



始生代～原生代海洋環境のアナログとしての温泉堆積物

(課題番号 18654085)

平成18～19年度科学研究費補助金(萌芽研究)
研究成果報告書

—平成20年3月—

研究代表者 狩野 彰宏

(広島大学大学院理学研究科・准教授)

広島大学図書

0100477074



始生代～原生代海洋環境のアナログとしての温泉堆積物

平成 18～19 年度科学研究費補助金（萌芽研究，課題番号 18654085）研究成果報告書

—狩野 彰宏，平成 20 年 3 月—

はしがき

鉄質沈殿物と炭酸塩沈殿物を析出する炭酸土類塩泉（Ca, Na, Cl を多量に含み，Fe 等の元素にも富む温泉）は，始生代～原生代の海洋環境のアナログである。本研究では奈良県川上村の入之波温泉と大分県竹田市の長湯温泉を重点的な対象として，堆積学・地球化学・微生物学的観点から研究を進めた。2つの調査地点は大規模な縞状炭酸塩堆積物（トラバーチン）が発達するという点で共通するが，前者は方解石，後者はアラレ石で構成され，組織に大きな違いが認められる。方解石トラバーチンは樹枝状の沈殿物を主体とし，ほぼ等間隔（0.5mm）で発達する細粒の碎屑物バンドを持つ。一方，アラゴナイト質トラバーチンはほぼ等厚（0.2mm）の結晶質層とラミナ層の繰り返しからなる。研究代表者は，これらの縞状組織がトラバーチン表面に生息するシアノバクテリアの光合成サイクルに関連すると着想し，堆積場で 30～40 時間の組織と水質の連続観測を行い，表面組織と化学的条件の時間的変化を追跡した。その結果，どちらの「縞」もシアノバクテリアの光合成サイクルを反映した「日輪」であることを確認した（高島・狩野，2006; Kano et al., 2006）。その後，購入した蛍光顕微鏡と画像解析システムを活用し，空間的分布を観察し，それらが日中には負の走光性，日暮れ頃には正の走光性に従って，堆積物中を移動していることがあきらかになった。

また，入之波温泉の源泉付近には鉄質沈殿物と方解石からなる特異的な堆積物が確認された。これは鉄に富む堆積物であり，厚さ 0.2mm 程度の層を作る。鉄質沈殿物は水酸化鉄であり，単一の層の中で，直径 10 ミクロンの枝状構造を呈し，上方へと増殖する。枝状構造の中には，鉄酸化細菌である *Leptothrix* に類似したサヤ構造が認められた。また，遺伝子解析の結果も微好気中性環境に適応した鉄酸化細菌の存在を示していた。鉄の沈殿は，鉄イオンの酸化反応に依存する鉄酸化細菌の代謝が関係していると結論付けられる。この他，メタン酸化細菌などの独立栄養細菌も鉄酸化細菌とともに認定された。おそらく，鉄酸化細菌が極度に増殖すると，細菌の代謝必須物質である鉄イオンが拡散境界層で欠乏し，他の独立栄養細菌との競争に勝てなかったと思われる。

現世トラバーチンの研究から得られた知見により，組織的に類似する先カンブリア紀のストロマトライトや縞状鉄鉱層の堆積環境と形成過程について新たな解釈が加えられる。まず，多様な組織を示すストロマトライトの中でも，極めて細かいラミナを示すミニストロマトライトはながの湯のアラゴナイトトラバーチンに告示した組織を示す。これらの中では，生成に関与したと思われるシアノバクテリアが痕跡として残されていない。この点はトラバーチンとも共通し，水の溶存無機炭素が高かったことを暗示する。すなわち，ミニストロマトライトが形成した後期始生代～中期原生代の海水は高い溶存無機炭酸濃度と中性の pH を持っていた。また，先カンブリア紀の海水温は，チャートの酸素同位体比から 40～60°C と見積もられおり，トラバーチンを堆積させる温泉水の温度の範囲内でもある。さらに，ミニストロマトライトの縞状組織が日輪であるならば，その堆積速度は極めて大きく，海水は高い過飽和状態であったと推定される。

一方，入之波温泉の鉄質トラバーチンは縞状鉄鉱層のアナログとしての可能を持っている。縞状組織の形成過程についても様々なモデルが示されているが，一般に，深海からの鉄イオンが浅海でのシアノバクテリアの光合成による酸素に酸化されて沈殿したと解釈されている。しかし，このモデルでは，浅海域で生成した鉄鉱物が，より深い海底へと沈降することになり，縞状鉄鉱層中にしばしば認められる sub～mm オーダーの縞状組織の説明が困難になる。しかし，鉄酸化細菌が関与していれば，光が届かない深海底での「その場沈殿」でも鉄鉱層は生成する。他の化学合成細菌との競争により表面で微生物群衆の交代が起れば，縞状組織は形成するのである。よって，シアノバクテリアによる酸素発生の周期性は必要にならない。

先カンブリア紀の環境や微生物の変遷は生命の起原と進化に関わる重要なテーマであり，それを理解するために，トラバーチンをアナログとして用いることは有用であり，先カンブリア紀の岩石から得られる情報と組み合わせることで，より確度の高い古環境の復元が期待できるだろう。

研究組織 研究代表者：狩野 彰宏（広島大学大学院理学研究科・准教授）
（平成 20 年度より九州大学大学院比較社会文化研究院・教授）

交付決定額（配分金）	平成 18 年度	1,700 千円
	平成 19 年度	1,600 千円
	計	3,300 千円

研究発表

－公表論文－

Takashima, C., Kano, A., Naganuma, T. and Tazaki, K. (in press) Laminated iron texture by iron-oxidizing bacteria in a calcite travertine. *Geomicrobiology Journal*.

Wang, W., Kano, A., Okumura, T., Ma, Y., Matsumoto, R., Matsuda, N., Ueno, K., Chen, X., Kakuwa, Y., Gharaie, M.H.M. and Ilkhchi, R. (2007) Isotopic chemostratigraphy of the microbialite-bearing Permian-Triassic boundary section in the Zagros Mountains, Iran. *Chemical Geology*, 244, 708-714.

Takashima, C., Okumura, T. and Kano, A. (2007) Microbial fractal structure by iron-oxidizing bacteria in travertines. *Journal of Sedimentological Society, Japan*. 65, 2.

Kano, A., Takashima, C. and Ohtsuka, S. (2006) Hot-springs in eastern Kyushu and their related sedimentation and microbial processes. *ISC 2006 Field Excursion Guidebook FE-A10*. 10 p.

高島千鶴・狩野彰宏 (2006) 入之波温泉トラバーチンの堆積速度と日輪組織－「奈良県入之波温泉に発達するトラバーチンの堆積過程」へのコメントに対する回答. *地質学雑誌*, 112, 486-489.

－学会発表（研究代表者が指導した学生の発表を含む）－

奥村知世・高島千鶴 (2007) アラゴナイト質トラバーチンの日輪発達過程. 日本地質学会（北海道大学）

高島千鶴・奥村知世・狩野彰宏 (2007) EPS により支配されたアラゴナイト質トラバーチンの日輪形成プロセス. 地球惑星科学関連合同学会（幕張メッセ）

奥村知世 (2007) アラゴナイト質トラバーチンにおける日輪発達過程. 日本地質学会西日本支部（山口大学）

堀 真子・狩野彰宏 (2006) トUFFアの年縞組織形成にかかわる微生物群集と沈殿速度の季節変化. 日本地質学会（高知大学）

高島千鶴・奥村知世 (2006) 大分県長湯温泉トラバーチンに発達する日輪生成過程. 日本地質学会（高知大学）

Takashima, C. and Kano, A. (2006) The origin and process of daily lamination developed in travertines at Shionoha hot-spring, Nara Prefecture, Japan. 17th International Sedimentological Congress (Fukuoka).

Kano, A. and Takashima, C. (2006) Daily rings in calcite and aragonite travertines. 17th International Sedimentological Congress (Invited: Fukuoka).

1. はじめに

微生物マートを伴う温泉は、日本各地に数多く存在し、古くから純化学的研究の対象になってきた。しかし、温泉の地下～地表での現象は化学的プロセスのみでは説明が付かない部分があり、近年になって、温泉環境に生息する微生物群集の代謝が想像を超えた効果を生み出している可能性が指摘されている。また、生物学的には、PCR法により得られた多くの温泉微生物の遺伝子塩基配列が、ゲノム系統樹の根幹を占めることが示されており、温泉における微生物群集が太古の地球環境における生態系を暗示すると考えられている。

本研究では、多様な温泉の中で、鉄質沈殿物と炭酸塩沈殿物を析出する炭酸土類塩泉（Ca, Na, Cl を多量に含み、Fe 等の元素にも富む温泉）を対象とし、「微生物群集の連鎖的代謝活動が及ぼす微環境への影響」に着眼するとともに、始生代～原生代（より具体的には 28～10 億年前）の海洋環境で起っていた微生物－化学プロセスのアナログとして考察する。

炭酸土類塩泉と始生代～原生代の海洋環境は、a) 高い二酸化炭素分圧と極めて低い酸素分圧、b) 暖かい水温（35～50℃を想定）、c) 高い Ca 濃度、d) 原核生物を主とした生物相、の点で共通している。さらに、e) 源泉付近に認められる鉄質沈殿物は 28～21 億年前に汎世界的に堆積した縞状鉄鉱層と、f) 温泉水の地上での流下経路下部に発達する炭酸塩沈殿物（トラバーチン）は 21～10 億年前に発達したストロマトライトと成分や組織が酷似する。また、g) 温泉水の流下経路でおこる、酸素の獲得と二酸化炭素の散逸は、この時代の海洋環境で起っていた変化の縮図とも言える。

これらの共通点を念頭に、本研究では、国内に分布するいくつかの炭酸土類塩泉において、基本的な水質調査を実施し、いくつかの堆積物を対象に、詳細な組織と微生物群集の解析を行った。そして、多様な解析方法から得られたデータをもとに、炭酸土類塩泉での異なる環境で起る微生物－化学プロセスを、温泉堆積物の成分と組織に結び付ける。さらに、導き出された堆積物組織－微生物群集－環境の対応関係をもとに、28～10 億年前の海洋で生成した縞状鉄鉱層やストロマトライトの微生物－化学的環境を考察し、この頃に起った、海洋－大気環境の変化を具体的な数値として提示することを目指した。

