

平成 26 年 5 月 12 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24654163

研究課題名(和文) 太古海洋環境を理解するための温泉微生物マットのキャラクタライゼーション

研究課題名(英文) Characterization of hot-spring microbial mat for understanding ancient ocean environments

研究代表者

狩野 彰宏 (Kano, Akihiro)

九州大学・比較社会文化研究科(研究院)・教授

研究者番号：60231263

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：太古の海洋に幅広く発達したストロマトライトの成因を考察するために、同様の縞状組織を持つ温泉成炭酸塩トラバーチンに発達する微生物マットとバイオフィームに関する研究を行った。組織発達と水質変化を現地で連続観測し、微生物試料の遺伝子解析を学術研究員とともに実施し、トラバーチンに発達する縞状組織のほぼ全てが日輪であることを解明した。日輪は基本的にシアノバクテリア等の光合成微生物の日周期の代謝活動を反映する。調査を行った大分県長湯温泉、鹿児島県妙見温泉等の研究成果は3編の国際誌を含む学術論文として公表した。特に長湯温泉での研究はストロマトライトとの類似点が多く、その成因を考察するための重要な成果である。

研究成果の概要(英文)：Microbial mat and film on hot-spring travertines were studied for understanding developmental processes of stromatolites that had been widely developed in ancient oceans. Together with a post-doc researcher, I performed continuous observation of sedimentary texture and water chemistry. Genetic analyses were also done for the specimens collected from the travertine surfaces. The results of these analyses indicated that the laminated textures were basically daily and reflected from metabolic cycle of photosynthetic bacteria including cyanobacteria. Results from study localities (e.g., Nagayu hot-spring in Oita Prefecture and Myoken hot-spring in Kagoshima Prefecture) were published in research papers including three international journal papers. Study in Nagayu hot-spring was especially important in terms with similarity with the ancient stromatolites.

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：地球惑星科学・地質学

キーワード：トラバーチン ストロマトライト

1. 研究開始当初の背景

熱水/温泉環境に生きる好熱菌が生命系統樹の根幹を占めることが示されて以来、「温泉は太古の海洋環境を暗示する」という古典的な考えが再認識されている。温泉環境の高い二酸化炭素と低い酸素分圧は、始生代～原生代の表層環境と共通し、温泉沈殿物の中にはストロマトライトや縞状鉄鉱層と類似する組成・組織を持つものもある。これら温泉沈殿物の表面には厚さ数mm～数cmの微生物集合体(微生物マット)が発達し、鉱物の沈殿に関与している。太古の海洋環境と温泉環境の共通点を念頭に、研究代表者は温泉に発達する炭酸塩堆積物(トラバーチン)の研究を進めてきた。奈良県入之波温泉や大分県長湯温泉では、シアノバクテリアが光に反応して表面に極薄い微生物フィルムをつくり、それが規則的な日輪構造としてトラバーチンに保存されることを示したが、鉱物沈殿に及ぼす微生物代謝の影響については未解決の問題として残された。特に、厚い微生物マットを付随する堆積物での水-鉱物-微生物反応を

2. 研究の目的

本研究では、多様な微生物により複雑な物質移動が起こっていると思われる比較的厚い(0.5mm程度の)微生物マットを伴う温泉成トラバーチンを対象に、堆積学的・地球化学的・微生物学的検討を行ない、温泉水の物理化学的条件-炭酸塩鉱物の沈殿作用-微生物マット構成種の生理的特徴-トラバーチンの堆積組織の間に関連性を見いだすことを目的とした。特に、トラバーチンの多くに見いだされる縞状組織を作る微生物作用の特定に焦点を当てた。さらに、中国江蘇省などに発達する先カンブリア時代のストロマトライトとも研究対象に含め、トラバーチンとの類似点・相違点を検討した。これは、トラバーチン研究を太古海洋環境と比較するための第一段階である。

