

微生物インベントリー

農業環境技術研究所 ^{つしま} 對馬 ^{せいや} 誠也・^{こいたばし} 小板橋 ^{もとお} 基夫

はじめに

近年、地球温暖化、生物多様性等の環境問題への関心の高まりや、生物の解析技術やバイオインフォマティクスの進展により、国の内外で生物情報を収集して利活用する取り組みが始まっている。生物多様性条約の関係では、2002年には地球規模生物多様性情報機構（GBIF）が設立され、地球規模で生物の標本・観測データのデータベース化が進められている。一方で、地球観測グループ（GEO）の下に、約90の科学機関および政府間機関の参加により、生物多様性観測ネットワーク（GEO BON）が設立された。GEO BONは、生態系、種、遺伝子レベルの観測情報を地球規模で一元的に集約・管理し、さらにデータを統合、解析するツールの開発を目指しており、ここには気候変動や環境汚染などの生物多様性への脅威に関するデータや予測も包括している。一方、国内では、文部科学省は2010年までに世界最高水準のバイオリソース（研究開発の材料としての動物・植物・微生物の系統・集団・組織・細胞・遺伝子材料等およびそれらの情報）の整備を目指し、02年からナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP）を開始し、現在も続いている。

このような流れの中で、農業環境技術研究所では、独立行政法人に移行した2001年に、気象、土壌、生物等の農業環境資源の情報を集めて農業環境の変動を予測し、かつそれらの保全や管理に役立てるために、「農業環境インベントリー（在庫目録）」の構築を開始した。ここでは、この取り組みの中で微生物分野の研究者が中心となって取り組んでいる「微生物インベントリー」について、そのシステムや各種データベースなどを紹介する。

I 微生物インベントリー「*microForce*」の構築とその目的

前章までに述べたように、世界的に、生物の標本や情報のデータベース化・発信システムの構築に対する理解

は高まっている。しかし、一方で、せっかく集めた情報もユーザーに利用されなければ意味がない。このため、データベース化に当たっては、どのような微生物情報を集めるか、どのような仕組みで発信するか、が大きな課題となるので、まず最初にその点を検討した。

(1) どのような微生物情報を集めるか

土壌1g中には細菌だけでも約 10^{10} 個が棲息し、細菌種は100万種以上と推定されている。こうした膨大な数の微生物から、どのような微生物情報を集めるかを定めることは容易ではない。実際、それら微生物が農業環境の保全や作物生産にどのように役立っているのかは、ごく一部の機能の明確な微生物（病原菌、根粒菌等）を除いてほとんどわかっていない。

しかし、その一方で、データベース化のような基盤的研究では、必ずしも「役立つ」と思われる微生物だけを収集すればよいとは限らない。なぜなら、これらの研究は、少数の研究者では決してできなかった現象の解明や新技術の開発などを飛躍的に促進する可能性を有しているからである。現在活躍している、世界規模で広く利用されている分散型DNA情報データベース（DDBJ, Genbank, EMBL）がその代表といってよいであろう。

こうした事情から、微生物インベントリーの構築に当たっては、短期的視点と長期的視点での取り組みを考えた。前者としては、研究者が現在取り組んでいる研究情報や農業環境技術研究所微生物標本館所蔵の微生物さく葉標本などのデータベース化（後述）を行った。後者としては、世界的にもほとんど不明である植物棲息微生物の収集・データベース化を行うことにした（對馬, 2006）。前者はすべて公開を原則とし、後者については共同研究者と研究を進めながら、成果が得られた段階で公開するものとした。

(2) どのような仕組みで発信するか

当初、研究者らが作成したデータベースのいくつかは、研究者自身が得た成果などが中心であったため、各データベースの情報量は限られたものであった。このため、これらを単独で公開してもユーザーが限られ、利用率も低くなると考えられた。そこで、より有効に活用してもらうことを目指して、複数のデータベースを統合して利用することができる「統合検索」システムの構築を行うことにした（なお、検索システムの原型は国立遺伝

Microbial Inventory, *microForce*, of NIAES. By Seiya TSUSHIMA and Motoo KOITABASHI

(キーワード: 微生物インベントリー, 微生物さく葉標本, 微生物データベース)