申請時の段階において、研究代表者は「蛍光遺伝子プローブ」と「マイクロ電極」という 2 つの萌芽的手法を取り入れて研究を進める計画を持っていた。蛍光遺伝子プローブ (FISH) 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ことができるため、微生物群の解析に広く利用されている。具体的には、特定の細菌グループ（例えば、硫酸還元菌）のみが持つオリゴヌクレオチドをプローブ（例えば、カルセイン H など）で蛍光標識し、細胞内でハイブリダイズさせた後、蛍光顕微鏡下で観察するというものである。一方、マイクロ電極法は、微生物マート内での代謝に伴う化学反応を特定するために、先端がマイクロンサイズのガラス管電極を用いて、微少領域の化学特性を検討する方法である。しかし、予算の削減により、「マイクロ電極法」に必要な装置の製作を断念し、研究を実施することになった。これについては、今後の重要な検討課題になると考えられる。

本研究を実施することにより、研究代表者は指導した学生の研究テーマの実施を通して、巻末に示す具体的な成果もいくつか挙げる事ができた。しかし、それより貴重な事は、微生物地球科学と呼ぶべき新たな研究分野に関する研究手法や基礎知識を学んだことにある。報告書では、「微生物の代謝」・「先カンブリア紀の堆積物と微生物」・「研究方法」についての知見をまとめることに多くの紙面を割くことにする。

2. 微生物の代謝

2.1. 嫌氣的代謝の重要性と概要

地球表層での炭素循環は、植物やシアノバクテリアが行う酸素発生型光合成と有機物の酸素分解の2つの反応で伝統的に理解されてきた (e.g. Berner, 1992) .



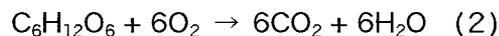
しかし、先カンブリア紀の地球上で起こった生命の誕生とその初期進化は分子酸素の無い状態で進行してきた。今日 21%もある大気の酸素分圧の上昇は約 20 億年前に開始しており、それ以前の地球では嫌氣的代謝により有機物の分解が起こったと言える。言葉を変えると、酸素分圧の上昇により、嫌氣的呼吸がよりエネルギー効率の良い好氣的呼吸に取って替わられたと言える。ただし、地球上の多くの水環境では嫌氣的が活発に起きている。それは、水中での分子酸素は空中に比べて 1/10000 の速度で拡散するため、好氣的呼吸による有機物分解が、酸素の拡散よりも早く、酸素を消費してしまうためである。そのような条件は、湿地・河川・エスチュアリー・海岸環境・地下水塊・嫌氣的水柱に見られる。また、酸化的な環境の中に嫌氣的な微環境が発達する事もある。

現在の地球では嫌氣的の生息域は小さな部分しか占めないが、その影響力は大きい。例えば、地球の大気中での O_2 と CH_4 の含有量がかなり非平衡になっているのは (Sagan et al., 1993) , 地球表層の嫌氣的水環境でメタン合成が活発に行われているからである。また、嫌氣的な堆積環境では酸素発生型光合成で生じた有機物が分解を免れ、化石燃料のソースとなり、現在の工業社会を支えている。さらに、嫌氣的代謝の1つである脱窒は大気の主成分である N_2 のソースであり、もし脱窒が起らなければ、 N_2 を固定するバクテリアが N_2 のプールをはるか昔に消費していただろう (Schlesinger, 1997)。

微生物は、外部の電子ソースもしくはドナーから、外部の電子シンクあるいは電子受容体へと電子を移動することによりエネルギーを得る。有機物の電子ドナーとしては、発酵をサポートするモノマーから、アセテートやメタンの様な単純な成分まで様々である。一般的な無機質の電子ドナーは分子水素 (H_2)・アンモニア (NH_4^+)・2価のマンガン (Mn^{2+})・2価の鉄 (Fe^{2+})・硫化水素 (H_2S) が挙げられる。放出された電子により利用されたエネルギーは細胞内の輸送鎖を通じて電子受容体まで輸送される。一般的な電子受容体は硝酸 (NO_3^-)・4価のマンガン (Mn^{4+})・3価の鉄 (Fe^{3+})・硫酸・二酸化炭素である。

嫌氣的な微生物はしばしば複数の電子受容体を還元する能力を持つ。多くのケースでは、 Fe^{3+} を還元する発酵菌のように、第二の選択肢は成長をサポートしない。別のケースでは、複数の電子受容体をもちいる能力は、特殊な電子受容体のみが存在する環境への適用を意味する。例えば、いくつかの好氣的バクテリアは酸素の無い状態で脱窒により呼吸する。

好氣的/嫌氣的代謝の最も本質的な違いは生み出されるエネルギーにある。酸化的な条件でのグルコースの酸化 (式2) は約 2900kJ/mol のエネルギーを生み出すのに対し、嫌氣的条件でのメタン生成 (式3) は約 400kJ/mol のエネルギーしか生み出さない。



好氣的代謝で生じるエネルギーは高いので、単一の生物が複雑な有機物を完全に二酸化炭素へと分解する。それに対し、嫌氣的微生物は有機物を完全に分解しない (Fenchel and Finlay, 1995)。有機物から二酸化炭素への分解は生物群集が行う段階的なプロセスになり、その各々が有機底質 (substrate: 代謝対象である有機物の集合体) にある獲得可能な自由エネルギーを管理している。細菌は 20kJ/mol の自由エネルギーがあれば、その代謝を維持することが可能である。

嫌氣的分解の最初のステップは有機分子を糖の様な単純な分子へと分解する。次に、単純な分子は、アセテートや水素のような最も単純な分子へと発酵される。最終的に、発酵生成物は硫酸や硝酸などの無機分子

還元のための電子ドナーを供給する。発酵・硫酸還元・メタン生成など多くの嫌氣的経路は小さいエネルギーしか生み出さず、底質や生成物の濃度に敏感である。異なる嫌氣的微生物は熱力学的に相互し、いくつかの種が共同して単一の有機物底質を消費する。これは栄養共生 (syntrophy) と呼ばれる。この相利共生 (mutualism) は嫌氣的群集の構造と機能を決定する特に重要な生態的相互作用である。

微生物間の競争は群集構成に影響する、特に、発酵最終生成物である水素やアセテートをめぐる競争は特に激しい。競争は経路の熱力学的な生成エネルギーの高さに関係し、酸素呼吸>硝酸還元>マンガン還元>鉄還元>硫酸還元>炭酸水素還元 (メタン生成) の順である (表 1)。この順番は、複数の電子ドナーを用いる単一の微生物の経路選択にもあて

はまる (Nealson and Myers, 1992)。酸素呼吸が最も熱的に効率が良く、酸素は嫌氣的微生物にとって毒として働くため、酸素は全ての嫌氣的経路を排除する。酸素が無くなると、通常、単一の代謝経路が優勢になり、利用される電子受容体が無くなるまで持続する。ただし、電子受容体の存在度は空間的に不均質であるため、複数の代謝経路が共存することもある。また、多くの生物にもちいられる競争的電子ドナー (例えば水素) の供給量が大きく無限であったり、限られた細菌のみが利用可能な非競争的電子ドナーが供給される場合にも、異なる代謝経路が共存する。

様々な嫌氣的経路の熱力学的生産は底質にも関係している。硫酸還元細菌は水素濃度をメタン生成が熱力学的に実行可能な閾値以下に抑えることでメタン生成を排除する (Lovely et al., 1982)。同様のことが、鉄還元細菌と硫酸還元菌の間で起っている。実際、環境中での水素の平衡濃度は優勢な代謝経路を予測するために用いられる (Lovely and Goodwin, 1988; Lovely et al., 1994a)。

電子ドナーと電子受容体の空間的有用性は嫌氣的代謝のパターンを説明する。海水は多量の硫酸イオンを含むため、硫酸還元は海水や海洋堆積物中の優勢な嫌氣的炭素代謝である (Capone and Kiene, 1988)。鉄還元は海洋・淡水にかかわらず、鉱物に富む土壌や堆積物中での重要であり (Thamdrup, 2000)、メタン生成は扇状地や湿地などの淡水環境で重要である。

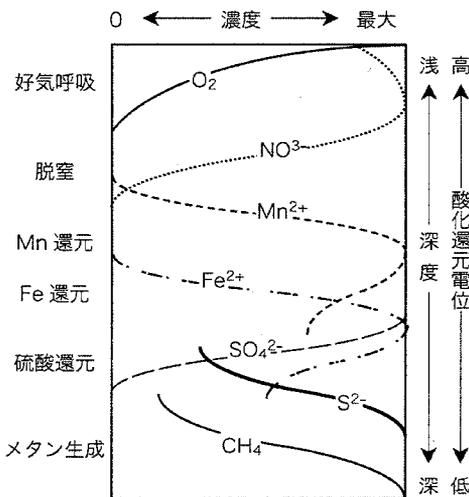


図 1. 典型的な嫌氣的代謝の深度分布と、電子ドナー・受容体の濃度変化。

表 1. 有機物による無機物の還元反応の熱力学的シーケンス。これらは、全て代表的な従属栄養の微生物反応である。

反応	Eh (V)	ΔG
酸素の還元 (酸素呼吸) $O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$	0.812	-29.9
硝酸の還元 (脱窒) $NO_3^- + 6H^+ + 5e^- \rightarrow N_2 + 3H_2O$	0.747	-28.4
Mn の還元 $MnO_2 + 4H^+ + 2e^- \rightarrow Mn^{2+} + 2H_2O$	0.526	-23.3
Fe の還元 $Fe(OH)_3 + 3H^+ + e^- \rightarrow Fe^{2+} + 3H_2O$	-0.047	-10.1
硫酸還元 $SO_4^{2-} + 10H^+ + 8e^- \rightarrow H_2S + 4H_2O$	-0.221	-5.9
二酸化炭素の還元 $CO_2 + 8H^+ + 8e^- \rightarrow CH_4 + 2H_2O$	-0.244	-5.6