3. 研究の方法

(1) 温泉水の物理化学的条件：いくつかのトラバーチン堆積場において、電磁水量計を用いて流速を計測し、水温・pH・溶存酸素濃度を測定した。また、採集した水試料の溶存成分(イオンクロマトグラフィーとICP-質量分析計)と同位体組成(軽元素質量分析計)を測定した。それらの結果から、平衡二酸化炭素分圧(pCO₂)、炭酸塩鉱物についての過飽和度(ISC)、水質から算出される炭酸カルシウムの沈殿速度(PWP-rate)を計算した。

(2) 沈殿した炭酸塩鉱物の検討：2日間に及ぶ連続的観測を複数のトラバーチン堆積場で行い、炭酸カルシウムの沈殿速度を実測した。また、XRDを用いて沈殿した鉱物種(方解石 vs あられ石)を決定した。

(3) 遺伝子解析：トラバーチンに付随する微生物マット試料を凍結もしくはホルマリン固定し、持ち帰った後、速やかに無菌環境下で粉碎する。次に、粉末試料に、プライマー・ポリメラーゼ・デオキシヌクレオシド三リン酸を添加し、PCR装置を用いて、遺伝子(16SrDNA)を増幅する。増幅された遺伝子は株ごとにシーケンシングされ、得られた塩基配列情報を、データベース(GenBank等)と比較し、微生物マットを構成する微生物種を特定する。

(4) 蛍光遺伝子プローブ法：この研究方法は、微生物群集に占める特定の細菌グループの割合を定量的に評価するために用いた。まず、固定した微生物マットを、特定の細菌グループ(-プロテオバクテリア、硫酸還元菌など)のみが持つオリゴヌクレオチドを蛍光プローブ(Texas Red, Cy3など)で蛍光標識し、細胞内でハイブリダイズさせる。その後、蛍光顕微鏡下で観察し、画像を撮影するとともに、画像解析装置で細菌グループの定量を行った。

(5) トラバーチンの組織観察：採集した微生物マットを伴うトラバーチン試料を乾燥させた後に浸透性の高い樹脂で固化させて、薄片を作成した。また、より細かい組織は走査型電子顕微鏡で観察した。

4. 研究成果

本研究で達成された重要な研究成果は以下の6つにまとめられる。

(1) 流速と堆積組織の密接な関連性：インドネシアジャワ島中部のPancran Pituには学術的に未記載の大規模なトラバーチンが発達している。全長200mにも及ぶ温泉流路は人工的改変の影響がほとんどなく、様々な物理化学的条件でトラバーチンが発達している。活発な炭酸塩沈殿はCO₂脱ガスが進行し、過飽和度が高まった中流～下流域で起きていた。約20地点から採集した試料を観察した結果、堆積組織を支配する要因として最も重要なのは流速であると判断された。流速が大きい(R > 100cm/sec)地点では、炭酸カルシウムの沈殿が活発に起こり、それが微生物の生息を阻害する。ここでの堆積組織は針状アラレ石が緻密にパッキングされたものであった。一方、流速が小さい(R < 20 cm/sec)地点では、炭酸カルシウムの沈殿速度は小さくなり、厚い微生物マットが発達することになる。微生物マット上での沈殿物は顆粒状のアラレ石であり、それがゆるく固まることにより空隙に富む組織が形成される。

この研究はOkumura et al. (2012)として公表され、インドネシアにおける最初のトラバーチンの学術的論文として、これまで7回引用されている(Scopus)。