学研究所の宮崎智助教授、菅原秀明教授にご協力いただいた。このシステムにより、例えば、植物病原細菌である *Burkholderia cepasia* に関する情報を「農業分解性データベース」などの複数のデータベースから同時に得ることができるようになった(後述)。

さらに、「微生物インベントリー」は一般的な名称であるため、この名称のままではユーザーに「農業環境技術研究所微生物インベントリー」を覚えてもらえないと考え、「マイクロフォース」(*microForce* とイタリックで表示し、Fのみを大文字にした)という固有の名を付けた(對馬ら, 2005)。なお、*microForce* は、「小さい生物でも、大きな力をもっている」という意味を込めて名付けたものであり、2007年には商標登録を取得している(図-1; マクロフォース URL: <http://www.niaes.affrc.go.jp/inventory/microorg/index.html> 作成者: 對馬誠也, 月星隆雄, 吉田重信, 篠原弘亮, 長谷部亮, 酒井順子, 小川直人, 土屋健一, 小板橋さ夫, 田村季実子, 2005)。

II データベースの紹介

データベースは、データベース単独での発信と、統合検索システム(前述)による発信、に分けて公開している。

(1) データベース単独での発信

① 農業環境技術研究所所蔵微生物さく葉標本データベース

1880年代の旧農商務省農事試験場時代から、数多くの研究者により作成され、あるいは寄託された微生物さ

く葉標本(病原菌が感染し発病した標本)の目録(月星ら, 2007 a)をもとに、Web公開したものである(月星ら, 2007 b)。

本標本目録には、菌種で365属1,477種(亜種などを含む)、寄主植物で621属1,322種(亜種などを含む)が収録されている。この中には植物病害としては未報告の292点の標本を含んでいる(図-2)。なお、これについては毎年標本の追加を行っている(小板橋ら, 2007 a; URL: <http://www.niaes.affrc.go.jp/inventory/microorg/specimen/index.html> 作成者: 月星ら, 2007)。

本目録は、農業環境技術研究所の微生物標本館が所蔵する微生物さく葉標本を中心とするタイプ標本類(46点)、Sydow氏ら採集標本(254点)、一般さく葉標本(6,611点)、日野氏ブラジル採集標本(196点)、およびキノコ類標本(97点)の計7,204点の微生物種名、異名、病名、寄主植物和名・学名、採集地、採集年月日、採集者の基本標本情報を五つに分類して収録している。なお、この目録作成後も年間約20~30の標本を追加している。

1) タイプ標本

タイプ標本類は、所蔵する微生物新種の記載時の正基準標本(ホロタイプ, *holotype*)15点、副基準標本(アイソタイプ, *isotype*)2点および重複標本(パラタイプ, *paratype*)6点を含んでいる。当標本館では寄託されたタイプ標本にNIAES番号を付して保管しており、これらを番号順に収録している。上記の基本情報に加え、保存形態、寄託者による旧番号、農林水産省微生物遺伝バンクに菌株が委託されている場合にはMAFF番号を合わせて記載した。



図-1 公開中の微生物インベントリー「microForce」のホームページ



図-2 公開中の微生物さく葉標本目録

2) SYDOW 氏ら採集標本

SYDOW 氏ら採集標本は、ドイツの菌学者でさび菌およびクロボ菌分類体系の基礎を築いた SYDOW, LAGERHEIM および BUBAK らの著名な菌学者の収集標本で、スウェーデン、ドイツ、オーストリアを中心とした野草類のさび菌およびクロボ菌のコレクションであり、農事試験場時代に当所に寄贈されたものと考えられる。これらを宿主植物学名のアルファベット順に収録した (図-3A)。



図-3 農業環境技術研究所蔵の微生物さく葉標本
A: SYDOW 標本, B: 一般さく葉標本。

3) 一般さく葉標本

一般さく葉標本は、主に日本で採集された微生物感染さく葉乾燥標本で、これらを宿主植物学名のアルファベット順、同一植物では寄生する微生物の学名のアルファベット順に収録した。ここには、著名な植物分類学者である牧野富太郎氏が収集した微生物標本7点も含まれている (図-3B)。日本国外では中国、韓国、タイ、米国等で採集した標本も含まれている。それらの膨大な標本の中で、2006年日本菌学会により刊行された「日本菌学史」で紹介された132名中27名もの研究者の作成した標本が保存されている。