ギブスの自由エネルギー (ΔG; kcal) は 25°C、pH = 7 の条件で、 $1/2CH_2O + 1/4H_2O \rightarrow 1/4CO_2 + H^+ + e^-$ と対価な量

様々な嫌氣的代謝経路の貢献度は、電子ドナーと受容体の時空的变化とともに変化する (図 1)。有機物の大部分は酸素発生源光合成によって作られ、土壌や堆積物の表面で最も豊富である。大部分の最終電子受容体のソースは好気帯にあり、酸素や硫酸の一部は大気や水柱から嫌気帯へと拡散し、別の受容体は NH₄⁺、Fe(II)、Mn(II)、H₂S の酸化により好気/嫌気インターフェースで再生される。この再生で共有された大部分の電子受容体は嫌氣的代謝により消費される。

酸化物の再生は動植物の存在により劇的に促進される。動物の穴を掘る能力 (bioturbation) は海洋堆積物における Fe(III) や Mn(IV) の再生にとって特に重要である。湿地の植物は酸素を土壌プロファイルの深部へと注入する。この様な植物は根のシステムへと酸素を供給する機能を持ち、洪水に対して耐久性を持つ。この様

な働きが無ければ、土壌や堆積物への酸素の注入深度は数 mm に限定される。動物や植物は同様に嫌氣的代謝に影響を及ぼし、好氣的／嫌氣的境界の面積を増加させる。加えて、植物は嫌氣的代謝の燃料となるラビレシな有機炭素分子のソースでもある。

発酵生成物をめぐる競争は、電子ドナーと受容体ソースからの距離に応じた優勢な嫌氣的経路のサクセションを作る。生成自由エネルギーから考察すると、好氣的代謝は堆積物の表面で優勢であり、メタン生成は深い深度で優勢になる (図 1)。各々の代謝帯の境界では、僅かなオーバーラップしかなく、1つの代謝経路が他の経路をほぼ完全に排除している。このパターンは、根や動物の穴からの距離や、河川の有機物ソースからの距離に応じて発達する。

2.2. 分類上の用語

微生物を含む全ての生物は、摂食 (ギリシャ語で trophos) 様式に関する3つの観点 (エネルギー源・電子ドナーのソース・炭素のソース) で記述される (表 2)。太陽光を用いる生物を phototrophic と呼び、化学エネルギーを用いる生物を chemotrophic と呼び、無機的電子ドナーを用いる生物を lithotrophic と呼び、有機的電子ドナーを用いる生物を organotrophic と呼び、さらに、二酸化炭素を同化 (assimilate) する生物を autotrophic と呼び、有機物を同化する生物を heterotrophic と呼び、これらの言葉はエネルギー／電子／炭素の順で並べられ、生物の代謝様式をより限定的に定義する用語になる。例えば、光合成を行う植物は photolithoautotrophy となる。いくつかの生物はこの分類スキームにうまくフィットしない。Mixotrophic な生物は複数の代謝タイプを共有し、例えば autotrophy でもあり heterotrophy でもある。

実際には、微生物学者は用語を省略して用いる。有機物を代謝する大部分の生物は、有機物から電子・エネルギー・炭素を摂取し、単純に heterotrophs と呼ばれる。Lithotrophic な生物は大抵 autotrophic なので、chemolithoautotrophs は度々、chemolithotrophs, lithotrophs, あるいは autotrophs と呼ばれる。また、微生物は利用する底質や良く居る環境でも記述される。例えば、hydrogentrophic は H₂ を必要とする生物で、極めて冷たい環境で生息する生物は psychrophilic と呼ばれる。酸化／嫌気インターフェースに生息する好氣的生物は microaerophiles と呼ばれ低い O₂ 濃度に生息する。

表 2. 微生物代謝の分類方法。エネルギー／電子／炭素のソースの順番で記載される。

エネルギーソース 炭素のソース	電子のソース	
	無機的 (lithotrophy)	有機的 (organotrophy)
1. 化学エネルギー (chemotrophy)		
A. 有機物 (heterotrophy)	Chemolithoheterotrophy	Chemoheterotrophy
B. 無機物 (autotrophy)	Chemolithoautotrophy	Chemoorganoautotrophy
2. 光エネルギー (phototrophy)		
A. 有機物 (heterotrophy)	Photolithoheterotrophy	Photoheterotrophy
B. 無機物 (autotrophy)	Photolithoautotrophy	Photoorganoautotrophy

2.3. 光栄養 (Photolithoautotrophy) 多様性と代謝

最も良く知られている光栄養原核生物であるシアノバクテリアはカルビン回路を用いて二酸化炭素を固定し、酸素を副生成物として放出する (表 3)。シアノバクテリアは単細胞もしくはフィラメント状の形態を持ち、浮遊性でも底生でもあり、凍結した南極の乾いた谷から泥に富む温泉まで幅広い環境で生息している。光合成の温度限界は 70~74°C である。このグループは生理的に多機能であり、窒素を固定したり、発酵からエネルギーを得たり、HS⁻を光合成の電子ドナーとして用いる (PS I: 光合成システム I) こともある。

多くの光栄養細菌は酸素を副生成物として発散しない。その様な細菌には紅色イオウ・紅色非イオウ・緑色イオウ・緑色非イオウ細菌がある。紅色イオウ細菌は湖や堆積物中の嫌気帯に典型的に存在するが、酸化的状況でも光合成が可能である (Van Gernerden, 1993)。大部分は窒素を固定し、S⁰を細胞内外に貯蔵し、いくつかのものは chemolithoautotrophic な成長が可能である。極めて高塩・イオウに富む・中程度の熱水環境では紅色イオウ細菌が生息する。一方、紅色非イオウ細菌はよりイオウに乏しく・有機物に富む環境で典型的に生息し、代謝的により多様である。例えば、いくつかは photoheterotrophs (光をエネルギーソ

スとして用いるが、有機化合物を合成する際に有機分子を必要とするもの)である。紅色細菌はカルビンサイクルを二酸化炭素の固定に用いる(表3)。逆に、緑色イオウ細菌は厳格な嫌気性生物であり、 S^0 を細胞外に貯蔵し、逆クエン酸サイクルを用いて炭素を固定し、 $Fe(II)$ を光合成の電子ドナーとして用いる細菌もいる。緑色非イオウ細菌は photoheterotrophic な成長を行う事が多いが、 H_2 や H_2S を用いて自家栄養的成長をすることもある。非酸素発生型光合成の上限温度は $70\sim 73^\circ C$ である。

表3 様々なタイプの光合成

タイプ	生物グループ	電子ドナー	電子受容体
酸素発生型	緑色植物・藻類 シアノバクテリア	H_2O	O_2
非酸素発生型	シアノバクテリア ¹⁾ 真正細菌 ²⁾	H_2S	SO_4^{2-}
		H_2	H_2O
		H_2S	S^0, SO_4^{2-}
		S^0	SO_4^{2-}
		Fe^{2+}	Fe^{3+}
		有機物	酸化有機物

¹⁾ 嫌気的環境で光合成を行うシアノバクテリアもいる。 ²⁾ フィラメント状緑色細菌・緑色イオウ細菌・紫色細菌・グラム陽性ヘリコバシリスなど。

光合成の間、光量子からのエネルギーは生化学的な反応に利用可能な化学エネルギーに変換される。光合成を行う生物は多様な光受容システムを持ち、大部分の可視光線波長がカバーされる。真核生物の光合成生物はクロロフィル a もしくはクロロフィル b を持ち、両者の最大吸収波長はそれぞれ $680nm$ と $660nm$ である。原核生物の中では、シアノバクテリアの様な好氣的生物はクロロフィル a を持つのに対し、非酸素発生型細菌は多様なクロロフィルを持つ。紅色細菌はバクテリオクロロフィル a ($805nm$ と $830-890nm$) もしくはバクテリオクロロフィル b ($835-850nm$ と $1020-1040nm$) を、緑色細菌はバクテリオクロロフィル c ($745-755nm$)、バクテリオクロロフィル d ($705-740nm$)、バクテリオクロロフィル e ($719-726nm$) を、ヘリオバクテリアはバクテリオクロロフィル g ($670nm$ と $788nm$) を持っている。ただし、バクテリオクロロフィル a はいくつかの好氣的従属栄養光合成細菌や嫌氣的従属栄養光合成細菌(紅色非イオウ細菌の一部)にも認められる。

光合成色素の最大吸収波長の違いは、進化の順番に関連している可能性がある。現在の太陽光は $500nm$ 付近に強度のピークを持つが、生命誕生初期の太陽はより弱く、その強度中心は長波長側にずれていたと考えられる。光合成色素が太陽光に対応して進化したとすれば、より高波長光に適応したバクテリオクロロフィルがクロロフィルよりも先に出現したと考えられる。すなわち、酸素発生型光合成は非酸素発生型光合成よりも後に進化したということになる。この考察は光システムについても適用できるかもしれない。

酸素発生型光合成が持つ2つの光システムは標準ポテンシャルと反応中心クロロフィルが異なる。PS I は低い標準ポテンシャルと持ち($E^0 = +0.3V$; P700), PS II ($E^0 = +1.0V$; P680) はである酸素を電子受容体とする。一方、非酸素発生型光合成では単一の光システムが利用され、紅色バクテリアでは P870 ($E^0 = +0.5V$), 緑色バクテリアでは P840 ($E^0 = +0.3V$), ヘリオバクテリアでは P798 ($E^0 = +0.2V$) が用いられる。非酸素発生型光栄養生物のための電子ドナーはイオウ化合物・水素・ $Fe(II)$ を含む。酸素発生型光合成は非循環的な電子移動・光で稼働するエネルギー発生・光による還元力で特徴付けられるのに対し、非酸素発生型光合成では電子移動は循環的であり、エネルギー発生のみが光により稼働される。

2.4. 化学栄養 (Chemolithoautotrophy) 多様性と代謝

化学栄養のための電子ドナーには水素・二酸化炭素・硫化水素・アンモニウムイオンやその他の還元的窒素化学種・ $Fe(II)$ ・ $Mn(II)$ がある。また、 $As(IV)$, $Cr(III)$, $Sb(III)$, $Se(-II)/Se(0)$, $U(-IV)$ の様な他の還元的な元素も還元剤としての機能を持つ (Battaglia-Brunet et al., 2002)。