(2) マットに富むトラバーチンに発達する日輪組織：大分県長湯温泉に発達する微生物マット性トラバーチンには規則的な縞状組織が発達していることが知られていた。本研究において、48 時間に及ぶ連続観測を行った結果、この組織が日輪であることが判明した。水質分析の結果は昼夜において温泉水の化学的条件に大きな差を示さない。したがって、日輪構造はマットを構成するシアノバクテリアの光量にตอบสนองした代謝活動の日周期によるものと考えられる。微生物および細胞外高分子物質 (EPS) を検討した結果、シアノバクテリア (*Microcoleus*) が2つの方法で昼夜を通して起こる鉱物沈殿のストレスに対処していたことが分かった。まず、昼間に沈殿する鉱物には EPS の分泌で対抗する。EPS を構成する分子が持つカルボキシル基のような負に電荷した官能基は、マット界面での Ca^{2+} イオン活量を著しく低下させ、炭酸カルシウムの核形成と結晶成長を阻害する(図 1A)。この効果を持続させるため、*Microcoleus* は日中に自らの菌体量の数 10 倍の EPS を分泌すると思われる。一方、日没後にシアノバクテリアの光合成が停止すると、EPS の分泌も収まる。すると、マット界面での Ca^{2+} イオン活量は増加し、炭酸カルシウムの沈殿が始まる。この夜間の沈殿により、シアノバクテリアは厚さ数 100 μm の結晶層の下に一時埋没する(図 1B)。しかし、日の出とともにシアノバクテリアは光の方向へと動き出し、結晶粒の隙間を抜けて、わずか2時間足らずで表面へ這い出してくる。この能力は多くの種で確認されており、特に *Microcoleus* では高い。シアノバクテリアが上方へ移動すると、「前日の微生物マット」の部分には空隙が残される(図 1C)。

この研究成果は Okumura et al. (2013a) で公表された。

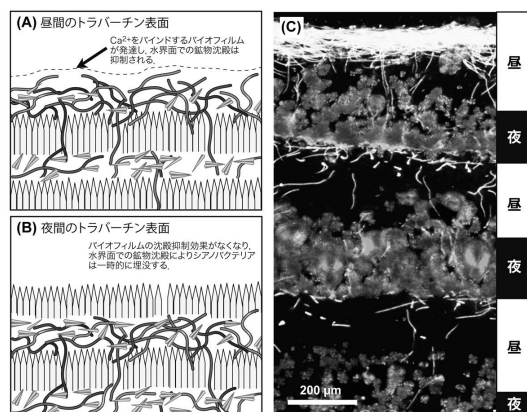


図 1．長湯温泉トラバーチンの日輪形成プロセスと組織。A) 昼間のトラバーチン表面。B) 夜間のトラバーチン表面。C) 日輪トラバーチンの表面部分(蛍光画像とクロスニコル画像を合成したもの)。明るい糸状の構造はフィラメント状シアノバクテリアで灰色の部分にはアラゴナイト結晶である。

(3) 鹿児島県妙見温泉の日輪トラバーチン：これまでの研究では水温 40 以下の中温環境でのトラバーチンを研究対象としていた。鹿児島県妙見温泉には 50 を超える温泉水にトラバーチンが発達し、その内部には規則的なサブミリメートルオーダーの縞状構造が発達する。表面組織と温泉水化学組成の 28 時間連続観測結果は、中等度好熱性 (~55) 単細胞シアノバクテリアの日周期活動(光合成・走光性)が縞状組織を作ることを示した。このトラバーチンの縞は、暗色のアラゴナイト層と、明色のカルサイト層からなる。暗色層のアラゴナイトは、昼間、シアノバクテリアがトラバーチン表面へ移動して作るバイオフィーム内で、針状結晶の放射状凝集体として晶出していた。一方、暗色のカルサイト層は、日没後からバイオフィーム上で沈殿する菱形結晶のデンドライト構造により形成されていた。温泉水の物理化学条件は安定していたので、炭酸カルシウムの多形変化は、シアノバクテリアが分泌する細胞外高分子物質の様な微生物的要因に関係している。トラバーチンが水面まで成長すると、頂部にやや低温(25-40)な環境が発達し、そこではフィラメント状シアノバクテリアがマットを作る。妙見温泉のトラバーチンで見られた縞組織に関わる地球微生物学的プロセスや、微生物群集の環境条件への応答は、同様の組織を持つ太古の炭酸塩堆積物中を理解するための新たな知見となりうる。

