

深部地質環境における微生物群集—東濃地域を例として—†

村上由記¹ 長沼 毅² 岩月輝希³

地球上の living carbon の半分以上は地下に存在するという可能性が指摘されている。近年、地下の微生物に関する知見が世界各地で報告されており、地下生物圏の存在はかなり確実視されている。今回、我々は岐阜県東濃地域において、深度 840m までの地下水中の微生物の調査をおこなった。その結果、花崗岩および堆積岩における地下水中の微生物密度は、海洋表層と同レベルの $10^5 \sim 10^6$ cells/ml にも達することを確認した。また、特有の pH, Eh を示す深度において、鉄酸化/還元細菌が $10^3 \sim 10^5$ /ml という高密度で存在していることも明らかとなった。さらに、これらのバクテリアが存在する深度の pH-酸化還元電位は、 $Fe^{2+}/Fe(OH)_3$ もしくは FeS_2/Fe^{2+} , $FeS_2/FeCO_3$ の酸化還元境界と一致していた。これらの地下微生物は、深部地質環境における沈澱、溶解、硫黄・鉄などの循環といった地球化学的プロセスと深く関係しているものと考えられる。

Keywords: 深部地下生物圏, 微生物, 地下水, 現存量, 花崗岩, 堆積岩

Recent studies estimate that a half of living carbon in the earth may exist in subsurface environment. Deep subsurface microbial communities have recently received increased attention. There are strong but circumstantial indications of microbial life widespread at depth in the crust of the Earth. This communication presents preliminary information about the subsurface bacterial abundance. Abundances of total and selected bacteria in the interstitial water of granite and sedimentary rocks up to 1000 m deep were determined. Maximum abundance of $10^5 \sim 10^6$ cells/ml was observed in the granite and sedimentary rock waters, respectively. Iron-oxidizing/reducing bacteria were detected at depths having specific pH and oxidation/reduction potential (Eh). Those pH and Eh regimes were corresponding to the $Fe^{2+}/Fe(OH)_3$ or FeS_2/Fe^{2+} , $FeS_2/FeCO_3$ interface conditions. It is implied that these bacteria are involved in geochemical processes such as precipitation, dissolution and cycling of sulfur, iron, and related elements.

Keywords: deep subsurface biosphere, bacteria, abundance, groundwater, granite, sedimentary rocks

1 はじめに

近年、地下生物圏の存在が注目され始めている。私たちの生存している陸域空間を「陸上生物圏」というのに対して、「地下生物圏」とは、地下深くに広がる生物が生存する領域のことである。今日まで、地下生物圏の存在はそれほど重要視されてこなかった。なぜなら地下は、人類にとって未踏の世界であり、我々は地下にアクセスすることが出来なかったからである。しかし、大陸掘削計画や深海掘削計画などの進展により、地下研究における科学的アクセス手段が整備されてきた。これにともない、地下微生物の存在に関する知見が急速に増え始め、新たな、そして地球最後の生物圏フロンティアの存在が重要視されるようになった。目下の関心は「地下生物圏の存在の確からしさの確認」から「その概観と詳細の解明」に移っていると言えよう。例えば、以下の疑問に答えるような知見が集積されつつある。

- ・地下生物圏はどのくらい深くまで広がっているのか?
- ・地下生物（主に微生物）のバイオマスはどれくらいか?
- ・地下微生物が地下環境に与える影響は?

地下の微生物バイオマス（炭素重量）は、地下 5 km までに約 2×10^{14} t にもぼると推測されており[1]、だとす

ると地下微生物のバイオマスは地上の全バイオマス—約 1×10^{12} t—よりも大きいかもしれない。また、地下の原核生物のバイオマスは地球上の全原核生物のバイオマスの 92 % に上るという推測もある[2] (Table 1)。

これらの推測の根拠は、1980 年代から米国エネルギー省などが推進した陸上地下の研究[3,4]や国際深海掘削計画による海底地下の研究[5]などである。これらの研究から、地下 1000 m 以深の玄武岩帯水層および地下約 300 m の白亜紀の堆積岩層における微生物の存在が報告されている[6,7]。また、日本における先駆的研究では、青木らによって岐阜県東濃地域における深度 500 m での微生物の存在が報告されており[8]、地下の微生物の存在が再認識されている。

2 地下生物圏の物理化学的特徴

地下環境は、以下のような点で陸上環境と異なっている。

Table 1 Abundance (cells) and biomass (gC) of bacteria in various habitats. [2]

| | 原核生物の細胞数 ($\times 10^{28}$ cells) | 原核生物のバイオマス ($\times 10^{15}$ gC) | 地球上の全原核生物のバイオマスに対する割合(%) |
|------|---------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------|
| 水圏 | 12 | 2.2 | 0.6 (0.4) * |
| 海底下 | 355 | 303 | 85.8 (55.5) |
| 土壌 | 26 | 26 | 7.4 (4.8) |
| 陸上地下 | 25~250 | 22~215 | 6.2 (39.4) |
| 総計 | 415~640 | 353~546 | 100 (100.1) |

* () 内は原核生物のバイオマスを見積もりの最大値で計算した場合

† Deep subsurface microbial communities in the Tono area, central Japan, by Yuki Murakami (yukinm@ipc.hiroshima-u.ac.jp), Takeshi Naganuma, Teruki Iwatsuki