Chemoorganoheterotrophs を含む全ての微生物は可逆的カルボキシル化(例えば、 CO_2-C 結合を有機分子へと合成する)と脱カルボキシル化を結合させる能力を持ち、大量の二酸化炭素固定を引き起こす。バイオマスの生産のために、光—あるいは化学栄養細菌が持つ生化学的経路は、主に、カルビンサイクル・アセチル-CoA 経路・還元的トリカルボン酸 (TCA) サイクル・3-hydroxypropionate サイクルの4つである。

カルビンサイクルあるいは還元的ペントーズリン酸サイクルは、全ての緑色植物と多くの微生物が用いる。カルボキシル化はリブローズビスリン酸カルボキシラーゼ-オキシゲナーゼ (ルビスコ) により触媒される。

ルビスコはまた光呼吸（植物の明条件における二酸化炭素の放出）の間のオキシゲナーゼ反応にも寄与する。大部分の酵素と同様に、ルビスコは同位体的に（10～20%）軽い二酸化炭素を固定する。

Acetyl-CoA（あるいは Ljungdahl-Wood）経路はメタン細菌・アセトン細菌・自家栄養硫酸還元菌などの嫌氣的微生物が用いる。ここでは、酵素に結合したカルボキシルグループと酵素に結合したメチルグループを作る2つの経路が平行して二酸化炭素を固定し、アセチル-CoA（コエンザイム A）経路を作る。この経路での鍵になる酵素は carbon monoxide dehydrogenase である。メタン生成では、生合成は acetyl-CoA 経路を通じて起る。Acetyl-CoA 経路による $\delta^{13}\text{C}$ の同位体分別効果は-20～-40%である。

還元的トリカルボン酸 (TCA) サイクルは酸化的 TCA サイクルの逆反応であり、酸化的 TCA サイクルは従属栄養菌がエネルギー生成のための電子ドナーとして働く還元的対価物 (NADH, FADH₂) を生成するために用いる。3-hydroxypropionate サイクルは緑色非イオウ細菌 *Chloroflexus* や (Strauss and Fuchs, 1993)自家栄養古細菌が用いる (Mendez et al., 1999), この経路では 3-hydroxypropionate が鍵となる媒介物である。

その他のカルボキシル反応もある。例えば、メチル栄養細菌では、ホルムアルデヒドと二酸化炭素が結合して、セリンもしくは hydroxypyruvate 経路の中でアセチル-CoA を作る。一方、ホルムアルデヒドを固定するもう1つのメチル栄養経路であるリブローズ単リン酸サイクルはカルボキシル化の過程を含まない。その他、カルボキシル化に関わる反応にはピルビン酸やホスホエノールピルビン酸が参加している。

2.5. 有機物の分解

堆積環境での有機物は複雑な混合物である。タンパク質・炭水化物・脂肪は微生物により容易に分解される（ラビーレ）のに対して、リグニン・ヘミセルロースなどの成分は分解に対して抵抗力を持つ（recalcitrant）。有機物は複数のステップで分解される。まず、微生物はポリマーをアミノ酸・脂肪酸・単糖類などのモノマーに分解する（図4）。モノマーはさらに二酸化炭素に分解されるか、二酸化炭素とメタンの混合物になる。

好氣的条件では、酸素呼吸する生物によりモノマーは二酸化炭素に完全に分解される。しかし、嫌氣的条件で有機物を完全に分解するためにはモノマーを段階的に分解する微生物共同体を必要とする。最初のステップはアルコールや揮発性脂肪酸のような低分子化合物への分解である。次に、一次的発酵物質が二酸化炭素やメタンへと分解されるか、より小さい揮発性脂肪酸への二次的発酵が進行する。二次的発酵の生成成分は、無機的電子受容体を用いる生物の呼吸により、CO₂もしくは、CO₂とCH₄の混合物に分解される。

嫌氣的環境で分解される有機物の性質は、有機物の構造的複雑さ（ラビーレ/リカルシトラント）に依存している。維管束植物の破片はリグノセルソースや複雑な多糖類のような高分子成分に富むため分解に対して抵抗力を持つが、植物プランクトンは炭水化物に富み分解されやすい。Cowie and Hedges (1993) は堆積物中での有機物の分解されやすさは、アミノ酸>中性糖類>平均的有機物>リグニンとしている。

細菌は約 600Da より大きい有機物底質を加水分解できないので、大きな有機分子の分解は細胞外酵素により開始する (Weiss et al., 1991)。中間的～最終的分解を担う細菌の全てがこれらの酵素を分泌できる訳ではない。従って、これらの細菌は細胞外酵素を分泌する別の細菌に強く依存する。ポリマーの加水分解は、化合物が微生物活動を支える大きさになるまで続く。

海岸付近や淡水環境の堆積物中の有機物の多く（約 75%）はリグニン・多糖類セルロース・ヘミセルロースの複合体であるリグノセルソースにより構成されている (Benner et al., 1985)。リグニンは、維管束植物の 25～30%を占め、広い堆積環境に存在し、芳香化合物の重要なソースになっている。

微藻類の 50～80%はリグノセルソースで構成されているので、湿地の様な生態系でのリグノセルソースの分解は炭素バランスのために必要である (Maccubbin and Hodson, 1980)。初期の研究では、リグニンポリマーは酸素が無いと不活性であるとされていたが、嫌氣的にも分解されることが示された。しかし、このプロセスは遅く、分解されない成分を残す傾向がある。同じポリマーで比較すると、リグニンの嫌氣的分

解は好氣的分解の3~30%程度であり、セルロースよりも分解しにくい。

菌類と細菌はともにリグノセルロースを分解する。菌類は乾いた土壌で優勢であり、細菌はより水に富む環境で優勢である。Benner et al. (1986) は海水により湿った場所で、細菌がリグニンと多糖類を分解することを示した。真核生物は酸性/アルカリ性の淡水湿地においてリグニンと多糖類を分解する。多糖類はリグニンよりも $10^3 \sim 10^4$ 分解しやすく、草本植物は木よりも容易に分解される。菌類やフィラメント状細菌によるリグニンの好氣的異化作用 (catabolism) ではリグノリティック・ペルオキシダーゼが用いられる (Black and Reddy, 1991)。この酵素はマンガンにより活性化される。嫌氣的分解のプロセスに関連した酵素については良く知られていない。

嫌氣的条件では、リグニンオリゴマーはモノマーへと分解し、リグニンモノマーは二酸化炭素に分解される。リグニンポリマーの分解は芳香族のサブユニットを放出し、多くの研究はこれらのモノマーが利用される嫌氣的経路を検討してきた。実際、リグニンモノマーはリグニンモデル分子として良く用いられている。ジオキシナーゼやペルキシナーゼの様な酵素により、芳香環が壊れることが知られているが、これらの反応は嫌氣的条件では起らない。リグニンモノマーは一般に水酸化・メチオキシル・カルボキシル基を含みそれらは、芳香環の分解より前に取り除かれる。Phenylmethylethers の O-ジメチル化はバクテリアの成長に利用可能な単炭素物質を生成するため注目されている。O-ジメチル化を行うバクテリア系統の多くは acetogenic であるが、嫌氣的・条件的嫌氣的細菌のいくつか (硫酸還元・硝酸還元・発酵菌の一部) は芳香環をジメチル化する能力がある。いくつかの細菌は芳香環から官能基を取り除くことができる。多くの場合、官能基が取り除かれた芳香環は壊されない。O-ジメチル化によって放出されたメチル基は硫化メチルとなり、メチレンチオールや硫化ジメチルの発生を引き起こし、残った芳香族成分は分解されない (Bak et al., 1992; Finster et al., 1990)。バクテリアは植物起源の芳香族分子を分解する能力を持っている。

2.5.1. 発酵

発酵は有機分子を電子ドナーと電子受容体の両方に使う代謝プロセスである。第一次発酵はグルコースやその他のモノマーをアルコール・脂肪酸・水素・二酸化炭素へと分解する。二次的発酵は一次発酵により生じた生成物をさらにアセテートや低分子の有機酸へと分解する作用である (図4)。発酵は細胞内で起り、エネルギーは有機物分解を底質レベルのリン酸化 (リン酸基を OH や H 基へ置換して入る作用。ATP からのリン酸転移反応で起る事が多い) により作られるという点で嫌氣的呼吸と大きく異なっている。好氣的・嫌氣的呼吸は外部からの電子受容体を必要とし、電子輸送を通じた酸化的リン酸化を行う。発酵はこれらの呼吸よりも非常に小さいエネルギーしか発生しない。しかし、非発酵生物はポリマーの加水分解で生じたモノマーを利用出来ないため、発酵は嫌氣的代謝プロセスの重要な鍵になっている。その結果、いくつかの環境では発酵生物は他の細菌を凌駕する。例えば、硫酸還元環境では、硫酸還元菌は全体の5%程度であり、その他の細菌はポリマーの分解や発酵を行っている (Devereux et al., 1996)。植物根が酸やアルコールを放出する嫌氣的湿地土壌では、状況が違って来る。硫酸還元菌は酸やアルコールを利用出来るため、発酵の必要は無く、全体の30%を占める事になる。

培養実験で、発酵菌が幅広い有機分子を消費することが示されている。これらの中には砂糖・アミノ酸・プリン体・ピリミジン・芳香族・アセチレン・ C_{1-18} の有機酸が含まれる。発酵は幅広い生成物を作るが、 C_{1-18} の有機酸・アルコール・水素・二酸化炭素が最も多い (Schink and Stams, 2002)。メタン生成の環境では、 C_3 以上の脂肪酸・側鎖一芳香脂肪酸・ C_2 以上のアルコールは、メタン生成に利用される前に第二次発酵による分解が必要である (Schmitz et al., 2001)。従って、メタン生成を完了するためには二次発酵は必要不可欠である。ただし、硫酸還元と金属還元はメタン生成よりもより応用性が高く、大部分の第一次発酵生成物を利用可能である。金属酸化物や硫酸に富む環境では有機物利用は2つのステップで起り、まず第一次発酵菌がポリマーやモノマーを加水分解し、その後、細菌が発酵生成物を利用する。ただし、脂肪酸を酸化