この研究成果は Okumura et al. (2013b) で公表された。

(4) スマトラ島 Sipoholon 温泉のトラバーチン：2013 年 8 月に調査したインドネシア・スマトラ島中部の Sipoholon 温泉は、世界最大のカルデラ湖であるトバ湖の南部 Tarutung 地域で湧出する多数の温泉の中で、トラバーチンが最も活発に堆積する温泉である。調査地は、約 5 万 km^2 にわたってトラバーチンが発達し、人為的影響の少ないエリア A、採石場内のエリア B、温泉施設に隣接するエリア C の 3 つに分けられる。全てのエリアでは、湯元付近で、硫黄芝や淡黄色の硫黄を含む縞を持たない堆積物が、中流から下流にかけて白色の縞をもつ堆積物が形成されていた。白色のトラバーチンの表面の色は、水温に応じて変化しており、55 度付近ではピンク色を、50 度以下では緑色を呈していた。緑色を呈する試料では、針状結晶が密集した明色層とバイオフィームと細粒結晶構成される孔隙質な暗色層が 0.5~1.0 mm の間隔で繰り返すことで縞が形成されていた。一方、ピンク色を呈する試料では、明色層と暗色層の境界は不明瞭であった。

エリア C において、温泉水と緑色・ピンク色のトラバーチンを 48 時間、4 時間おきにサンプリングを行った結果、2 つとも暗色層が昼間に、明色層が夜間に形成されていることを確認した。湯元及びトラバーチンが発達す

る地点において、流量、pH、アルカリ度、カルシウムイオン濃度は昼と夜ではほぼ一定であった。溶存酸素濃度は、湯元では期間を通して一定であったが、堆積地点では昼間に高く、夜間に低い値をとっていた。2色の試料の16S rRNA 遺伝子の系統解析を行ったところ、微生物の群集組成は両試料で似ており、偏性化学栄養性の硫黄酸化細菌が卓越していた。ただし、緑色の試料でシアノバクテリアとクロコフレクサス等の光合成細菌がより多様であった。蛍光顕微鏡で光合成細菌の分布を観察した結果、緑色の試料では昼間の暗色層に、ピンク色の試料では縞とは無関係に、表面付近で疎らに分布していた。

以上の結果から、緑色の試料では、従来の報告と同様に、光合成細菌が日周期でトラバーチン表面にバイオフィームを形成することで縞を形成することがわかった。一方、ピンク色の試料では、光合成によって生成された酸素が増加する昼間に、硫黄酸化細菌を主体とするバイオフィームが成長することで縞を形成する。これは日輪形成における新たな微生物プロセスである。ピンク色の試料の縞が不明瞭なのは、縞を形成する化学合成細菌を主体とするバイオフィームの生育が、酸素の供給という外的要因でコントロールされるためであると考えられる。この新規のプロセスは、酸素に乏しく硫化物に富む太古海洋で生じうる、ストロマトライトを形成する微生物プロセスの一つである可能性がある。

(5) トラバーチン沈殿に関する新たな速度式：従来、天然炭酸塩堆積物の沈殿速度の記述には、乱流条件下での炭酸カルシウム溶解実験から求められた PWP rate と呼ばれる反応速度則が広く採用されてきた。しかし、この反応速度則をもとに計算されたトラバーチンの沈殿速度は、実際の沈殿速度の 4~30 分の 1 にしかならない。それは、従来の速度則には二酸化炭素脱ガスの効果が考慮されていないためである。そこで、トラバーチン堆積場で想定される「二酸化炭素の脱ガスが炭酸カルシウムの沈殿を誘導する」という連鎖的反応から、新たな沈殿速度則を考案し、実際の沈殿速度 (APR; Actual Precipitation Rate) が求められている 14 地点のトラバーチンに対して適用を試みた。

