を調査した。長野県の2地点と千葉県での1地点にて、本種子実体直下の根系を精査した結果、本種はアカマツ、ウラジロモミ、およびスダジイと菌根形成していた。本種の菌根の形態的特徴は宿主植物間で共通しており、菌鞘の偽柔組織構造や中央に太い菌糸を有する菌糸束、および菌糸先端の厚壁細胞が見られた。続いて、本種の遺伝資源を保存し、培養菌糸体の生理的特性を解明するため、分離培養を試みた。組織分離の結果、本種はMNC寒天培地を用いることで分離でき、菌株を確立することができた。本培地を用いることで、本種は菌根からの分離も可能であった。最後に、本種が外生菌根性であることを実験的に証明するため、分離株をアカマツ無菌実生根系に接種し、*in vitro* で二員培養（菌根合成）した結果、本種は菌鞘とハルティヒネットを有する典型的な外生菌根を形成した。

## 藻類バイオマスエネルギー研究開発の新展開

渡邊 信（筑波大・藻類バイオマス・エネルギーシステム開発研）

微細藻類は陸上植物と同様に酸素発生型光合成をおこない、CO<sub>2</sub>を固定し、さまざまな機能を持つ成分を生産するが、食料生産と競合しない、オイル生産性が高い、海水でも増殖する種が多いなど、陸上植物にはない利点があることで、エネルギー開発分野で注目されてきた微生物である。

最初に藻類がエネルギー分野で注目されたのは1970年代におこった第一次石油ショック後で、米国では1978年～1996年まで18年におよぶ藻類バイオディーゼル研究開発プロジェクトを推進した。1998年にその報告書がでていたが、最後に「この報告は終了したものではなく、はじまりとして見てほしい。時が来れば、藻類が将来の燃料や化学品原料として、再び日の目を見る。この報告で明確になったものは、将来の取り組みの知的基盤となる」と謳った。その時は以外に早く、2007年にやってきた。藻類燃料の実用化にむけた大型プロジェクトが各国で展開され、日本でもJSTやNEDOおよびMAFFの予算で藻類燃料開発研究が実施されている。ただし、昨今、藻類燃料の実用化は2030年以降とされたことで、燃料ブームは薄らぎはじめてきている。

このような中で、藻類バイオマスエネルギー研究開発は新たな局面をむかえている。藻類バイオマスの大量生産技術については、これまでの研究開発により、消費エネルギー・コスト低減の観点から最適化が進んでいるが、藻類の特性、地域の特性等に応じた生産システムが検討されてきている。排水・排ガス・排熱の利用、オイル抽出残渣・培養排水のリサイクル・リユース技術は、エネルギーやコスト収支を改善するために不可欠なシステム技術となってきた。さらにポリカルチャーがモノカルチャーよりも生産性が高いこと、かく乱からの回復力が高いことから、注目される技術となってきた。日本では、藻類産業創成コンソーシアムにより福島県南相馬市で、2013年～2015年に実施された福島県再生可能エネルギー次世代技術開発事業で、初めてポリカルチャーが適用された。29g/m<sup>2</sup>/日と非常に高い藻類バイオマス生産性が得られ、さらに収穫された藻類は水熱液化技術により乾燥重量あたり30-46%原油化される。今後、下水の利用、培養装置改良による低コスト化等により200円/L・原油以下の生産コストが見込まれ、FiT（固定価格買取制度）の燃料への適用が可能となれば、一機にビジネス化される可能性も期待されよう。