1 広島大学大学院生物圏科学研究科 School of Biosphere Science, Hiroshima University 〒739-8528 東広島市鏡山 1-4-4
2 広島大学生物生産学部 Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University 〒739-8528 東広島市鏡山 1-4-4
3 核燃料サイクル開発機構 東濃地科学センター Tono Geoscience Center, Japan Nuclear Cycle Development Institute 〒509-5102 岐阜県土岐市泉町定林寺 959-31

- (1) 光合成ができない (太陽光が届かない)
- (2) 分子状酸素に乏しい
- (3) 深度とともに温度・圧力が高くなる

地下に存在する微生物は、これらの条件下で存在していることは確実であり、また活性を持っている可能性も確認されている[4]。私たち人間を含め、地球上のほとんどの生物は太陽光をエネルギーとした、光合成由来の有機物をもとに生存している。しかし、地下には太陽光が届かないために光合成を基盤とする有機物生産をおこなうことが出来ない。そのため生物が生存するための有機物量がかかなり少ない。それでは、地表よりも多くの生物量を賄うエネルギーはどこからくるのだろうか?このエネルギー供給源あるいは経路については、

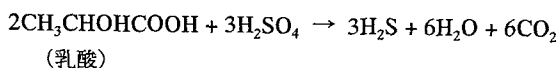
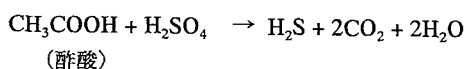
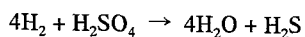
- ・堆積物および堆積岩
- ・基盤岩 (花崗岩や玄武岩など)

の二つに分けて考えなければならない。

堆積物および堆積岩は、火成岩と比較すれば有機物濃度が高い。また、地下水を經由して陸上から流れてきた有機物の存在も十分に考えられるため、基盤岩よりは比較的生息しやすい環境であろう。また、有機物の分解物(無機物)をエネルギー源として利用する化学合成微生物の存在も考えられる。

一方、有機物の乏しい基盤岩において、微生物は Fe, Mg, S, H₂などの無機物からもエネルギーを得ていると想像される。とくに、Fe(III), Sなどの元素は電子供与体および電子受容体としての役割を果たしている[9,10]。それらの元素はとくに、熱水活動や火山活動のある地下に豊富に存在しているため、地下生物圏の存在を支えるのに十分であると考えられる。

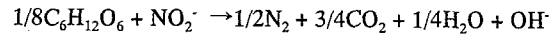
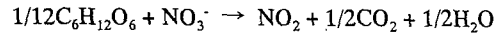
次に「(2) 分子状酸素に乏しい」についてであるが、多くの地球上の生物は、分子状酸素 (O₂) をエネルギーを得る (呼吸) ために用いているが、地下環境中には分子状酸素は極めて少ない。そのかわり、地下微生物は酸化によるエネルギー獲得を、分子状酸素を用いずにおこなっている。例えば、硫酸還元菌は主として H₂, 酢酸、乳酸などの基質を、SO₄²⁻を酸化剤 (電子受容体) として酸化する。つまり、硫酸還元とは SO₄²⁻を用いた酸化のことである。この酸化プロセスの産物として H₂S と CO₂ を生成する[11]。



上記の反応では H₂S が生成するが、これはまた別の化学

合成細菌 (イオウ酸化細菌) のエネルギー代謝基質になる。つまり、ここには硫酸還元 (SO₄²⁻ → H₂S) から硫化水素酸化 (H₂S → SO₄²⁻) へのエネルギー代謝の連鎖があることになる。

また、脱窒細菌の場合、硝酸イオンを酸化剤 (電子受容体) として用いている[11]。



温度・圧力に関していうと、地下温度上昇率は一般的に約 25~30 °C/km 前後、海底下で約 15 °C/km 程度とされている。既知の微生物の生育上限温度は約 120°Cなので、単純に温度だけで考えれば、微生物は大陸地下約 4~5 km, 海底下約 8 km まで生育可能である。一方、地下圧力上昇率は~400 気圧/km であると考えられる。既知の生物の生育上限圧力はまだ明らかではないが、温度ほどは微生物の生存にあまり影響がないようである。したがって、地下生物圏が存在しうる範囲は地下のかなり深くまで広がっているものと考えられる[12]。

3 東濃地域における地下微生物群集

今回、我々は核燃料サイクル開発機構 (旧動燃事業団) の事業所の一つである、岐阜県の東濃地科学センターにて地下水の採水を行った。当センターでは、深度 1,000 m までの地下水の地球化学的特性に関する研究が行われており、掘削及び地下水の採水、地球化学特性データの測定に関する技術の確立が図られている。