新しいモデルでは、液相/気相界面での二酸化炭素の脱ガスを起点として一方向に進む炭酸化学種の連鎖反応が炭酸カルシウムの沈殿を誘導する。ここでは、「過飽和度が一定に保たれる」という想定のもとで、二酸化炭素の脱ガスと炭酸カルシウムの沈殿を関連付けた。この想定は、「高い過飽和度が保たれる領域で活発な沈殿が生じる」という実際の堆積場での観察結果と整合的である。高い平衡二酸化炭素分圧で高い過飽和度が達成されていれば、炭酸塩の沈殿速度は 1) 二酸化炭素の脱ガス速度に寄与する水流的ファクターと 2) 水相/気相の二酸化炭素分

圧の非平衡の度合いに相関し、3) pH とイオン強度の影響を受ける。水流的ファクターを除外した数は、単純に水の化学組成から計算可能であり、今回、それを脱ガス誘導型沈殿指数 (IDP; Index for Degassing induced Precipitation) と定義した。14 地点のトラバーチンのデータは IDP と APR の良い相関を示し、このモデルの妥当性が支持された。さらに、IDP と APR の関係から逆算される水流的ファクターは、従来提示されてきた液相/気相界面で二酸化炭素の移動係数とも整合的である。

(6) 中国江蘇省の新原生代ストロマトライト：先カンブリア時代に多産するストロマトライトは初期生命圏を記録するという重要性から長年に渡り研究されてきたが、微化石を含む試料は極めて稀であるため、組織形成に関わる微生物プロセスの詳細は未解明である。中国江蘇省徐州市周辺に分布する新原生代の徐淮 (Xuhuai) 層群(約 8-9 億年前)には、多様な形態のストロマトライトが分布し、硅化した部分に微化石が保存されている。ただし、本層群中のストロマトライトは網羅的に記載されておらず、微化石の産状とストロマトライト縞状組織の関係が明らかにされていない。そこで本研究では、徐淮層群最下位の Zhaowei 層を研究対象とし、微化石を含むストロマトライトの組織の記載を行った。

Zhaowei 層の調査セクションの層厚は約 80 m で、シルト質石灰岩・ストロマトライト・珪質碎屑性堆積岩から構成されていた。ストロマトライトは低いドーム状のものと、直径 1 から 7 cm の柱状のものが分布していた。石灰岩及びストロマトライトの中で、黒色有機物はスティロライトとして脈状または繊維状に分布し、パイライトはセクションを通して産していた。堆積構造としてイントラクラスト・斜行層理・リップルマーク・乾裂構造が認められることから、乾燥した気候下の潮間帯~潮上帯で堆積したと考えられる。

今回採集したストロマトライト試料の珪化した部分には微化石が散点的に含まれていた。微生物はストロマトライトのコラムの中と外の両方で確認されたが、珪化部の外縁に多く分布する。おそらく、珪化作用は急速に進行し、微生物が多いストロマトライト表面部分のみで、“化石化” が起こったのだろう。含まれていた微化石は単一の形態で、幅が約 5 μm 、長さ約 10 μm の楕球形細胞が数珠状に 200 μm ほど連なる糸状体をとっていた。この特徴はシアノバクテリアの Nostoc 属の形態と酷似している。糸状体は規則的な配向を示さないが、部分的に密集する傾向がある。

糸状体の微化石は、上位の Niyuan や Jiudingshan 層からも報告されているが、微化石の形態や分布が Zhaowei 層のものとは異なっている。上位層での微化石は円筒型細胞の連なりであり、滑らかな表面をもつ。糸状体

は水平方向と垂直方向へ交互に伸長を繰り返すことで縞を形成し、円錐形のストロマトライトを構成していた。これは、長湯温泉の微生物マット中に見られる日サイクルのシアノバクテリアの成長様式(図1)と良く似ている。

