

豊羽鉱山地下熱水環境中の微生物群集解析

Microbial community analysis of subsurface hydrothermal environments in Toyoha mine, Hokkaido.

東 陽介[1], # 丸山 明彦[2]

Yowsuke Higashi[1], # Akihiko Maruyama[2]

[1] 生命研, [2] 工技院・生命研

[1] NIBH, [2] NIBH, AIST

海底熱水系調査のケーススタディーとして北海道豊羽鉱山を対象に、地下坑内で噴出する熱水や掘削コア等の試料採取を行い、生息する微生物群集の特徴や掘削に伴うコンタミネーションの問題点について検討した。地下550m地点で水平掘削した掘削孔からの熱水およびその周辺岩盤からの熱水中には 10^5 cells ml⁻¹ の微生物が確認された。また、アンモニアやチオ硫酸塩を含む無機培地中 65°C で培養可能な好熱菌群が 10^1 レベルで検出された。しかし、掘削孔からの熱水試料では、無機培地以外の培地で増殖可能な好熱菌は認められず、代わりに多数の中温菌が検出された。現在、DNA-RNA ハイブリダイゼーション解析や優占微生物の系統解析等を進めている。

海底熱水系における生物活動および生物圏・地殻圏の相互作用の解明を目的とした科学技術振興調整費プロジェクト（アーキアンパーク・プロジェクト）において、海底熱水系の掘削が、平成13年に予定されている。これに先だて、海底熱水系調査のケーススタディーとして北海道豊羽鉱山内の地下環境を対象にし、地下500~600mの坑内で噴出する熱水や掘削コア、掘削循環水、掘削孔からの熱水等の試料採取を行うとともに、現場培養実験や顕微鏡解析等を行い、坑内に生息する微生物群集の特徴や掘削に伴うコンタミネーションの問題について検討した。

地下550m地点から水平方向に掘削し到達した熱水脈から噴出する熱水、およびその熱水脈周辺の岩盤から噴出する熱水を採集した。一部は即座にホルマリン固定を行い顕微鏡による現場微生物密度の測定に用いた。一方で現場水を用意した各種培地（好気性有機・無機あわせて3種類の培地と嫌気性培地である硫酸還元菌用培地、メタン生成菌用培地）に現場で直接接種し、熱水中(65°C)および 35°C 恒温槽で現場培養を行ない増殖の有無を確認した。同時に掘削地点では MPN 法をその他の地点では簡易段階希釈による現場培養を行い、各地点に優占すると思われる微生物群の特定を行った。

掘削口から噴出する熱水においては、 10^5 cells ml⁻¹ レベルで微生物が存在した。MPN による現場培養(65°C)では、無機培地中で増殖できる好熱菌群が 10^1 レベルで存在した。しかし、その他の培地では 65°C 培養での増殖は認められず、また 35°C での MPN で 10^5 cells ml⁻¹ レベルの中温菌の存在が確認された。したがって、大半の微生物は掘削時に用いた循環水より混入した可能性が高いと考えられた。硫酸還元菌の増殖もみられたが、 $<10^1$ cells ml⁻¹ レベルでしかなく、群集の中では非常に少ない個体群であることが示唆された。

一方、掘削現場近傍およびその他の坑内岩盤から噴出する熱水中にも、微生物が $10^3 \sim 10^5$ cells ml⁻¹ で存在することが確認された。好気性有機物培地や好気性無機物培地での 65°C 培養によって好熱菌の生息も認められ、段階希釈培養により、それらが $10^2 \sim 10^3$ cells ml⁻¹ レベルで存在し地下高温環境での微生物生産に寄与していることが示唆された。一方、嫌気性菌用培地では、数日間の培養期間中ではほとんど増殖が確認されなかったが、100 倍濃縮試料や長期培養実験では増殖が確認された。

現在、さらに DNA-RNA ハイブリダイゼーションによる顕微鏡解析や優占微生物の系統解析等を進めている。これらの結果から、豊羽鉱山の地下熱水環境における微生物生態系の特性を解明するとともに、掘削が与える微生物学的な問題点について考察する。