する硫酸還元菌がない場合、脂肪酸の分解は二次発酵により行われ、発生した水素は硫酸還元菌により利用される。

上記の古典的発酵のほかに、有機分子はアセトン化 (acetogenesis) でも分解される。この用語は幾分漠然としており、発酵を含む全てのアセテート生成反応を包括している。一般に、アセトン合成菌と呼ばれる細菌は、二酸化炭素からアセチル CoA を還元的に合成し、電子受容とエネルギー貯蔵プロセスのためアセチル CoA 経路を用いる。ホモアセトン合成菌はアセテートを唯一の還元最終生成物として合成する。アセチル CoA 経路は二酸化炭素を有機分子へと固定する嫌氣的暗反応であり、大部分のアセトン合成菌はこの経路を利用し、水素を酸化して二酸化炭素を還元し、自家栄養的にアセテートを作る。典型的なアセテート発酵反応では、グルコースは2つのアセテートと2つの二酸化炭素に分解される。ただし、アセトン合成菌は2つの二酸化炭素をアセテートに還元するので、合計で3つのアセテートが生じる(図5)。これは嫌氣的環境で起る反応であり、グルコースがアセテートへと変化するアセトン化カタボリズムは理論的にメタンから二酸化炭素への分解は引継がれる。これは熱力学的にも好ましく、嫌氣的環境で優勢な分解経路になる。ただし、実際の環境ではこの2つの反応の連結経路は重要ではなく、メタン合成が起っている環境でのアセトン化の役割はよく理解されていない。

アセトン生成細菌は極めて多様なグループであり、砂糖・酸・アルコール・芳香族メチルオキシシルグループ・ $C_1 \sim C_2$ 分子・CO を用いた異化(複雑な物質を単純な物質に変える作用)の能力を持つ。アセチル CoA 経路はいくつかの硫酸還元やメタン生成細菌にも存在し、アセテート酸化・アセテートからのメタン生成・二酸化炭素の固定・CO の酸化・ C_1 化合物の合成に関与している。

H_2 と CO_2 からのアセテートの自家栄養的生成はメタン合成と直接的に競争している。 H_2 と CO_2 からのメタン合成は熱力学的により好ましいが、いくつかの環境ではアセテート合成が優勢になる。Küsel and Drake (1994) は洪水で生じた土壌において、メタン合成無しに、数ヶ月でアセテートが蓄積したことを示した。

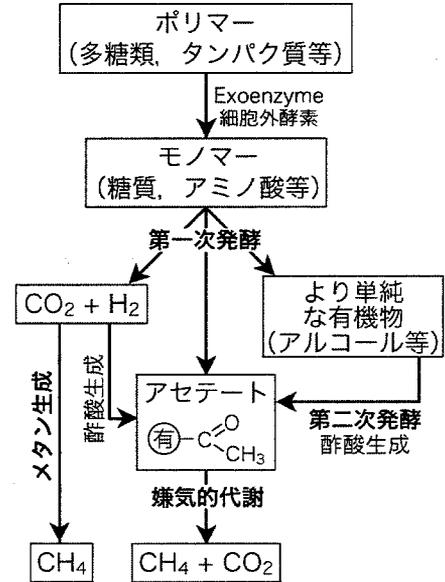


図4. 複雑な有機物(ポリマー)を単純なアセテートにする発酵の概念図。嫌氣的代謝により有機物はメタンと二酸化炭素に変えられる。

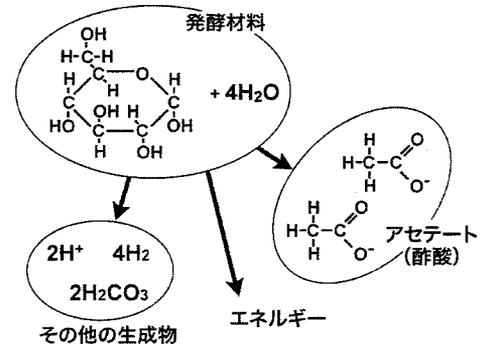
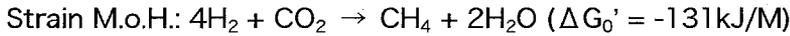
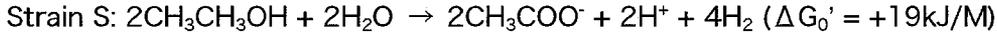


図5. ブドウ糖 (glucose: $C_6H_{12}O_6$) の発酵により生じる生成物とエネルギー。2次発酵の一例。

2.5.2. 共栄養 (syntrophy) と種間の水素移動

多くの嫌氣的微生物は電子ドナーとしてアセテートの様な二次的発酵生成物を必要とする。しかし、代謝副生成物である水素が蓄積し、反応が吸エルゴン (endergonic; 光合成の様に、生物能動的で、熱力学的に自発的に進行しない) になれば、微生物の2次的発酵能力は抑制される。例えば、水素濃度が 10^{-4} atm まで増加すると、有機酸とアルコールの発酵は成長のための十分なエネルギーを生み出さない。ただし、水素はそれを消費する細菌により連続的に除かれるので、これらの発酵は一般に発エルゴン反応になる。水素は一般的な代謝中間生成物であるが、その消費時間は短く、濃度も極めて低い (Conrad et al., 1986, 1989)。そこで、微生物は代謝パートナーとの間で水素を交換し、第一次発酵生成物を嫌氣的環境下で完全に分解する。多くのケースでは水素が一方の生物に受け渡され、このプロセスは種間水素移動 (interspecies H_2 transfer) と呼ばれる。共栄養と種間水素移動は多くの例で共通しているが、水素移動は電子移動のプロセスであり、他の電子キャリアーも関係する。

Bryant et al. (1967) はメタン合成菌をエタノール溶液で培養し、種間水素移動の古典的な例を見いだした。ここでは、メタン合成菌 *Methanobacillus omelianskii* がエタノール共栄養菌 (S Strain) や水素利用のメタン生成菌 (Strain M.o.H) と共栄養になる。



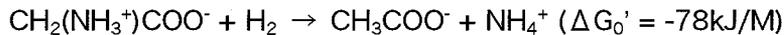
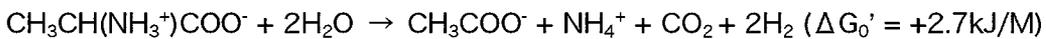
エタノール発酵反応は吸エルゴンなので、それを行う微生物は水素栄養メタン合成菌無しでは成長出来ない。しかし、メタン合成により水素濃度が 10^{-3}atm 以下になると、全体の反応が発エルゴンになる。

第一次発酵細菌も、分解鎖の末端で水素栄養のパートナーに水素を受け渡す。低い水素濃度が保たれると、第一次発酵は H_2 やより酸化成分であるアセテートや CO_2 を最終的に生成する。これにより、発酵はより効率的になり ATP の合成が促進される。活発な嫌氣的群集中では、水素は微生物により利用され、二次的発酵には供給されない。ただし、水素は、脂肪やアミノ酸の分解中間生成物である長鎖/分岐成分を利用する発酵へは供給される。そのため、第一次発酵がアセテート成分のみを発生すれば、二次発酵は嫌氣的代謝プロセスのわずかな部分を占めるにすぎない。

嫌氣的細菌は幅広いアミノ酸を発酵可能であり、多くは水素利用細菌と関連した種間水素移動を行う。アミノ酸発酵の古典的な例は、1つのアミノ酸が酸化剤として、他方のアミノ酸が還元剤として働く Strickland 反応である。例えば、細菌がアラニンをアセテートとアンモニアに酸化し、グリシンをアセテートとアンモニアに還元する。



ただし、この反応では、アラニンの酸化とグリシンの還元がカップリングしないこともある。



これら2つの反応から、



単一のバクテリアはこれら3つの反応全てに関与できる。ただし、アラニン酸化により生じた水素がアセテートを用いるメタン合成細菌や硫酸還元菌により消費されることがある。Strickland 反応はアミノ酸共栄養発酵反応としてはエネルギー的に好ましく (Schink, 1997)、アミノ酸に富む環境ではアラニン酸化の方が優勢である。

2.6. メタン

メタン生成は有機物の嫌氣的分解における最終段階である。メタン生成菌による本質的な2つのステップはアセテート発酵による CO_2 と CH_4 の生成と、水素の酸化による水の生成である。どちらのプロセスでも、最終的に生じるメタンはさらなる嫌氣的代謝をサポートするエネルギーポテンシャルを持つ。すなわち、嫌氣的代謝の真の最終ステップはメタンを二酸化炭素にする嫌氣的酸化である。酸素が存在するとメタンはメタン酸化細菌のエネルギーソースとなる。

1850 年代以降、主に土壌や堆積物中のメタン生成を活性化させることにより人間活動はメタンの濃度を約 0.7ppmv から 1.8ppmv へと増加させてきた (Lelieveld et al., 1998)。現在のメタン濃度は、過去 42 万年間の氷床コアに記録された最高レベルの2倍に達し、

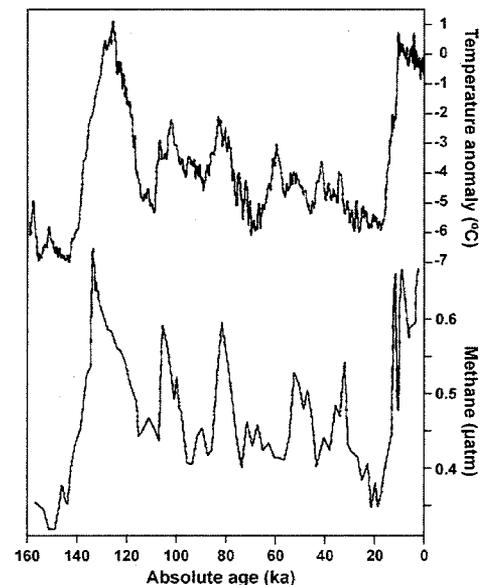


図 6. 過去 16 万年間の気温変化と大気メタン濃度の変化 (氷床コアの気泡中の濃度) の対応。

人間活動による温暖化効果の約 20%に匹敵する (Prather et al., 2001). 大気中のメタン濃度は地表の平均気温と極めて良い相関を持つことが知られている (図 6). それは、熱帯地域と北半球の湿地面積の変化と関連していると考えられており、気温が上昇すると、それらの地域でのメタン生成が活性化される。したがって、地表におけるメタン生成は気温の正のフィードバックシステムを作る。また、メタンハイドレートは過去の気候変動を引き起こす突然の大気中のメタンソースになるので、これらの巨大なメタンリザーバーの安定性は重要なトピックになっている (Kvenvolden, 1999; Wood et al., 2002).