以下にその結果を報告する。

3.1 地下水の採水方法と東濃地域の地質の特性

深部地下水中の微生物学的特性を研究するとき、もっとも懸念される問題はコンタミネーションである。地下水採水中はもちろんのこと、試錐孔掘削時や掘削後の雑菌混入を防ぐような技術が必要になってくる。本研究で用いた調査用試錐孔は、掘削による影響を可能な限りさけるために、試錐用泥剤を使用せずに掘削されている。地下水の採水においては、掘削水の混入や異なった深度の地下水の混合が起こらないよう、パッカーを備えた MP (Multiple piezometer) システムを用いた[13] (Fig.1)。この装置により、地下水が存在していた環境を保持した状態 (被圧・不活性状態) で採水が可能である。今回採水をおこなったのは、基盤の土岐花崗岩に掘削された試錐孔 DH-3 (深度: ~840 m) および堆積岩に掘削された試錐孔 TH-6 (深度: ~177.5 m) である (Fig.2)。採水地点の岩相は、DH-3 号孔がすべて花崗岩であり、TH-6 号孔が凝灰岩質泥岩を主とする明世界層 (深度 104 m 地点)、泥質砂岩~細礫岩を主

とする土岐夾炭累層上部層 (深度 132 m 地点), 亜炭を多く含む炭質泥岩を主とする土岐夾炭累層下部層 (深度 153 m 地点), 土岐花崗岩 (深度 177.5 m 地点) となっている (Fig.3).

3.2 土岐花崗岩の微生物群集 —DH-3 孔を例として—

3.2.1 土岐花崗岩における地下水中の微生物量

採取した地下水中の微生物の全菌数[14]は, 約 $10^5 \sim 10^6$ cells/ml も存在していた (Fig.4,5). これは, 光合成生産の行われる海洋表層 (有光層) の細菌密度と同レベルである. 一般的に有機物濃度の低いと考えられている花崗岩の地下水の中に, これだけの微生物が存在していたというのは少々驚きである. 全菌数とは, 生菌と死菌の両方を合わせた数字である. そして, この地下水中の生菌数[14]は $10^3 \sim 10^4$ CFU (colony forming unit) /ml であった.

しかし, この生菌数の数字は好氣的条件の下で生存できる菌数を表したものであり, 地下環境は主に嫌氣的条件であるため, 実際には嫌氣性菌の方が多いと考えられる. さらに, 現場環境で生育する微生物 (生菌) のうち, われわれが培養できるのはせいぜい数 % であり, 残りの 90 % 以上については「生きてはいるが培養できない」(VBNC: Viable but non-culturable) 菌である. したがって, 嫌氣性菌・VBNC 菌を考慮すると, 地下環境全体で生育する微生物バイオマスはかなり大きいものであると想像できる.

興味深いことに, Fig.4 のデータはこの程度の深度では微生物数が深度に依存しないことを示している. 我々は, 地下深くなるにつれて微生物数が減少すると思いがちであるが, 深度 840m においても高い微生物密度が維持されていた. それどころか, 深度によっては細胞密度が高くなっている地点も観察された. これはおそらく微生物の増殖が, 深度ではなく地下環境中の有機物量や Fe, S などのエネルギー源の有無・多少, または地下水の流れや空隙率に依存しているためであると考えられる. 例えば, 深度 790m の地点はちょうど破砕帯となっており, それにともなって空隙率や水・溶質の移動が大きいために生菌数が高くなっているものと考えられる. もっと深度が増して温度・圧力が高くなれば, 微生物数は減少する可能性がある.

また, 花崗岩における地下水を用いて顕微鏡観察をおこなったところ, 深度ごとに微生物細胞の形態および細胞密度がかなり異なっていた. そのため, サンプリング時の大幅なコンタミネーションの可能性は少ないと考えられる. また, 深度ごとに違った生態系が形成されている可能性もある.

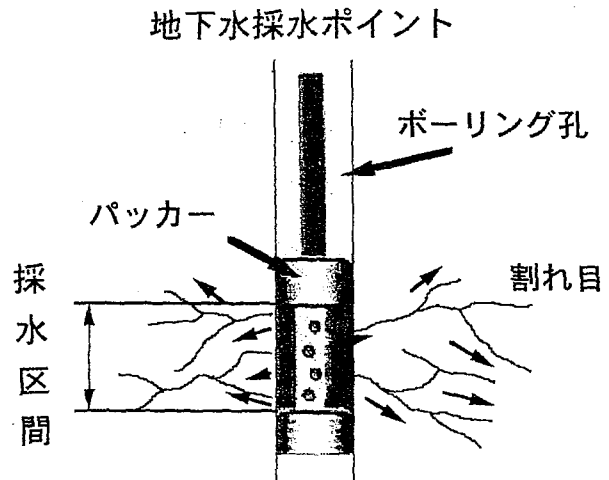
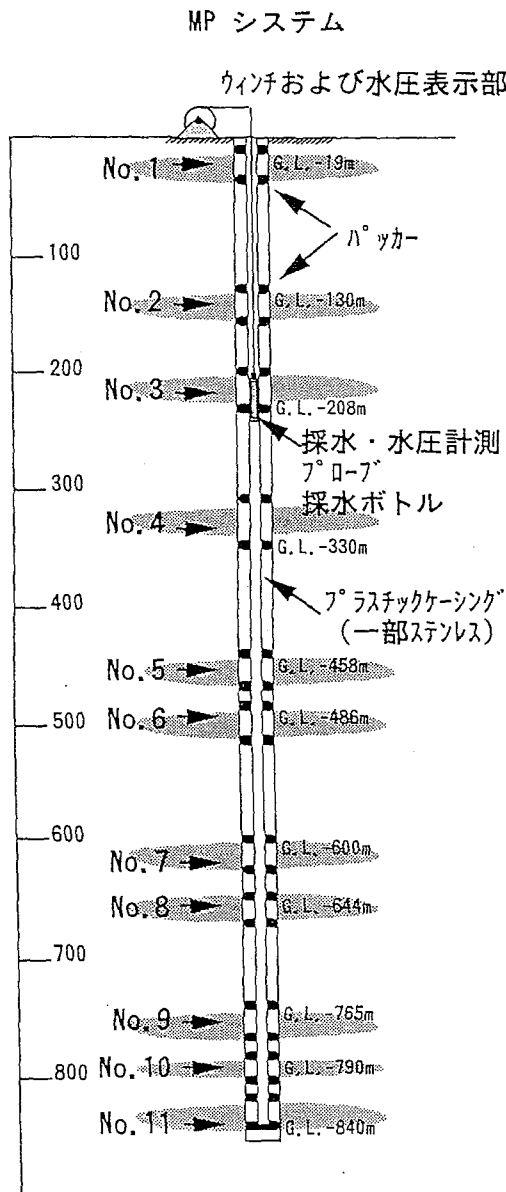


