# 科学研究費補助金研究成果報告書

平成21年6月22日現在

研究種目:基盤研究(C)研究期間:2006~2008 課題番号:18540479

研究課題名(和文) アパタイトから探る風化過程における微生物の役割

研究課題名(英文) Role of microbes on apatite dissolution during granite weathering and soil formation

研究代表者

根建 洋子(NEDACHI YOKO)

鹿児島純心女子大学・看護栄養学部・教授

研究者番号:80290659

#### 研究成果の概要:

九州及び山陰地域から採取した花崗岩の風化プロファイルを鉱物学的・化学的に分析した結果、25億年の花崗岩の風化と多くの類似性が見られることがわかった。具体的には風化の初期段階におけるアパタイトの分解とP(リン)の溶脱、希土類元素を含む多くの元素の挙動の類似性である。現世の風化プロセスには微生物活動が密接に関わっているとされており、特にリンや希土類元素の挙動の類似性は25億年前の地表における生物活動との関連から興味深い。風化プロファイルから微生物を単離・同定したが、今後は直接バイオタイトまたはアパタイトから単離・同定しその分解と微生物との関わりを探る予定である。

### 交付額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合 計
2006年度	1, 400, 000	0	1, 400, 000
2007年度	1, 100, 000	330, 000	1, 430, 000
2008年度	800, 000	240, 000	1, 040, 000
年度			
年度			
総計	3, 300, 000	570, 000	3, 870, 000

研究分野:地球惑星科学

科研費の分科・細目:岩石・鉱物・鉱床学

キーワード:地球表層環境、風化、微生物、アパタイト

## 1. 研究開始当初の背景

今からおよそ 38 億年前と考えられている 生命の発生以来,生命と地球環境は密接に関 わりながら進化してきた。特に酸素発生型シ アノバクテリアの誕生により大気・海洋の酸 化還元状態は大きな影響を受けたと考えら れている。その変遷についてはさまざまな地 球科学的データを用いて推定されているが, 大気や海洋中の酸素量が現在と同レベルに なった時期を中心に未だホットな議論が続 いている。 地質時代の岩石風化によって形成された 古土壌は、太古の地球環境を探る重要なツー ルの一つと考えられているが、本研究の全体 構想は、古土壌を用い特に太古代-原生代境 界以前の地球表層環境及び地球表層環境と 生物活動の関連を探ることにある。

Gay と Grandstaff (1980) による報告から本格的に始まった古土壌から太古の地球環境を探る研究のほぼ全ては、地表での生物活動はなかったという仮定のもとに行われているといっても過言ではない (Rye and Holland,

1998)。一方、Watanabeら(2000)は、26億年前の南アフリカの古土壌をさまざまな地球科学的手法で解析した結果、土壌生成当時、陸上に微生物が存在した可能性が高いと報告している。また、現在、NASA「地球外生命と生物進化プログラム」の一つとして、20億年以前の地表における生物活動と地球大気組成の関わりについての研究が始められており、「炭素源と水とリンなどの栄養素が得られるところではどこでも微生物群が存在しうる」という仮説の検証などを軸に研究が進められている。

### 2. 研究の目的

本課題研究では、特にアパタイトに注目し、 風化と微生物との関わりについて研究を進 める。アパタイトに着目した根拠として次の 点が挙げられる。(1) 花崗岩上に 24.5 億年 に発達したプロント古土壌を研究する過程 で, (a)風化に伴ってアパタイトが分解され二 次リン酸塩鉱物が形成されている, (b)顕著な アパタイトの分解やリンの溶脱は無機酸に よる場合と有機酸による場合が想定される, (c)アパタイトの分解に伴って鉄や希土類元 素が特徴的な挙動を示すことが明らかにな った, 点, (2) 現世の風化過程におけるア パタイトの溶解とリン酸塩鉱物の生成や希 土類元素の分布に微生物が重要な役割を果 たしていると報告されている点,(3)リン 酸エステルが DNA, RNA の骨格を構成する など、リンは生物にとってクリティカルな元 素であるが、太古代、原生代に風化に関与し た陸上微生物が存在した場合アパタイト中 のリンを利用した可能性が高い点, である。

## 3. 研究の方法

## (1) フィールドからのサンプル採集

①糸島花崗閃緑岩(福岡県:2006年度)

予備調査として福岡県糸島半島の花崗閃緑岩風化帯でフィールド調査を行いロードカットされている地点を探し、新鮮な原岩から土壌までの連続サンプルを採集した。採集地点の地形や植生,天候など微生物相に影響を及ぼす採取時の状況を記録した。

②徳之島花崗閃緑岩(鹿児島県:2007年度)