日本の研究者による最も古い標本は、宮部金吾によって収集された1889年1月にアブラギクから採取のさび病菌で、1890年以降は堀正太郎の採取標本が多い (表-1)。特に最も寄託の多かった標本としては、堀正太郎 (659点, 生没年1865~1945)、西田藤次 (524点, 同1874~1927)、南部信方 (493点, 同1858~1923)、富永時任 (620点, 同1918~97) らによるものがある。

4) 日野氏ブラジル採集標本

日野氏ブラジル採集標本は日野稔彦氏 (元: 農業技術研究所病理昆虫部) が1974~75年にブラジルのルイス・デ・ケイロス農学校 (ESLAQ) に滞在中、周辺地域で収集した標本である。これらを宿主植物学名のアルファベット順に収録した。ブラジル周辺で採集した196点のまとまった標本であるため、特殊性が高いと判断して一般標本とは別に記載した。

5) キノコ類標本

キノコ類標本は、1957~65年に日本国内で採集されたもので、キノコ類学名のアルファベット順に収録した。収録内容は、微生物 (キノコ) 名, 異名, 和名, 採集地, 採集年月日, 採集者となっている。

② 日本野生植物寄生・共生菌データベース

農環研資料第26号の「日本野生植物寄生・共生菌目

表-1 一般さく葉標本 (最も古い標本類)

微生物学名	宿主植物和名	病名	採取日	採取者
<i>Puccinia tanacetii</i> DC. var. <i>tanacetii</i>	アブラギク (ハマカンギク)	さび病	1889.1	宮部金吾
<i>Puccinia cnici-oleracei</i> PERS.: DESM.	オトコヨモギ	さび病	1889.1	宮部金吾
<i>Aecidium mori</i> BARCL.	クワ (カラヤマグワ)	赤渋病	1890.6.15	堀正太郎
<i>Puccinia artemisiae-keiskeana</i> M. MIURA	イヌヨモギ	さび病	1890.7.10	宮部金吾
<i>Puccinia mitriformis</i> ITO	マンサク	さび病	1890.7.19	堀正太郎
<i>Microsphaera alni</i> (WALLR.) SALM.	クリ	うどんこ病	1890.7.19	堀正太郎
<i>Puccinia hemerocallidis</i> THUM.	ヤブカンゾウ	さび症状	1890.7.19	堀正太郎
<i>Coleosporium asterum</i> (DIET.) SYD.	シラヤマギク	さび症状	1890.7.20	堀正太郎
<i>Puccinia tanacetii</i> DC. var. <i>tanacetii</i>	コハマギク	さび病	1890.7.22	宮部金吾
<i>Puccinia tokyensis</i> SYD.	ミツバ	さび病	1890.7.23	堀正太郎

録」(月星ら, 2002)を基に, 検索機能をつけて公開した(月星ら, 2004)。なお, 2006年には, 本システムにポストグレSQRを導入した新しい検索システムを作り検索効率を向上させた(小坂橋ら, 2007b)。菌種312属1,302種(亜種を含む), 寄主植物95科1,626種(亜種を含む)を収録しており, 野生植物の寄生, 共生菌の目録としては少なくとも国内最大と考えている。寄主植物属和名・属学名, 同種和名・種学名, 菌種学名, 発生植物和名, 文献著者名, 記載ページ, 発行年を収録している(URL: <http://kinrui.niaes.affrc.go.jp/> 作成者: 月星ら, 2007)。

③ 日本産糸状菌類図鑑データベース

上記の「日本野生植物寄生・共生菌類目録」はすべてテキストのみで構成されているため, この目録だけで菌の分類, 形態, 生態等について理解するのは難しい。そこで, 目録に記載した菌類を中心に, 各菌種の形態などを詳しく記載した画像付きのデータベースを作成し公開した(月星ら, 2004)。糸状菌66種について, 学名, 分類, 発生状況, 無性世代並びに有性世代の画像, 病徴画像および農環研所蔵標本リストを掲載した(図-4)。また, その後定期的に情報を追加している(URL: <http://www.niaes.affrc.go.jp/inventory/microorg/mokuroku/zukan.html> 作成者: 月星ら, 2005)。