現在のメタンソースの約 70%は人工的であり、それは化石燃料に関連した工業、ゴミ処理システム、畜産に関連した農業からの増加量とほぼ等しい (Table 5). 湿地と水田からのソースの 60%は熱帯地域にあり、35%は北半球の高緯度、10%が中緯度にある。天然あるいは管理された湿地からのメタン放出は地球的な放出量の 32%であるが、産業革命以前はおそらく 70%だった。エスチュアリーからの放出量は海水からの放出量の 9%以下である。

メタンの大気中でのダイナミクスは二酸化炭素とは大きく異なっている。メタンは反応性の高いガスであり、NO, NO₂, CO, O₃ の濃度に影響する大気化学反応に参加する。同じ 1 モルで比較すると、メタンは二酸化炭素よりも 3~22 倍強い温室効果ガスであるが、大気中での滞留時間が短い (約 10 年と 100 年以上という見方がある) ため、その濃度はソースとシンクの変化に敏感である。これらの特徴から、地球温暖化の対策として最初はメタン発生の軽減に注目が集められていた。

メタンは経済的にも重要なガスである。天然ガスとしてのメタンは奇麗に燃えるエネルギーソースであり、アルカン生成のための重要な炭素基質である。メタンは家畜の内臓から、代謝エネルギーのロスとして発生する。メタン生成菌は毒性有機物を直接的に分解しないが、発酵生成物の消費などのプロセスにより分解し、炭素化合物を嫌氣的に分解する環境を保持している。メタン生成菌は化石燃料堆積物中に含まれる安定した炭化水素のグループであるアルカンの分解において、役割を演じている (Anderson and Lovley, 2000; Zengler et al., 1999). メタン栄養細菌のような炭素とエネルギーをメタンから依存しているバクテリアは、トリクロロエチレン (TCE) の様な毒性有機物を直接分解する。

2.6.1. メタン生成菌の多様性と代謝

メタン生成菌は厳格な嫌気性微生物であり、代謝生成物としてメタンを作る。メタン生成菌とその他の微生物を分離するいくつかの特徴がある。それらは古細菌の中で、最も大きく多様化したグループである。古細菌のメンバーの多くは極限的な温度・pH・塩分濃度で成長し、メタン生成細菌はその中に広く分布する。メタン生成菌は多くのユニークな補酵素を持ち、真正細菌とは細胞壁の構造が異なり、ペニシリンや他の抗生物質に対して抵抗力を持つ。メタン生成菌とその他の古細菌は 420nm の紫外線で自家蛍光を放つ電子キャリアー F₄₂₀ により認定出来る (Edwards and McBride, 1975). 多くのメタン生成菌はチトクロームや電子輸送するキノンの様な成分を持たない。Methanosarcinales ではフェナジン分子が電子移動の機能を担っている。Boone et al. (1993) によるとメタン生成菌には 26 属 74 種が含まれている。

メタン生成菌は分類的に多様であるが、その嫌氣的代謝において用いられるエネルギーソースは限定されている。エネルギーを成長に変えるための成分は水素・アセテート・フォルメート・アルコール・メチル化した化合物である。最も重要なソースは水素とアセテートであり、約 73%のメタン合成菌が水素を消費する。



水素栄養 (hydrogenotrophic) のメタン合成 (CO₂/H₂ reduction あるいは H₂-dependent メタン合成とも呼ばれる) は化学自家栄養的なプロセスであり、水素はエネルギーと電子のソースとして、二酸化炭素は電子シンクと細胞の炭素として用いられる。水素栄養のメタン合成菌の中には成長のために有機炭素のソースを用いるものもある (Vogels et al., 1988). CO₂/H₂ reduction に必要な CO₂ と H₂ のモル比は 1 対 4 であるにも関わらず、天然システムに存在する H₂ は nM のレベルである。すなわち、水素栄養のメタン生

成が起るためには基質の制限があり、電子ドナーである水素は不足している。

水素栄養のメタン合成は多くのメタン合成菌により行われているのに対し、アセテート栄養（式5；あるいはアセテート発酵もしくは acetoclastic メタン合成）は *Methanosarcina* と *Methanosaeta* の2属（種数にすると全体の約10%）にしか認められない。



いくつかのメタン合成菌はアセテートやメタノールの様な単一の基質に依存しているが、他の物は複数の基質を選択可能である。全てのフォルメート酸化メタン合成菌は水素栄養であるが、そのうち最低1つはピルベート発酵でも成長できる。*Methanosaetaceae* のメンバーはアセテートを利用し、水素を利用出来ないが、*Methanosarciaceae* は両方を利用できる。

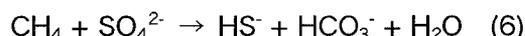
メタン合成菌は成長をサポートしないいくつかの底質を代謝する。*Methanosarcina barkeri* は Fe(III)の分解的還元により酸化還元ポテンシャルを下げて、それが 50mV に達するとメタン合成を開始する (Fetzer and Conrad, 1993)。幅広い系統と生理的タイプから選んだ5つのメタン合成菌について検討したところ、全ての水素栄養菌が Fe(III)を還元することが解った (Bond and Lovley, 2002)。Fe(III)上での成長能力は検討されなかった。CO は CH₄ へと変化するが、この底質での生理的役割は不明である。Rich and King (1999) は嫌氣的土壌での CO の最大摂取速度を 1-2nM/cm³hour と見積もったが、硫酸や鉄酸化物の添加やメタン合成抑制剤である BES の添加に対する応答を見ると、メタン合成菌は酸化活動の 30%以下にしか貢献していない。メタン合成菌は塩素を含む有害有機物を分解し、バイオメディエーションに広く用いられている (Mikesell and Boyd, 1990)。

メタン合成菌は 4-100°C、淡水から塩水、pH3-9 の範囲に生息する。最良の温度は 30°Cより少し高めであるが、好熱メタン生成菌は 100°C付近で適応し、いくつかは凍結した条件からも抽出されている。68種のメタン合成菌種について検討したところ、大部分の種は pH=6-8 の条件で生息し、5.6以下で生息するのはいなかった (Garcia et al., 2000)、ただし、酸性環境でもメタンが発生することから、pH<5.6以下の環境でも生息出来る未培養メタン合成菌が存在していると示唆された (Walker, 1998)。

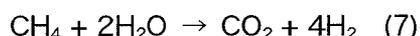
2.6.2. 嫌氣的メタン酸化

嫌氣的メタン酸化は 1970年代に始めて海洋堆積物から報告された。孔隙水中のメタン濃度の深度プロファイルは明瞭な凸型を示す事から、そのプロセスは孔隙水の硫酸とメタンプロファイルから予想された。さらに、嫌氣的条件で ¹⁴CH₄ が ¹⁴CO₂ に変化している事や、メタンの ¹³C が高いゾーンが二酸化炭素の ¹³C が低いゾーンと一致することも、このプロセスを支持している。メタンの嫌氣的酸化は微生物により仲介されることは古くから知られていたが、メタンを嫌氣的に酸化する微生物は未だに培養されておらず、その代謝経路については異なる仮説が提示されている。

海洋堆積物中での嫌氣的メタン酸化を説明する3つのメカニズムが提案されている。嫌氣的メタン酸化はメタン栄養と硫酸還元をカップリングする単一の生物によりなされているかもしれない。硫酸還元とカップリングするメタン酸化は熱力学的に好ましい (Martens and Berner, 1977)。



同じ反応を引き起こす2番目の可能性は、メタンを二酸化炭素と水素に酸化する生物と、水素を消費する硫酸還元菌の共栄養であり、好ましい熱力学的条件は保持される。このケースでは、嫌氣的メタン酸化は水素栄養メタン合成の逆反応になる。



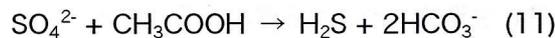
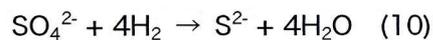
代謝経路の進行は両方向に可能であり、最終生成物のスワッピングが嫌氣的生物から報告されている。例えば、ホモアセトン栄養菌と呼ばれる *Reversibacter* は水素濃度が低い時にアセテートを二酸化炭素と水素に

酸化し、水素濃度が高い時は逆反応を行う。ただし、水素濃度を変えて行ったメタン生成の逆反応は培養実験で示されていない。熱力学およびカイネティックな考察はアセトン栄養メタン生成の逆反応はメタンシープの様な高いメタン濃度でのみ起り、その経路はアセテートの微生物間の移動を必要とする。同じ様に、メタン濃度に関係なく、水素・フォルメート・メタノールの種間移動を必要とする経路は嫌氣的メタン酸化ではありそうにない。メタンシープから採集した堆積物に水素・フォルメート・アセテート・メタノールを添加しても硫酸還元は促進されなかった (Nauhaus et al., 2002)。

逆メタン生成仮説の改訂版は Valentine and Reeburg (2000) により示された。この反応は単純な嫌氣的メタン酸化 (式 6) の2倍のエネルギーを発生し、熱力学的により好ましい。