徳之島は亜熱帯にあることから、この環境下での風化と微生物の関わり探るためサンプル採集を行った。サンプルは、他の微生物による汚染を防ぐために、コアストーンと硬い岩石は、滅菌プラスチックバッグに入れ封入し、サプロライトと土壌サンプルは滅菌ファルコンチューブで採集し、滅菌プラスチックバッグに入れた。微生物同定用サンプルは、採集後、できるだけ迅速に-80 度で冷凍保存した。

③広島花崗岩(山口県:2007年度)



バイオタイトの含 有量が高いこととうび そのサイズが大きい ことからサンプルが 集を行った(図1)。 サンプルの採集方法 は徳之島花崗 と同様である。

### 図1 広島花崗岩サンプリング地点

## (2) 風化プロファイル中のアパタイトおよ び微生物の観察

花崗岩のアパタイトは通常バイオタイト中の包有物として存在する。バイオタイトを摘んで2つに割り、アパタイトまたはアパタイトが溶解した後のくぼみが見えるようにしてスタブに固定しSEMで観察した。

## (3) 微生物の培養

-80℃で保存したサンプルを 0.9%NaCl で 撹拌し、サンプル中の微生物を貧栄養環境 (0.1LB 培地) で培養した。pH は約 7.5 に 調整した。単一コロニーからの培養を繰り返 して精製した後、コロニーをかきとり 100mM tris Hystroxy Amino Methane + 10mM EDTA (pH8.0) で DNA を抽出し、 -80℃で冷凍保存した。

DNA の塩基組成の決定は、次の手法で行った: (i) バクテリア DNA の分離精製 (Benzyl Chloride 法), (ii) DNA の切断, (iii) DNA 断片の分離と分画 (アガロースゲル電気 泳 動 法), (iv) Random amplified polymorphic DNA fingerprinting (RAPD)法によるバクテリアのグループ分け, (v) 16SrDNA の PCR 増幅, (vi) 16SrDNA の塩基配列決定, (vii) 決定された 16SrDNA の塩基配列を DDBJ (DNA Data Bank of Japan)の ClustalW を用いて多重配列解析を行い,相同性検索エンジンを用いて相同性検索を行う。

得られた塩基配列と、Ribosomal Database Bank Project II および National Center for Biotechnology Information から得られた菌 種の塩基配列とを比較し、近隣接合法により 分子系統樹を作成した。

## (4) その他関連するデータの収集と解析

風化プロファイル全体にわたる主要・微量元素分析(希土類元素の分析,鉄の2価・3価の分析を含む)をActivation Laboratory社(カナダ)に依頼し、得られたデータを解析して風化に伴う元素の挙動について調べた。

#### 4. 研究成果

## (1) 風化プロファイル中のアパタイトおよ び微生物の観察

糸島花崗閃緑岩および広島花崗岩中のバイオタイトをハンドピックしSEMによる観察を行った。サプロライト及び土壌中ではアパタイトはほぼ溶解しておりており、バイオタイトにはそれを示すピットがみられた。また、二次的リン酸塩鉱物の存在が確認された。これは Tauntonら(Chemical Geology, 2000)による報告と同様である。しかし、彼らの報告にある REE リン酸塩鉱物上の鉱物化した微生物、細胞様形態などは観察することができなかった。

## (2) 風化プロセスでの元素の化学的挙動 主要・微量元素分析結果は、徳之島花崗閃 緑岩、広島花崗岩について得られている。 ①CIA

主要元素の分析結果から、風化の程度を示す指数である CIA (chemical index of alteration)を計算した。どちらもプロファイルの上部 (地表) に向かって CIA が増加していることから、各プロファイルは同じ原岩からの風化産物であることが明らかになった。

#### ① Zr、Ti、Hf

これらは、風化プロセスの中で比較的動きにくい元素とされているが、風化サンプルのHf/Zr 比、Ti/Zr 比は原岩の比から 40%を超えて変動することはなかった。この結果も、2つのプロファイルが原岩の風化によるものであることを示している。

## ② Ca、Na、Si、Al

Ca/Ti、Na/Ti は風化の早い段階で急激な減少を示した。これは花崗岩を構成する斜長石の分解と密接に関っていると考えられる。Si/Ti はほぼ一定であるが、Al/Ti は地表近くで増加した。

## ③ Mg, K

Mg/Ti、K/Ti ともに CIA の増加に伴い減少の傾向を示した。苦鉄質鉱物や正長石の分解に伴って溶脱したと考えられる。

#### 4 Rb, Cs, Sr, Ba

Rb/Ti、Cs/Ti は同じアルカリ金属である K/Ti と類似の、Mg/Ti、K/Ti はアルカリ土類 金属である Ca と類似の傾向を示した。これらは等しい電荷を持ちイオンサイズが近いため、マグマの結晶時や水-岩石相互作用の際同一の挙動を示すと考えられる。

#### (5)Fe

CIA の増加に伴い Fe(II)/Ti は減少し、Fe(III)/Ti は増加した。これは原岩に含まれた 2 価の鉄が酸化して 3 価の鉄となりその場に留まったと考えられる。大気中の酸素濃度が 20%である現世の風化では特徴的な傾向である。