日本産糸状菌類図鑑 No. 3 before ← → next ↑ top

● *Alternaria solani* (Ellis & Martin) Sorauer
 分類: 不完全菌門, 不完全糸状菌綱

日本全国に分布。ジャガイモ夏疫病菌, トマト輪紋病菌, ナス輪紋病菌

性状(機能): 植物病原菌



形態:
 有性世代: 不明
 無性世代: 淡褐色～オリーブ褐色の分生胞子。先端部には分生子本体以上の長さの嘴を有し、11隔壁の分生胞子を単生する。嘴は淡色とする。

分生胞子

農環研所蔵標本

標本番号	菌種	宿主和名	宿主学名
104-1-79	<i>Alternaria solani</i>	ジャガイモ	Solanum tuberosum
114-1-72	"	トマト	Lycopersicon
244-1-102	"	ジャガイモ	Solanum tuberosum

図-4 公開中の日本産糸状菌類図鑑の「*Alternaria solani*」検索画面

(2) 統合検索による発信

① 統合検索に格納されているデータベース

1) 2,4-D分解微生物データベース

2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D)は世界的によく使われてきた代表的な除草剤であり, 微生物分解や生物毒性のモデル化合物として早くから使われている。これまで各分解酵素・遺伝子群やそれらの発現調節機構について生化学的・分子生物学的な解析が進められており, 環境修復研究へのニーズに役立つことが期待される。ここでは, 2,4-Dの分解菌にかかわる文献情報(161件)を公開した。菌株名, 種名, 分解遺伝子名および初出文献名などで検索でき, 分解遺伝子の塩基配列や研究状況も知ることができる。

2) 「*Burkholderia cepacia* 近縁菌データベース」

Burkholderia cepacia やその近縁細菌は, 広く環境中に生息するが, 人畜や植物に病気を起こす有害系統を含む一方で, 農薬などの化学合成化合物の分解菌としても知られる系統もあり, 環境改善に有効な細菌として多くの研究が行われている。ここでは, *Burkholderia* 属細菌に関する情報(49件)を公開した。農学, 工学, 医学分野の情報を初めて網羅的に整理している。菌株名, 種名, 採取場所, 人畜および植物に対する病原性などで検索できる。

3) 「農業環境技術研究所微生物標本館所蔵標本の画像データベース」

前述した農業環境技術研究所所蔵の微生物さく葉標本の公開に先駆けて, その当時作成していたさく葉標本の画像情報を公開したものである。この中から, このサイトで初めてサビ菌, クロボ菌等の微生物標本画像(図-5)を中心に, 寄主植物や採集場所などにかかわる情報(448件)を公開した。微生物種名や寄主植物名などで検索できる。

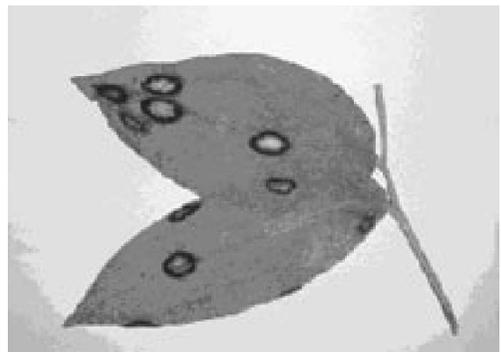


図-5 公開した微生物さく葉標本の画像情報

4) 「バイオセーフティレベル (日本細菌学会作成)」

細菌を取り扱うときの注意を喚起するために、日本細菌学会のバイオセーフティ委員会が作成した「病原細菌に関するバイオセーフティ指針」(日本細菌学会のHPで公開中)にある「付表：病原菌のバイオセーフティレベル分類」を日本細菌学会の許可を得て掲載した。この指針には、JSB (日本細菌学会)のほかに、DSM (ドイツ)、NIID (感染症研究所)のバイオセーフティレベル分類が掲載されている。

5) 「日本野生植物寄生・共生菌類データベース」

前述の目録を統合検索用に加工して加えたものである。

② 分散型データ統合検索システム

本システムでは、一つのキーワードを入力するだけで、指定した複数のデータベースから関連情報を一度に検索することが可能である。図-6はその一例を示したものである。ここでは、(2)-①の五つのデータベースを選び (all を選択)、表示された検索画面で“Genus = Burkholderia”を入力して検索にかけると、五つのデータベースから *Burkholderia* 属細菌に関連する情報が画面に表示される。この結果、「*Burkholderia cepacia* 近縁菌データベース」以外にも三つのデータベース内に *Burkholderia* に関連する情報があることが瞬時にわかる。