Fig.1 Schema of groundwater collection by the MP system at the DH-3 borehole in the Tono area, Japan

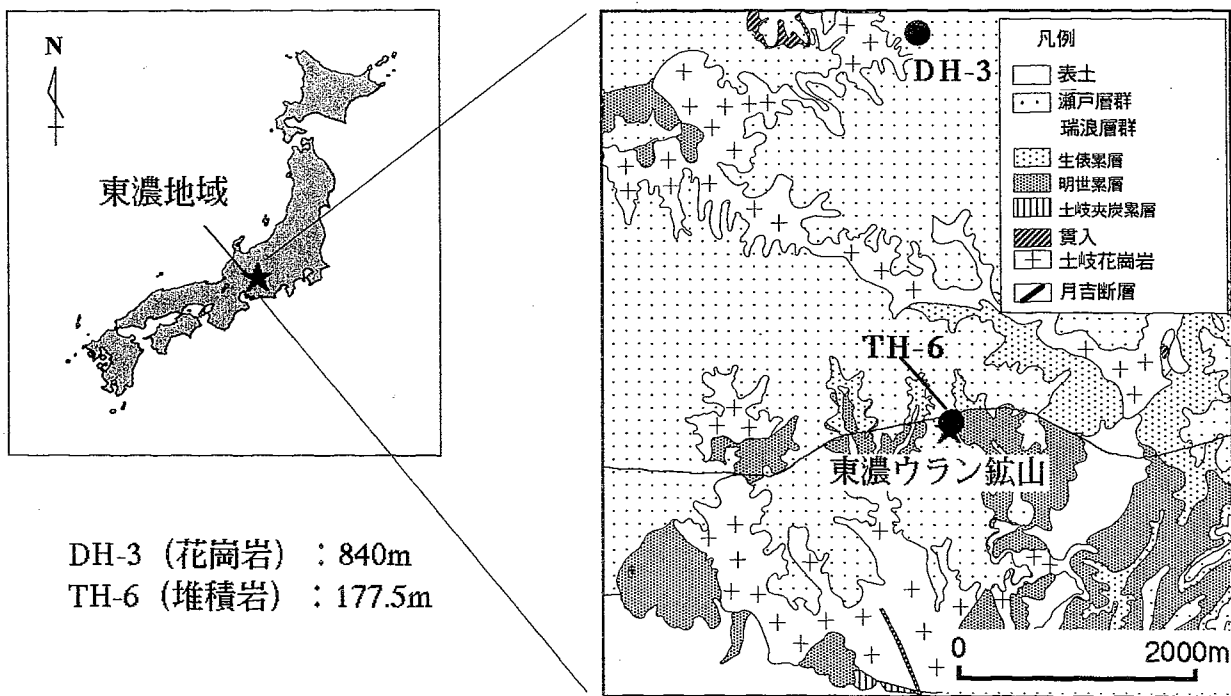


Fig.2 Sampling sites in the Tono area, Japan

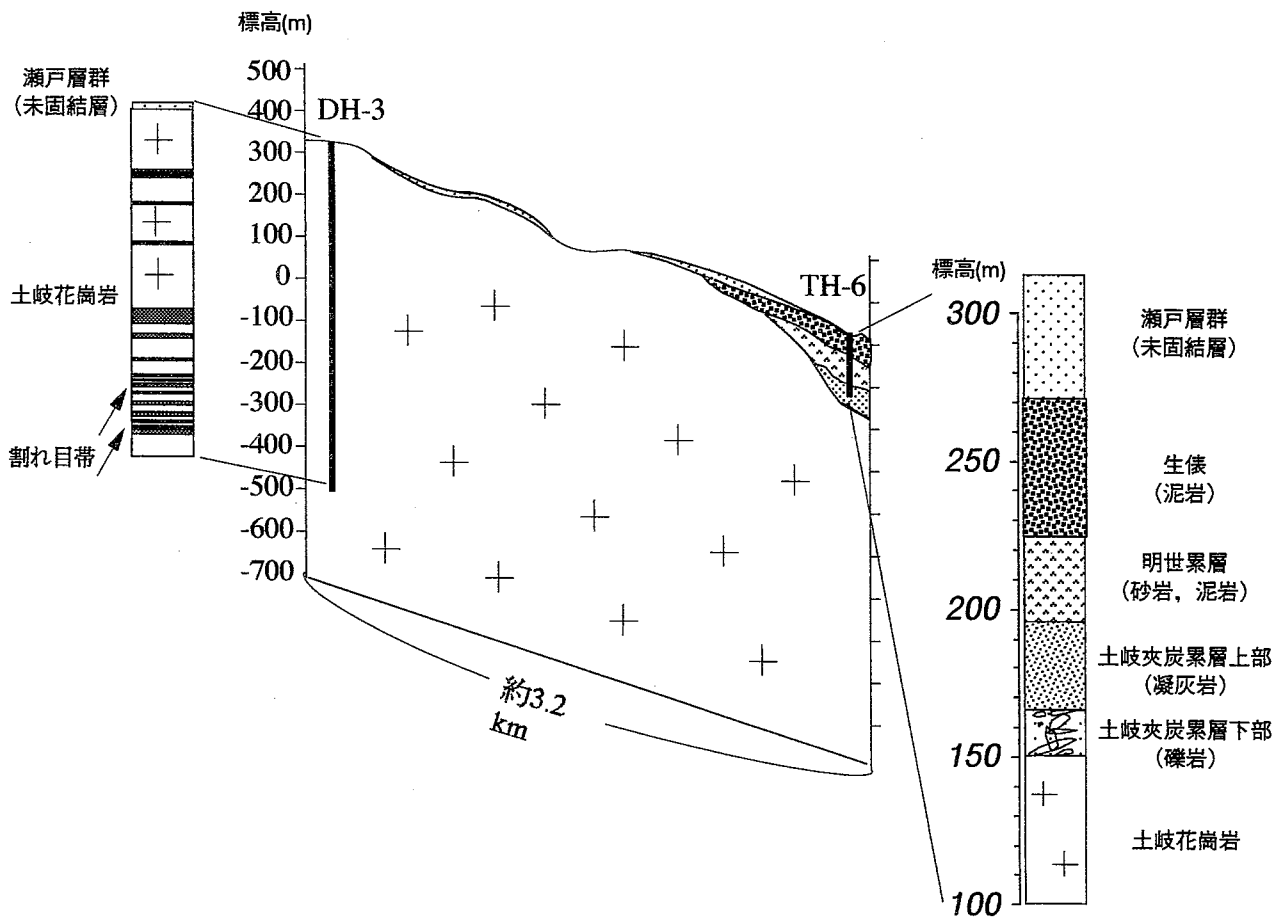


Fig.3 Cross section of sampling sites in the Tono area, Japan.

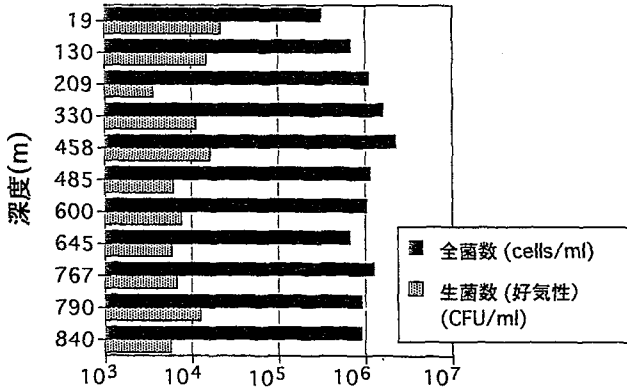


Fig.4 Bacterial abundance in the granite groundwater samples collected at the DH-3 borehole in the Tono area, Japan