このケースでは、メタン生成菌が逆反応によりアセテートと水素を作り、水素は硫酸還元菌に利用される。



これら3つのプロセスは「メタン消費と S^{2-} 生産がモル比 1:1 で進行する」という観察結果と整合的である。

メタンは $\delta^{13}\text{C}$ が低いと言う事実は嫌氣的にメタンを酸化する微生物の性質を規制するのに便利である。メタンの $\delta^{13}\text{C}$ は約 -50~-110‰ であるので、メタン起源の炭素はその明瞭な同位体比を用いて追跡可能である。大部分の同位体研究はメタンハイドレート上もしくはシープの堆積物について行われ、そこでの高い空隙水メタン濃度は急速な嫌氣性メタン酸化を引き起こしやすい。その様な堆積物中では、古細菌に特有な脂質が低い炭素同位体比 (多くは、 $\delta^{13}\text{C} < -100\text{‰}$) を持ち、それがメタン起源であることを示している。興味深いことに、硫酸還元細菌に特有の脂肪酸の値も同様に低く (-75‰ に達する)、硫酸還元菌がメタン酸化菌により作られた中間有機物を消費していたことを示唆する。もしそうであれば、これは嫌氣的メタン酸化が古細菌—真正細菌の群集により行われた証拠である。

古細菌と真正細菌の共同を示す最も明確な証拠は、ハイドレートシープ堆積物中での空間的配置である。系統選択性を持つ蛍光染色 (FISH 法) を用いて、Boetius et al. (2000b) は約 100 個の古細菌細胞の集合体が、細胞厚 1~2 個の硫酸還元菌により取り囲まれている様子を観察した (図 7)。Orphan et al. (2001b) はさらに、これらの凝集物の古細菌コアで $\delta^{13}\text{C}$ が低いことを示した。この証拠は嫌氣的メタン酸化における共栄養のモデルを支持し、メタン生成菌様の古細菌がメタンを酸化し、硫酸還元菌が最終生成物を消費して、反応を熱力学的に好ましいものになっている。ただし、この古細菌のメンバーがメタン生成と酸化の両方が可能なメタン合成細菌であるかを決定するには至っていない。単独の古細菌脂質も $\delta^{13}\text{C}$ が低いので、微生物群集は嫌氣的メタン酸化のために必須ではない。

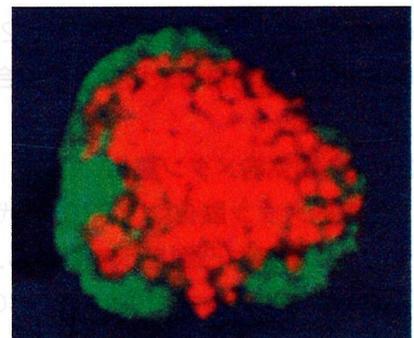


図7. 微生物凝集体に適応した FISH イメージ。赤色は古細菌 (メタン酸化菌)、緑色は硫酸還元菌であり、特有な rRNA に対応した蛍光プローブで染色した。

メタンを嫌氣的に酸化する生物については、その系統の概要以外にはほとんど理解されていない。いくつかのメタンシープ堆積物から得られた 16S rRNA のシーケンスは未知の古細菌遺伝子である ANME-1 と ANME-2 である。ANME-1 グループは単一のフィラメントあるいは単一種の微生物マットとして存在し、バクテリアのパートナーを必要としない (Orphan et al., 2002)。それらは熱水噴出口 (Takai and Horikoshi, 1999)、メタンハイドレート、浅海堆積物から回収されている。塊状の ANME-1 礁は黒海で発見されている。嫌氣的にメタンを酸化する凝集物のコアは ANME-2 タイプの古細菌である。このグループはアセテートをメタンに発酵あるいは少量のアセテートをメタンに酸化するメタン生成細菌 *Methanosarcinales* と密接に関連している。微生物群集でのメンバーの比率はメタンをアセテートと水素に酸化すること (式 9) が可能であり、硫酸還元菌脂質の低い $\delta^{13}\text{C}$ を説明するという点で望ましい。メタンシープ堆積物中で、いくつかの硫酸還元細菌 (例えば *Desulfosarcinales*) がアセテートを消費して

いることが解っている。

メタンシーブでの微生物多様度から判断して、嫌氣的メタン酸化はどの単一のプロセスでも説明できない。多くの嫌氣的メタン酸化環境に見られる硫酸還元菌は未知もしくはユニークなものであり、バイオマーカーのデータは嫌氣的メタン酸化が起きている堆積物中から古細菌と真正細菌の成分を抽出している。メタン合成細菌・硫酸還元菌・アセテート酸化細菌に対する抑制物は嫌氣的メタン酸化速度に影響する場合も、影響しない場合もある。硫酸濃度が低い淡水環境でも嫌氣的メタン酸化が起きていることもあり、硫酸以外の電子受容体が働いている可能性もある。熱力学的に考察すると、嫌氣的メタン酸化の経路はメタン分圧に応じて変化する (Valentine, 2002)。これに関連する生物の分離と培養が疑いなく必要である。

嫌氣的メタン酸化を制御する生態的条件についての情報はほとんど無い。メタンシーブ堆積物の培養実験では、4~16°Cの幅広い最盛域を示し、温度による影響が予測された。海洋堆積物や水柱中で広く起っているプロセスはメタン生成を引き起こす大量のラビーレ有機炭素を供給する。嫌氣的メタン酸化は世界の海洋での第一次的なメタンシンクであり (D'Hondt et al., 2002)、海洋堆積物、特にメタンと硫酸のプロファイルが交わる部分での硫酸還元の多くの部分を説明する (Table 6)。メタンハイドレートが分解している上部において、140mM/m²dayにも達する硫酸還元の速度が報告されており (Boetius et al., 2000b)、嫌氣的酸化は大量の炭素リザーバから水柱に放出されるメタンフラックスを重大に縮小している。

2.6.3. 好氣的メタン酸化

メタンは嫌気/好気インターフェースを通過し大気に拡散する前に、メタン栄養細菌により好氣的に酸化される (King, 1992)。



メタン栄養細菌はメタン合成環境の好気/嫌気インターフェース、動物との共生環境、湿地植物の内部に生息する。メタン栄養細菌は好氣的な酸化を主に行うが、アンモニア細菌も土壌や堆積物中で少量のメタン酸化活動に貢献する。

メタン栄養細菌は絶対嫌気性微生物であり、メタンを炭素とエネルギーのソースとして用いる。**メタン栄養細菌はメチル栄養細菌の亜系**であり、全てが炭素結合 (C-C 結合) を含まない分子 (すなわち、C₁ 分子) を分解する。メチル栄養細菌の C₁ 分子を代謝する特徴はメタン合成細菌と共通している。実際、2つのグループは古細菌とプロトバクテリアという系統的にかけ離れた位置に分布するが、C₁ 分子の代謝のための多くの遺伝子を共有する。

メタン栄養の種は、系統・微細構造・脂質の組成・生化学・生理の点で異なる2つのグループに分離される。タイプ I はγプロトバクテリアの *Methylococcaceae* 科に属し、タイプ II はαプロトバクテリアの *Methylocystaceae* 科に属する。二つのグループは異なる生態を持つ。Amaral and Knowles (1995) は酸素とメタン濃度に勾配を持たせた培地においてタイプ I メタン栄養細菌が低いメタン濃度領域に、タイプ II メタン栄養細菌が高いメタン濃度領域に適應することを示した。また、タイプ II のみが窒素を固定すると考えられ、窒素に乏しい培地ではタイプ I を凌駕する事や、水田にアンモニウムの肥料を加えるとタイプ I のメタン栄養細菌が増加することとも整合的である。ただし、窒素固定遺伝子 (*nifH*) やニトロゲナーゼ活性の研究は、窒素固定が2つのグループに存在していることを示唆した。すなわち、タイプ I メタン栄養細菌が窒素固定の能力を欠くという考え方はもはや成立しない。しかし、実地においてタイプ I メタン栄養細菌のニトロゲナーゼの活性の程度は決定されていない。

すべての既知のメタン栄養細菌はメタンに対して低い親和性 (結合力の強さ) ($K_m > 1\mu\text{M}$) を持ち、大気のメタン濃度で成長を保持する種は存在しない。強い親和性を持つメタン酸化細菌の培養種は存在しないが、その様な生物はメタンシンクの 10% を占める高地土壌に知られている。高いメタン親和性を持つメタン酸化細菌は湿地土壌でも同様に見られ、地下水面が低下や温度の下降、低い有機物濃度に対応して、総メタン消費量に変化する。2つのタイプが混合した群集でのメタン酸化のカイネティクスがバイオマーカーや同位体を用いて見積もられている。Bull et al. (2000) は森林土壌におけるラベリングした ¹³CH₄ のリン脂質

(PLFAs) への固定を評価した。土壌表面では $^{13}\text{CH}_4$ はタイプIIの PLFAs へ固定され、メタン濃度が高い (100 $\mu\text{L/L}$) 土壌深部ではタイプIとIIが共存していた。

最近まで、全ての培養メタン栄養菌は $\text{pH}>5$ の条件を必要とし、ほとんどが中性環境に住むと考えられてきた (Hanson and Hanson, 1996)。しかし、 $\text{pH}<5$ の酸性のミズゴケ bog でもメタン酸化が起きている。また、酸性メタン栄養菌も分離され、2つの種は $\text{pH} = 4.5-5.5$ で最も活発である。

多くの環境において多様なメタン酸化細菌が PLFA 分析・DNA 分析・FISH 法の研究対象にされている。メタン酸化細菌に対する FISH 法プローブは広いタイプ・属・種に特殊化しつつある。酸性の高緯度ビートに対して FISH を適用したところ、メタン栄養菌群の 1%以下がタイプIであることが解った。残りは低い pH に耐性を持つが、5%以下が既知の酸性菌だった。全てのメタン栄養菌細胞の 60-95%が単一属 *Methylococcus* であった (Dedysh et al., 2003)。

メタン酸化速度は酸素、メタン、窒素により制御される。酸素による制限は、連続的に洪水が起ったり、水没したシステムで最も顕著である。湖や洪水湿地の堆積物表面への酸素のフラックスはメタン酸化を制限する。この理由から、藻類マットや水没した水棲植物群落はメタン酸化の日サイクルを作り出し、光合成により日中に最大になる。Heilman and Carlton (2001) は水没した水棲微藻類から放出される酸素によりメタン放出が劇的に変化している例を示した。このケースでは、日中の堆積物はメタンのネットシンクであり、夜間にはメタンのネットソースである。しかし、彼らの結論によると、酸素はメタン栄養を促進するというよりも、メタン生成を抑制すると捉えられた。

