

東濃地下堆積岩および花崗岩に生息する微生物の現存量および群集組成

Microbial abundance and species composition in the Tono subsurface biosphere based on lipid biomarker analysis

村上 由記[1], 谷本 大輔[1], 渡辺 史子[1], 濱 克宏[2], 岩月 輝希[2], 天野 健治[3], 長沼 毅[1]
Yuki Murakami[1], Daisuke Tanimoto[1], Fumiko Watanabe[1], Katsuhiko Hama[2], Teruki Iwatsuki[2], Kenji Amano[2], Takeshi Naganuma[1]

[1] 広大・院・生物圏, [2] サイクル機構東濃センター, [3] サイクル機構 東濃センター

[1] School of Biosphere Sci., Hiroshima Univ., [2] JNC TGC

近年、地下深部において豊富な微生物バイオマスが存在するという観察結果が集積している。地下微生物の生息域は「岩石およびその割れ目表面」と「地下水」が考えられるが、これらのサンプルを“未汚染”の状態で採取することは容易ではない。今回我々は、深部地下研究をおこなっている核燃料サイクル開発機構の東濃地科学センターにおいて、高品質（minimized contamination）・大量（地下水採取量：約100L）のサンプル採取をおこなうことができた。また、それらの岩石および地下水サンプルを対象として、微生物のバイオマスおよびその種組成についての解析を行ったので報告する。

本研究では、東濃地科学センター所有のボーリング孔（MIU-4号孔；掘削深度790.1m）から、地下水および岩石試料（堆積岩・花崗岩）を採取した。また、掘削工程における陸上微生物のコンタミネーションを評価するため、掘削流体および掘削流体として使用した河川水も採取した。微生物現存量の推定を行うために、全菌数・生菌数・リン脂質リン酸濃度の測定を行った。全菌数および生菌数は蛍光顕微鏡を用いて観察をおこない、生菌数については膜健全細胞・呼吸活性細胞（CTC活性）・エステラーゼ活性細胞を計数した。脂質分析用の地下水試料は各深度につき約100L採取した。各深度の地下水および岩石中に存在する微生物群集を対象として、リン脂質リン酸（LP04）およびリン脂質脂肪酸（PLFA）の脂質分析を行った。岩石試料は比較的割れ目や風化の少ない部分を採取し、掘削によるコンタミネーションが起こっていないと考えられる岩石コアの内側を嫌氣的・無菌的にサブコアリングによって採取した。LP04は過硫酸分解後にモリブデンブルー法を用いて測定し、地下微生物バイオマスの推定を行った。各試料のPLFAは、ガスクロマトグラフィーによって組成を決定し、これを解析することによって地下微生物相を推定した。また、各試料間の脂肪酸組成の類似度をクラスター分析し、デンドログラムを作成した。

地下水中の全菌数について蛍光顕微鏡を用いて観察したところ、 $0.1 \sim 1.1 \times 10^5$ cells ml⁻¹の微生物の存在が確認された（染色液：SYBR Green I）。また、生菌数の計数結果は、膜健全細胞： $1.1 \sim 6.0 \times 10^4$ cells ml⁻¹（16.6～100%）、呼吸活性細胞： $\sim 3.8 \times 10^3$ cells ml⁻¹（～29.4%）、エステラーゼ活性細胞： $\sim 1.3 \times 10^4$ cells ml⁻¹（～51.5%）となり、目的とする検出方法によって生菌率はばらついていた。CTC活性細胞は、花崗岩下部の2深度では検出することができなかった。一方で、脂質分析から得られたLP04濃度は、 $0.7 \sim 2.8 \times 10^4$ cells ml⁻¹（換算式： $1 \text{ mol LP04} = 7.47 \times 10^{15}$ cells 大腸菌）となり、CTC活性細胞と同じく花崗岩深部の2深度の試料（掘削深度584m, 754m）で最も低い値を示していた。地下水中の微生物に関するPLFA組成に基づいてクラスター分析をおこなった結果、浅部3深度と深部2深度の試料間で2つのクラスターにわかれ、堆積岩を含む浅部3深度の試料では硫酸還元菌およびメタン酸化細菌のバイオマーカー-PLFA（18:1）が比較的多く存在し、深部2深度の試料では細胞膜が硬化する条件（低温・高圧など）で膜流動性（membrane fluidity）を維持するPLFA（24:0, 20:5）を持つ微生物が存在することが明らかになった。以上のような微生物群集の相違は、地下水におけるpH・有機物濃度等の化学組成、岩相および間隙率、透水性などの地質学的特性とは有意な関係が見られなかった。

堆積岩コア試料中から、iso15:0, ante15:0, 16:1, ante17:0などの硫酸還元菌バイオマーカーとも考え得るPLFAが多数検出され、また各試料間においても脂肪酸組成が異なっていた。堆積岩では多様な微生物群集組成が形成されているようだ。一方、花崗岩地下水からは豊富な微生物バイオマスおよび多様な群集が検出されたのに対して、花崗岩岩石コア中心部において微生物はほとんど検出されなかった。深度151m以深のほとんどの花崗岩コア試料において、LP04は検出限界以下の値を示した（検出限界値： 10^5 cells g⁻¹）。また、同試料ではPLFA分析の結果も、バックグラウンド値とほとんど同じ分析結果を示し、堆積岩と比較して健岩部花崗岩における微生物バイオマスは著しく低いことが明らかになった。