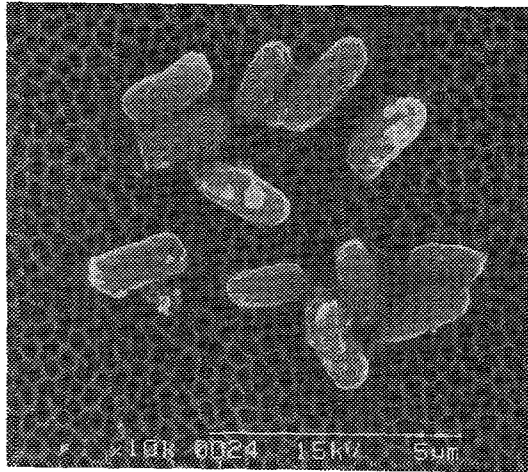


Fig.5 SEM image of the bacteria collected from the 840m deep granite groundwater at the DH-3 borehole

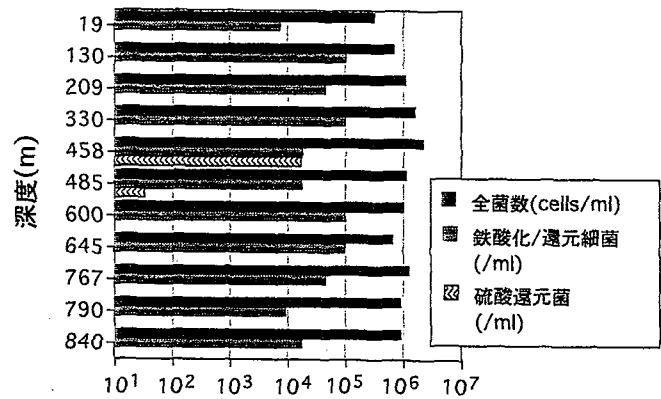


Fig.6 Amounts of iron-oxidizing/reducing bacteria and sulfate-reducing bacteria in the granite groundwater samples collected at the DH-3 borehole. They were presented in association with the total bacterial counts (the same as shown in Fig.3).