III 今後の課題

現在、「日本産糸状菌目録」と「日本野生植物寄生・共生菌類目録」はBGIF/Japanのサイトでも見られ、他のサイトからも利用できるようにした。微生物インベントリー公開後のアクセス数を見ると、「日本産糸状菌類データベース」など写真情報を含むものが利用されやすいことがうかがえ、このデータベースに関しては、件数は少ないものの農業現場以外にも教育現場やテレビ局などからの利用依頼が来るようになった。今後もユーザーに利用されやすい情報、発信システムの充実に努めていきたい。また、microForceには、この他にすでに本誌で紹介した細菌迅速同定支援システム「microForce-ID」(篠原・対馬, 2005)があるが、ここでは省略した。

なお、ここでは割愛したが、長期的視点(前述)でデータベース化している植物棲息微生物に関する研究から、植物上の微生物相が異なることや(対馬, 2006)、植物上に赤かび毒デオキシニバレノール分解菌(生長ら, 2007)や、トマチン(アルカロイド)分解病原菌(ENYA

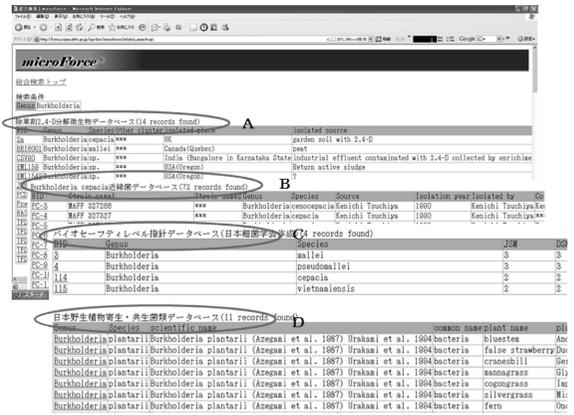


図-6 microForce 統合検索システムによるキーワード検索結果の表示

キーワード“Genus = Burkholderia”で検索した結果、四つのデータベース (A, B, C, D) から関連情報が得られる。

et al., 2007) など様々な機能をもつ菌の生存が確認された。さらに、それらの微生物の植物表面定着に関する研究などの基礎情報から、これまで有用微生物の探索場所として利用されてきた「土壌」や「極限環境」に比べると、ほとんど注目されていなかった「植物」から生分解性プラスチックを強力に分解する酵母(北本ら, 2008)や糸状菌(小坂橋, 2008)を効率的に見つけることができることを公表した。これらの技術は、収穫後のマルチフィルムの分解制技術の開発に役立つと考えるが、今後は、さらにこれらの微生物や生態情報から、病害防除などに役立つ成果も出していきたい。

参考文献

- 1) ENYA, J. et al. (2007): Microbial Ecology 53: 524 ~ 536.
- 2) 北本宏子ら (2008): 農業環境技術研究所研究成果情報 第24集 (URL: http://www.niaes.afrcr.go.jp/sinfo/result/result24/result24_12.html).
- 3) 生長陽子ら (2007): 日本植物病理学会報 73: 195.
- 4) 小坂橋基夫ら (2007 a): 同上 6: 40 ~ 41.
- 5) 〃〃〃〃〃〃 (2007 b): インベントリー 6: 22 ~ 23.
- 6) 〃〃〃〃〃〃 (2008): 農業環境技術研究所プレスリリース (URL: <http://www.niaes.afrcr.go.jp/techdoc/press/index.html>).
- 7) 月星隆雄ら (2002): 農業環境技術研究所資料 第26号: 1 ~ 169.
- 8) 〃〃〃〃〃〃 (2004): インベントリー 4: 41 ~ 43.
- 9) 〃〃〃〃〃〃 (2007 a): 農業環境技術研究所資料 第30号: 1 ~ 161.
- 10) 〃〃〃〃〃〃 (2007 b): 日本菌学会報 48: 7 ~ 11.
- 11) 対馬誠也ら (2005): インベントリー 4: 30 ~ 33.
- 12) 〃〃〃〃〃〃 (2006): SCIENCE & TECHNONEWS TSUKUBA 79: 18 ~ 19.
- 13) 篠原弘亮・対馬誠也 (2005): 細菌迅速同定支援システム「microForce-ID」. 植物防疫 95: 400 ~ 402.