

## 豊羽鉱山の熱水中の微生物および微生物活動

## Microorganisms and microbial activities in hydrothermal systems in the Toyoha mine

# 桑原 朋彦[1], 才田 春夫[2], 内海 真生[3]

# Tomohiko Kuwabara[1], Haruo Saida[2], Motoo Utsumi[3]

[1] 筑波大・生物科学, [2] 富国大, [3] 筑波大・農工

[1] Inst. Biol. Sci., Univ. Tsukuba, [2] Toyama University of International Studies, [3] Inst. of Agric. and Forest Eng., Univ. of Tsukuba

<http://mc-net.jtbcom.co.jp/earth99/>

海底熱水系は高圧・高温・暗黒・重金属環境・急な酸素濃度勾配などの化学的・物理化学的特徴を有し、多量の微生物が生息する場所として注目されている。微生物と地質の相互作用を研究するアーキアンパーク計画では、我々は上記の特徴の中で特に酸素環境に注目している。本研究では、海底熱水系微生物研究に先立ち、地上熱水系である北海道豊羽鉱山をモデルとし、岩石および熱水を採取して、そこに生息する微生物および微生物活動を解析した。その結果、金属硫化物と思われる黒色固形物を生成・消失させる微好気性の微生物活動を見いだした。また、メタン酸化速度を算出するとともに、好気性細菌の中では好熱性細菌が優先するという知見を得た。

海底熱水系は高圧・高温・暗黒・重金属環境・酸素濃度勾配などの化学的・物理化学的特徴を有し、多量の微生物が生息する場所として近年注目を集めている。アーキアンパーク計画はこれらの微生物と地質の相互作用を研究する目的で開始された。我々のグループは、上記の特徴の中で、特に酸素濃度勾配に注目し、嫌気性および微好気性の微生物に焦点を当てた研究を行う。しかし、海底熱水系の試料を採取できる機会は限られている。そこで本研究では、海底熱水系微生物研究に先立ち、地上熱水系である北海道豊羽鉱山をモデルケースとし、岩石および熱水を採取してそこに生息する微生物および微生物活動を解析することを目的とした。

豊羽鉱山において、地下 500 m の Site A および地下 560 m の Site B から噴出している熱水、また、地下 600 m の Site C において掘削した岩石片を、さらに、掘削現場の澤水が流れるところに形成していた白色結晶様固形物を採取して微生物試料として以下の解析に供した。

(i) 嫌気性および微好気性の独立栄養細菌を対象とした硫化ナトリウム濃度勾配固相培地の有効性の検討：紅色イオウ細菌用の、硫化ナトリウムを電子供与体（エネルギー源）、重曹（0.2%）を炭素源とした、pH 8-9 の培地を用いた。試験管中に海砂を担体とした固相培地を作成し、上から下に 0.04-1.1% の段階的硫化ナトリウム濃度勾配をつけた。

白色結晶様固形物を接種し、試験管中に空気を入れておいたものでは、3日後に、固相培地下部に金属硫化物と思われる黒色固形物が形成され、その直上に白色固形物の層が形成されていた。これに対し、他の微生物試料では空気が存在するものでも、あるいは、白色結晶様固形物を接種したものでも澤水を満たしたものでは、このような現象は認められなかった。その後培養試験管を室温に放置すると、黒色固形物は消失した。この時、固相培地を崩して培地の pH は約 4 にまで下がっていた。この事実は、黒色固形物の形成と消失には微好気性微生物の働きが関与することを示唆する。我々はこの微生物が地質形成に関わる可能性があると考え、現在、黒色固形物等の元素分析を行っている。

(ii) バイアルインキュベーション法による溶存メタン酸化速度測定法の検討：微生物によるメタン酸化は他の従属栄養生物への有機炭素供給源として重要であるにもかかわらず、熱水系におけるメタン酸化速度を直接測定した研究例は少ない。そこで、バイアルを用いた保温インキュベーション実験を現地で行い、熱水中の溶存メタン濃度並びに溶存メタン酸化速度に関する知見を得た。Site A および B から採取した熱水を直接バイアルに採取し、直ちに気泡が入らないように密栓後、現場水中、暗所で保温した。保温開始直後ならびに 2 および 24 時間後に塩化第二水銀溶液を添加しメタン酸化活性を含む微生物活性を停止した。試料中の溶存メタン濃度を自動気体濃縮装置付きメタン分析計で測定し、各サイトのメタン酸化速度を溶存メタン濃度の経時変化から求めた。

熱水採取時の溶存メタン濃度は Site A で 3,400 nM、Site B で 2,600 nM であった。また、溶存メタンの消失の速度は Site A で 0.007 /h、Site B で 0.008 /h であった。これらの結果から豊羽鉱山熱水中での有機物生産にメタン酸化細菌が寄与していることが示唆され、本法が熱水中のメタン酸化細菌の微生物活動を解析するのに有効であることが示された。

(iii) 好気性従属栄養細菌群集の評価法の検討：微生物試料全体の群集解析には好気性細菌の性質を明らかにしておく必要がある。そこで、Site A および B の熱水中の微生物濃度を測定するとともに、それぞれに 0-600 mgC/L のペプトンを添加して現場培養することにより増殖に対する最適添加濃度を調べた。細菌密度は Site A, B とともに 1,000/mL であった。一方、最適添加濃度は Site A の群集では 80-200 mgC/L であったのに対し、Site B の群集に

対してはペプトンは阻害的に作用した。従って、両者は異なる微生物群集から構成されるらしい。Site A の熱水中の微生物群集は 30 °C では増殖しなかったが 60-80 °C で顕著に増殖した。よって、好気性の従属栄養細菌の中では好熱性細菌が優先するといえる。Site B の熱水中の微生物群集についても、現在、同様な解析を行っている。本研究では、増殖に対するパラメーターとして、有機物添加濃度と温度を選んだが、他のパラメーター（例えば、酸素濃度や圧力）を組み合わせることにより、より多元的に微生物群集を性格付けする必要がある。