3.2.2 土岐花崗岩における地下水中の特定微生物

DH-3 孔の地下水における鉄酸化/還元細菌および硫酸還元菌の存在について、水質簡易測定キット (商品名: BART, カナダ HACH 社製) を用いた検出を行った。その結果、花崗岩の地下水中には、鉄酸化/還元細菌、硫酸還元菌が存在することがわかった (Fig.6)。しかし、深度によって微生物現存量は異なっていた。例えば、鉄酸化/還元細菌に関していえば、このバクテリアは 130~330 m, 600~880 m の深度でピークを示していた (Fig.7)。深度 180~330 m では酸化還元電位 (Eh) は 0~-16 mV, pH7.8~8.2 であり、深度 650~880 m では Eh は-260~-370 mV,

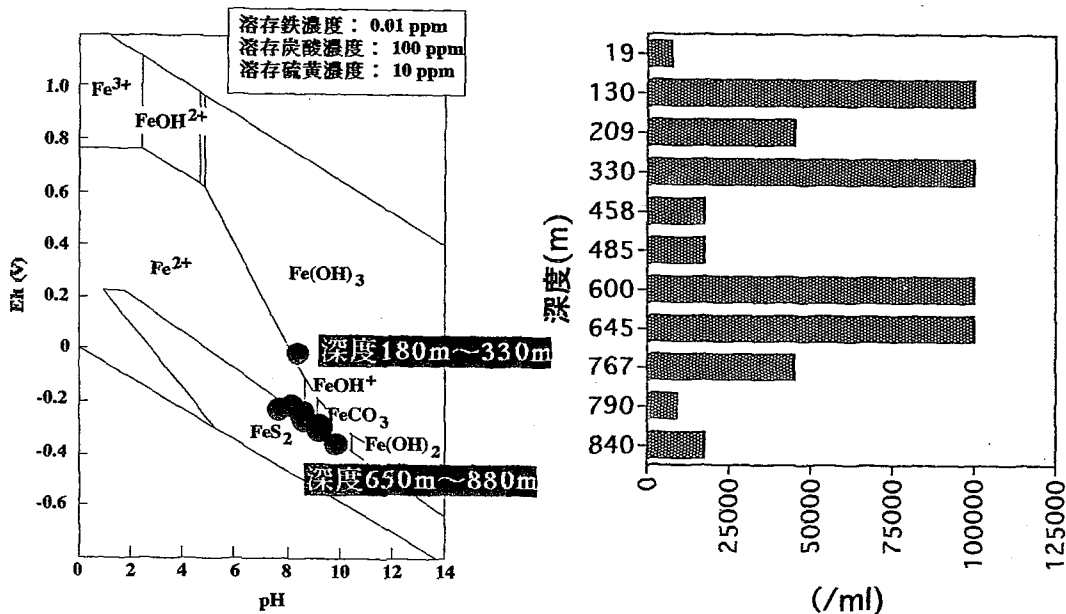


Fig.7 Fe-phase diagram in the pH-Eh regime simulating a presumed subsurface condition (left). maxima of the iron-oxidizing/ reducing bacterial counts (right) were found at the depths correspondeng to the Fe-phase boundaries (left).

pH9.0~9.5 という測定結果がある。また、これらの深度はそれぞれ鉄の化学種の酸化還元境界 ($Fe^{2+}/Fe(OH)_3$ または FeS_2/Fe^{2+} , $FeS_2/FeCO_3$) に相当していた[15]。つまり、酸化還元境界における鉄元素の状態は、鉄の形態を変化させるエネルギーが少なくすむので、バクテリアにとって非常に利用しやすい形態にある。そのため、その深度でのみ特異的に鉄関連細菌が増えるものと思われる。また、逆にバクテリアが増殖することによってその環境中の酸化還元電位および pH が変化し、酸化還元境界をもたらしている可能性も考えられる。一方、硫酸還元菌に関していえば、深度 458~485 m のみにおいて硫酸還元菌の存在が確認された。その理由としては、これらの深度では硫酸イオンの濃度が他と比較して少し高かったこと、また、以前の近傍深度での調査[16]から、これらの深度では酸化還元電位が硫酸還元菌の増殖しうる -100~-200 mV の範囲にあると予想されることなどが考えられる。ちなみに各深度における全鉄および硫酸イオンの濃度は、Table 2 のとおりである [13,16] (Table 2)。