以上、本研究ではトラバーチンの組織形成についてのケーススタディを重ねることにより、縞状組織の多くが日輪であることを確認した(成果1~4)。縞状組織の特徴は流速や水温などの物理化学的条件とともに構成微生物群集に支配される。微生物の多くは急速な鉱物沈殿のストレスに対抗するために、高いEPS分泌能力と走光性を併せもつ。おそらく、太古の海洋でストロマトライトの形成に関わった微生物も同様の特徴を持っていたと思われる。その他、炭酸塩沈殿に関する研究(成果5)や新原生代ストロマトライトに関する研究(成果6)も行い、当初の計画以上に研究が進行したと言える。

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3件)

Okumura, T., Takashima, C., Shiraishi, F., Akmaluddin, Kano, A. (2012) Textural transition in an aragonite travertine formed under various flow conditions at Pancuran Pitu, Central Java, Indonesia. *Sedimentary Geology*, Vol. 265-266, pp. 195-209.

Okumura, T., Takashima, C., Shiraishi, F., Nishida, S., Kano, A. (2013a) Processes forming daily lamination in a microbe-rich travertine under low flow condition at the Nagano-yu Hot Spring, Southwestern Japan. *Geomicrobiology Journal*, Vol. 30, pp. 910-927.

Okumura, T., Takashima, C., Kano, A. (2013b) Textures and processes of laminated travertines formed by unicellular cyanobacteria in Myoken hot spring, southwestern Japan. *Island Arc*, Vol. 22, pp. 410-426.

[学会発表](計9件)

狩野彰宏・奥村知世 (2012) 二酸化炭素脱ガスが誘導する特殊条件での炭酸カルシウムの沈殿速度と同位体組成. 地球惑星科学連合大会(幕張メッセ)

奥村知世・狩野彰宏 (2012) 二酸化炭素脱ガスにより誘導される炭酸カルシウム沈殿を再現する新たな速度則. 日本地球化学会(九州大学)

奥村知世・高島千鶴・狩野彰宏 (2013) 中等度好熱性単細胞シアノバクテリアによるトラバーチンの日周期の縞組織形成. 地球惑星連合大会(幕張メッセ)

高島千鶴・森 大器・奥村知世・狩野彰宏 (2013) 水質の季節変化から読み解くMnを含む鉱泉水の成因. 地球惑星科学連合大会(幕張メッセ)

奥村知世・古山精史朗・狩野彰宏 (2013) 中国江蘇省に分布する新原生代徐淮層群の珪化したストロマトライト中の糸状体微化石. 日本古生物学会(熊本大学)

奥村知世・古山精史朗・狩野彰宏 (2013) 中国北東部江蘇省に分布する新原生代徐淮層群 Zhaowei 層に見られるストロマトライト組織と糸状体微化石. 日本地質学会(東北大学)

Okumura, T., Takashima, C., Kano, A. (2014) Geomicrobiological processes forming daily lamination in travertines. The International Biogeoscience Conference 2013 (Nagoya University)

Kano, A. (2014) Carbonate precipitation rate induced by CO₂-degassing: observation in calcareous hot springs and implications for evaluating self-sealing. I2CNER International Workshop CO₂ Storage Division (Kyushu University)

平野未沙・高島千鶴・奥村知世・狩野彰宏 (2014) スマトラ島北部に発達したトラバーチンの地球生命科学研究. 地質学会西日本支部(佐賀大学)

[図書](計1件)

奥村知世・狩野彰宏 (2014) 陸成炭酸塩堆積物の年縞・日輪発達過程. 月刊地球号外「第四紀研究における年代測定法の新展開:最近10年間の進展-(III) 相対年代と古環境の高精度復元」, pp. 82-88.

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.scs.kyushu-u.ac.jp/earth/kano/hotspring.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

狩野 彰宏 (KANO, Akihiro)

九州大学・大学院比較社会文化研究院・教授
研究者番号: 60231263

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

高島 千鶴 (TAKASHIMA, Chiduru)

佐賀大学・文化教育学部・准教授
研究者番号: 10568348