## ⑤ P及び希土類元素 (REE)

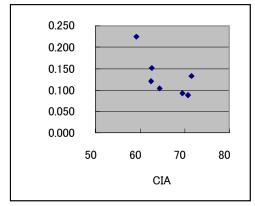


図2 広島花崗岩風化プロファイルにおける P の挙動

図2に示すようにP/Ti は風化の早い段階から急激な減少を示している。

Pは花崗岩や花崗閃緑岩中ではアパタイトに多く含まれることから、バイオタイトに内包されたアパタイトが風化のサプロライトの段階から溶解しているという SEM の観察結果と密接に関連していると考えられる。徳之島花崗閃緑岩では地表 30cm、広島花崗岩では地表 10cm で再度 P の増加がみられるが、これは地表の生物活動の影響によるものと考えられた。

一方、図3に示すようにREE/TiではP/Tiにみられる減少は観察されなかった。SEMでは二次的なリン酸塩鉱物が観察されることから、アパタイトの溶解によりCaが溶脱し、REEとPが結合して難容性のREEリン酸塩鉱物が形成されたことが示唆される。なお、コンドライトで規格化したREEパターンで、Ce異常はみられなかった。

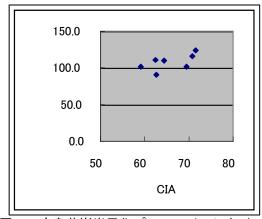


図3 広島花崗岩風化プロファイルにおける希土類元素の挙動

以上のうち、Zr、Ti、Hf、Ca、Na、Fe、Sr、Ba、P及びREEの挙動は、我々の25億年前のPronto古土壌の研究結果とよい一致を示しており興味深い。一方、古土壌ではCIAの増

加に対して Si/Ti 及び Al/Ti の減少が見られている。Si、Al の挙動は正長石の分解に関連していると考えられ、この違いは風化に関与する溶液の pH の違いによるのではないかと推察された。これは今のおよそ 100 倍であったされている高い二酸化炭素濃度によるものであろう。25 億年前の古土壌では Mg、K、Rb 及び Cs の増加がみられるが、これは、風化後のメタソマティズムによる添加と考えられている。

## (3) 風化プロファイル中の微生物

今回のサンプルでは、SEM による観察でバイオタイト中の微生物を観察することができなかった。そのため、各サンプルを 0.9%NaCl に懸濁した液 0.1ml を 0.1LB 培地に接種し、 37%恒温槽でインキュベーションを行った。

### ①徳之島花崗閃緑岩

風化プロファイルから単離・培養した微生物コロニーより抽出したDNAを1%アガロースゲル電気泳動法により確認した。さらに、PCR (polymerase chain reaction) 増幅の際の確認にも利用した。その結果を図4に示す。

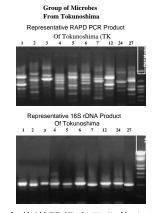


図 4 徳之島花崗閃緑岩風化物より抽出された微生物のアガロースゲル電気泳動結果 (上:代表的な RAPD PCR 生成物、下:代表的な  $168\,\gamma$  DNA)

表2にDNA塩基配列により同定された微生物を示す。

表 2 DNA より得られた徳之島花崗閃緑岩風 化物より得られた微生物

10 70 570 570 570 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10				
Genus	species			
Agrobacterium	tumefaciens	1		
Halomonas	_	2		
Nitrobacteria	iranicum	3		
Pseudomonas	diminuta	5		
(Brevundimonas)				

Sphingobacterium	_	6
Stenophomonas	maltophilia	2
unknown	_	4

最も優勢であったのは Sphingobacterium、次いで Pseudomonas (Brevundimonas) diminuta であった。 どちらもグラム陰性で好気性のバクテリアである。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

## 〔雑誌論文〕(計 1 件)

Kato Y., Suzuki K., Nakamura K., Hickman A.H., <u>Nedachi M.</u>, Kusakabe, M., Bevacqua D.C. and Ohmoto H.: Hematite formation by oxygenated groundwater more than 2.76 billion years ago, Earth and Planetary Science Letters, 40-49, 2009.

〔学会発表〕(計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

- ○出願状況(計 0 件)
- ○取得状況(計 0 件)

[その他]

- 6. 研究組織
- (1)研究代表者

根建 洋子 (NEDACHI YOKO)

鹿児島純心女子大学・看護栄養学部・教授

研究者番号:80290659

### (2)研究分担者

根建 心具(NEDACHI MUNETOMO)

鹿児島大学・理学部・教授

研究者番号:10107849

瀬戸口 賀子(SETOGUCHI YOSHIKO) 鹿児島純心女子大学・看護栄養学部・教授

研究者番号:60249696