3.3 堆積岩 (瑞浪層群) 中における微生物群集 —TH-6 孔を例として—

3.3.1 堆積岩における地下水中の微生物量

採取した地下水中の微生物の全菌数は、約 10^6 cells/ml であった (Fig.8)。この試錐孔の岩相からは、有機物濃度はそれほど高くないと予想される。しかしながら、この全菌数も海洋表層水と同様の密度であり、かなり高い生物量が存在しているものと考えられる。また、全深度において比較的高い細胞密度数が得られた。この理由としては、地下微生物の生息に必須である水、空隙率が深く関係しているものと思われる。つまり、これらの採水深度における岩相は、砂岩、礫岩を主とした比較的空隙の大きいものである。したがって微生物が生息しうるだけの十分な空間と水 (循環する地下水) が存在していたため、有機物濃度の割には比較的高い生物量が得られているも

Table 2 Concentrations of iron (II, III and total) and sulfate in the granite and sedimentary rock waters in the Tonoarea, Japan [13,16]

| 採水地点 (m) | Fe ²⁺ (ppm) | Fe ³⁺ (ppm) | ΣFe(ppm) | SO ₄ ²⁻ (ppm) |
|----------|------------------------|------------------------|----------|-------------------------------------|
| DH-3 | | | | |
| 208 | <0.05 | <0.05 | <0.02 | 2.27 |
| 330 | <0.05 | <0.05 | 0.06 | 6.66 |
| 485 | <0.05 | <0.05 | 0.03 | 12.7 |
| 600 | <0.05 | <0.05 | 0.03 | 8.32 |
| 645 | <0.05 | <0.05 | 0.03 | 9.1 |
| 790 | <0.05 | <0.05 | <0.02 | 6.84 |
| 840 | <0.05 | <0.05 | <0.02 | 6.21 |
| TH-6 | | | | |
| 104 | 0.03 | 0.04 | 0.06 | 35 |
| 132 | <0.02 | <0.02 | 0.04 | 51 |
| 153 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | 41 |
| 177.5 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | 82 |

のと推測される。

一方、堆積岩相は花崗岩層よりも地表に露出している期間が長いので、地表からのバクテリアの混入の可能性も十分に考えられる。しかし、微生物混入があったにせよ、その微生物が地下深部で増殖ないし生残できなければ、地下深部で長期にわたって 10^6 cells/ml という密度は維持できないと思われる。したがって混入微生物にせよ地下固有の微生物にせよ、深部地下環境は 10^6 cells/ml の密度を維持するだけの環境ポテンシャルを持っていると言える。

3.3.2 堆積岩における地下水中の特定微生物

TH-6 孔における地下水にも、鉄酸化/還元細菌、硫酸還元菌が存在していた (Fig.9)。鉄酸化/還元細菌はどの深度においても観察された。また、硫酸還元菌に関しては深度 153 m を除いて観察された。これらの微生物密度は、Fe、SO₄²⁻濃度か、もしくはその深度の地質構造 (破碎帯・地下水量など) に依存すると考えられ、地下水の水文学・地球化学的研究と合わせてさらなる研究が必要である。

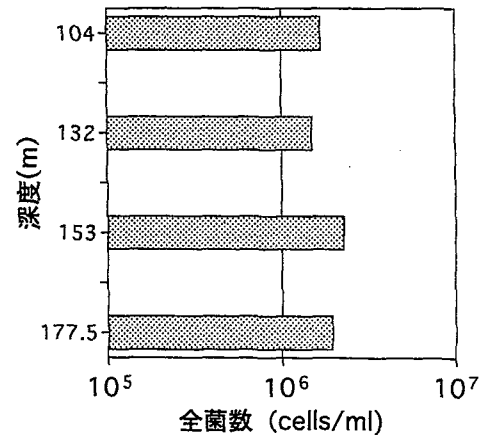


Fig.8 Total bacterial counts in the sedimentary rocks groundwater (TH-6)

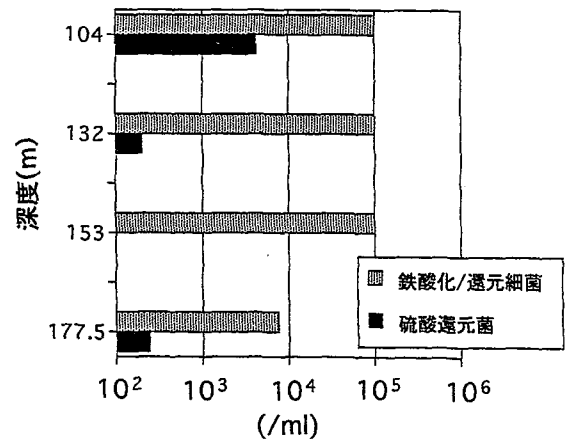
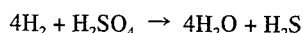
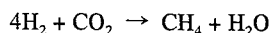


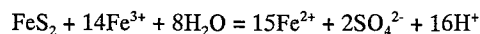
Fig.9 Amounts (CFU, colony forming unit) of iron-oxidizing/reducing bacteria and sulfate-reducing bacteria in the sedimentary rock groundwater (TH-6)

4 深部地質環境における物質の変換・移動に対する微生物の影響

地下環境中の微生物は、そこに存在するメタンや硫化水素、水素、鉄、マンガンなどの物質を利用して増殖している可能性が高い[17,18]。これらのガスや化合物は、微生物の活動によっても生産されたり形が変化すると考えられている。例えば、メタン生成菌、硫酸還元菌によって以下のような反応が起こる。



また、地下環境中においては鉄酸化および鉄還元細菌が物質循環または物質変換に大きく関与しているものと考えられる。例えば、鉄還元細菌の反応によって磁鉄鉱(マグネタイト $\text{Fe}_2^3\text{Fe}^{2+}\text{O}_4$) が生成することがわかっている[19]。今まで知られている磁性細菌の多くは磁鉄鉱を細胞内に有するが、ある種の細菌はこれを細胞外で生成することが報告されている。また、黄鉄鉱(パイライト FeS_2) の表面には鉄酸化細菌が選択的に吸着し、その結果鉱物の表面性質は疎水性から親水性に変化することがわかっている。つまり、鉄酸化細菌によってパイライトの溶解・生成の反応も起こっていると考えられている。この微生物の「界面活性作用」を用いて鉱物中のパイライトを特異的に分離、または除去できる可能性があると考えられている[20]。



また、地下に埋蔵されているウランの濃縮に、微生物が関与している可能性もある。

これらの地下微生物が実際に、地下環境中においてどのような役割を果たしているかについては興味深い問題であり、今後の更なる研究の成果が期待される。

謝辞

本研究の一部は、文部省「平成10年度科学研究費補助金(国際学術研究)」(課題番号10044067)、動力炉・核燃料開発事業団(現・核燃料サイクル開発機構)「先行基礎工学分野に関する平成10年度研究協力」、日揮株式会社奨学寄付金により行われた。

参考文献

- [1] Gold, T.: The deep, hot biosphere. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 6045-6049 (1992).
- [2] Whitman, W. B., Coleman, D. C., Wiebe, W. J.: Prokaryotes: The unseen majority. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 6578-6583 (1998).
- [3] Fredrickson, J. K., Onstott, T. C.: Microbes Deep inside the Earth. *Sci., Am.* October (1996).
- [4] Amy, P. S., Haldeman, D. L. (eds): *Microbiology of the Terrestrial Subsurface*, CRC Press, Boca Raton, Florida (1997).
- [5] Parkes, R. J., Cragg, S. J., Bale, J. M., Getliff, K. G., Rochelle, P. A., Fry, J. C., Weightman, A. J., Harvey, S. M.: Deep bacterial biosphere in Pacific Ocean Sediments. *Nature* **371**, 410-413 (1994).
- [6] Stevens, T. O., McKinley, J. P.: Lithoautotrophic Microbial Ecosystems in Deep Basalt Aquifers. *Science* **270**, 450-454 (1995).
- [7] Krumholz, L. R., McKinley, J. P., Ulrich, G. A., Suflita, J. M.: Confined subsurface microbial communities in Cretaceous rock. *Nature* **386**, 64-66 (1997).
- [8] Aoki, K., Komuro, K., Seo, T., Ota, K., Matsushima, E.: Microbiological examination of deep groundwater. *Proceedings of the 1st Symp. on GeoEnvironments* 1991, pp. 285-290
- [9] Vargas, M., Kashefi, K., Blunt-Harris, E. L., Lovley, D., R.: Microbiological evidence for Fe(III) reduction on early Earth. *Nature* **395**, 65-67 (1998).
- [10] Adams, M. W. W.: Enzymes and proteins from organisms that grow near and above 100°C. *Ann. Rev. Microbiol.* **47**, 627-658 (1993).
- [11] 上木 勝司, 永井 史朗: 嫌気微生物学, 養賢堂, 東京, pp.1-323 (1993).
- [12] 長沼 毅: 地下生物圏研究の展望, 月刊地球/号外, **19**, 199-203 (1997).
- [13] 岩月 輝希, 豊島 賢治, 吉田 英一: 新地層を対称とした地下水の地球化学調査の現状, 原子力バックエンド研究, **4**, 73-81 (1998).
- [14] 門田 元, 多賀 信夫 編: 海洋微生物研究法, 学会出版センター, 東京, pp.33-52 (1990).
- [15] 岩月 輝希, 濱 克宏: 深部花崗岩の鉱物組成と地下水の地球化学的性質, 日本地球化学会年会講演要旨集, 182 (1998).
- [16] Yoshida, H., Seo, T., Nohara, T., Ota, K., Hama, K., Kodama, K., Iwatsuki, T.: Data Compilation of Geoscientific studies of Tono Uranium Deposits, Central Japan. PNC TN7410 94-015 (1994).
- [17] Banfield, J. F., Neaksib, K. H.: *Geomicrobiology: Interactions between microbes and minerals*, (Banfield, J. F., Neaksib, K.H. ed.) Mineral Society American (1997).
- [18] Ehrlich, H. L.: *Geomicrobiology*, Marcel Dekker, New York (1996).
- [19] Lovley, D. R., et al.: Anaerobic production of magnetite by a dissimilatory iron-reducing microorganism. *Nature*

330, 252-254.

[20] <http://criepi.denken.or.jp/RD/nenpo/1996J/96seika50-j.html>.