酸素制限の程度によっては、酸素をめぐる競争はメタン酸化の効率を制御する重要な要因になる。カイネティックなモデルを用い、van Bodegom et al. (2001) は酸素濃度が $10\mu\text{M}$ 以下の時にのみ、メタン栄養細菌は従属栄養細菌を凌駕する。低い酸素濃度の時のメタン栄養細菌の競争上の利点は酸素への高い親和性にある。高い酸素親和性は他の好気細菌にも認められ、それらは酸素をめぐるメタン酸化細菌や、鉄と硫化水素による無機酸化と競争する。Van Bodegom et al. (2001) により示されたシミュレーションモデルは根環境でのメタン酸化に対する要因の効果を統合するのに役立つだろう。

一方、海洋堆積物や部分的に通気する湿地土壌の様な、メタン濃度の比較的低いシステムでは、メタンの有用度が酸化を制限するようである。泥炭地の生態系では、メタン濃度が高く酸素濃度が低い地下水面境界においてメタン酸化ポテンシャルが最大になっており、メタン制限のメタン栄養の間接的証拠になっている。このような環境では非維管束植物が優勢な土壌表面は乾燥し、メタン生産速度は比較的低い。

メタン酸化は酵素レベルの抑制やメタン栄養細菌の窒素需要に関連して、窒素により制限されることもある。メタン栄養細菌によるメタン酸化とアンモニア酸化細菌による NH_3^+ の酸化は類似した2つの酵素、メタンモノオキシゲナーゼ (MMO) とアンモニウムモノオキシゲナーゼ (AMO) で始まる。MMO を作る生態膜は進化的に AMO と関係しており (Holmes et al., 1995)、MMO の溶存型も存在する。MMO と AMO はともにその他の化合物を酸化可能であり、MMO は NH_3^+ を AMO はメタンを酸化できる。Bodelier and Frenzel (1999) は水田における硝酸生成菌 (nitrifiers) のメタン酸化への寄与は無視できるとしたが、メタン栄養細菌の NH_3^+ 酸化への寄与は重大であることを示した。MMO の活性サイトをめぐる NH_3^+ とメタンの競争は、窒素肥料がメタン酸化を抑制するという一般的観察に対する1つの説明になっており、抑制がメタンと NH_3^+ 濃度の比によって変化するという事実とも整合的である。メタン酸化の抑制は NO_2^- の毒性で説明する研究者もいる。ただし、嫌気的環境ではメタン濃度が高く、酸素濃度が低いいため、硝酸化が抑制されるため、これらの要因はいずれも重要ではない。

2.6.4. 湿地でのメタン発生と地球的变化

淡水湿地からのメタン発生は世界的生産量の 1/3 を占める。湿地でのメタン発生についての 48 の論文をコンパイルすると (Le Mer and Roger, 2001)、一日のメタン発生量は、泥炭地では 0.43kg/ha 、非耕作湿地では 0.72kg/ha 、水田では 1.0kg/ha である。この順番は第一次生産量の順番と整合的であり、メタン生成が光合成による炭素供給とカップリングしていることを示唆する。本項では、メタン発生における世界的影響について手短かに説明する。

大気中の二酸化炭素の増加は気候変動に無関係に湿地でのメタン発生に影響する。水田のような、温帯～熱

帯の湿地生態系は二酸化炭素の増加とともに、光合成とメタン発生を増加させる (Ziska et al., 1998). 光合成とメタン発生の強い正の相関 ($r^2 = 0.87-0.97$) は、二酸化炭素増加による応答が、ラビール炭素の供給量増加によるものであることを示唆する (Vann and Megonigal, 2003). ただし、高緯度の泥炭地生態系での対応は整合的ではなく、二酸化炭素濃度が光合成・生物生産・メタン発生に及ぼす影響は無視出来る。その理由は窒素制限にあるようだ。ツンドラでの研究では、二酸化炭素の濃度が、4°C以上の温度増加を伴わない限り、一次生産に影響しないとされている (Oechel et al., 1994).

地球温暖化による気温上昇幅が大きいと予測される北緯 45 度以北の地域では、湿地面積の 57%と土壤炭素プールの 33%を占める。この地域での湿地はメタン発生の 10%に寄与し、熱帯湿地と同程度に重要である。将来数 10 年間での温暖化により、土壤有機物の分解と発酵が促進し、結果としてメタン発生量が増加するとされている (Bartlett and Harriss, 1993). ただし、温度上昇がメタン発生を増加させるという点で最も重要な点は、植物の種構成と代謝活動の変化である。窒素分解の温度上昇による促進は、北方の湿地における植物生産性を高め、成長の季節を長くする (Myneni et al., 1997). 湿ったツンドラでも、メタン発生に対する直接の温度効果よりも、植生変化の影響が大きいとされる (Granberg et al., 2001).

地球温暖化が及ぼす水文的影響は温度に対する影響よりも不確定的である。地下水面の長期的な低下はメタン生成を低下させることにより、発生量も低下させる。Freeman et al. (2002) は乾燥した泥炭地でのメタン発生の減少は、メタン栄養の増加よりも、メタン発生の低下で起っていると結論付けた。彼らは、透水していない土壤表面でのメタン拡散はメタン酸化の増加を促すにはあまりに急速であると考えた。メタン栄養菌群集が減少するために、乾燥後のメタン発生はゆっくりと回復する。

人間活動は湿地生態系に酸化した窒素・イオウ化合物を添加する。来る 50 年間で、イオウの発生量は2倍に増大すると考えられ (Rodhe, 1990), 人工的な窒素固定も劇的に増加するだろう。そのために、メタン生成菌は脱窒細菌や硫酸還元菌と底質をめぐる競争しなければならず、メタン生成が抑制される可能性がある。硫酸に富む海洋堆積物中ではメタン生成が抑制されることは良く知られており、水田での硫酸の添加はメタン生成と発生を抑える。また、酸性雨中に含まれる硫酸もメタン生成を抑制しうる (Dise and Verry, 2001). Gauci et al. (2002) は 1990 年の硫酸効果のレベルで、北方湿地でのメタン発生が 5-17%低下したと示唆した。窒素肥料のメタン発生に対する効果は様々であり、植物・メタン生成菌・メタン栄養菌の応答に依存している。いくつかの研究は窒素肥料が全体的にメタン発生を増加させていることを示した (Banik et al., 1996; Lindsay et al., 1991).

気候と栄養塩有用度の地球的变化は、温室効果ガスである CO_2 , CH_4 , N_2O のソースとシンクのバランスを変化させる。大気二酸化炭素の増加と地下面の低下が草本群集を森林に変えれば、バイオマスにおける炭素貯蔵量を増加させる。ただし、一次生産量の増加が底質供給を増加させメタン発生量を増加させるかもしれない。地下水面の低下はメタン発生量を低下させるが、 N_2O 発生量を増加させるかもしれない (Martikainen et al., 1995). 現時点では、気候変動と湿地での代謝の間で起るフィードバックが熱放射量を上げるか下げるかを確定できない。この問題を解決するためには、現在の CO_2 , CH_4 , N_2O フラックスの変化を検討する必要がある。

2.7. 窒素代謝

全ての嫌氣的代謝は直接的／間接的に酸素の影響を受けるが、この事は特に窒素代謝にあてはまる。嫌氣的に窒素を用いる多くの生物は好氣的条件で最もよく働くが、酸素に欠乏に対応するために嫌氣的代謝を行う。この生理的な融通性は酸素の代わりに窒素酸化物を電子受容体として用いてもエネルギーロスがほとんどない (表 1) という事実に加え、窒素に基づく嫌氣的代謝が普遍的であるという理由でもある。脱窒は地球中の最も乾燥した条件でも起こる (Peterjohn, 1991). 窒素に基づく嫌氣的代謝の研究は主に脱窒を扱ってきた。しかし、最近の研究は、別の経路が硝酸の消費と窒素の生産に予想以上に重大であることを示している (Zehr and Ward, 2002).

陸上/海洋環境における窒素の有用性は生産性を制限するので、微生物による窒素の転移は生態系の構造と機能に重大な影響を及ぼす。大気は巨大な窒素レザーバーであるので窒素による生産性の制限は奇妙に思えるが、 N_2 の形の窒素を用いる真核生物は存在しない。植物は NO_3^- （硝酸）、 NH_4^+ （アンモニウムイオン）、有機窒素の形の窒素を用い、岩石を食べる巻貝以外の動物は、植物に固定された窒素を利用する。これらの窒素化合物は、一重・二重結合のみを持ち、三重結合を持つ N_2 に比べて、より小さいエネルギーで分解でき、「フィックスされた」あるいは「生物有用」な窒素と呼ばれる。原核生物は N_2 を結合された窒素に変える能力（窒素固定）を持ち、その他の重要な窒素転移反応のほぼ全てに関与出来る（図8）。

窒素制限が起こりやすい別の理由は、原核生物はその優勢な嫌氣的代謝として、生物有用窒素を N_2 へと変化させること（脱窒）が挙げられる。長期的に見て、脱窒は窒素固定とバランスを保っており、生物有用窒素の汎世界的なマスは大気の窒素レザーバーに比べると無視できる。脱窒は亜酸化窒素(N_2O)や一酸化窒素(NO)のソースでもある。 N_2O は二酸化炭素よりも300倍も強い温室効果ガスであり、1750年以降の放射量増加の約6%に貢献している。その大気中での滞留時間は長いために、亜酸化窒素が成層圏に混入するとオゾン破壊を引き起こす。 NO は光化学スモッグの原因物質であり、人体にとって有害な対流圏でのオゾン生産を引き起こす。過去数十年にわたり肥料と石油合成により、 N_2O と NO の放出量は増加してきた。

人間活動は窒素固定の速度をほぼ倍増させ、微生物による窒素変換を強めた。野菜の栽培による窒素固定バクテリアの代謝強化に加えて予期しない効果も起きている。水・空気・堆積物を通じた窒素輸送は生態系での生産性を高めている。例えば、ミシシッピー川からの窒素の流出はメキシコ湾での嫌氣的堆積物の拡大と関係している。また、脱窒はフィックスされた窒素の除去にとって効果的な方法であり、污水处理に広く用いられている。表4に様々な窒素代謝をまとめた。

2.7.1. 窒素固定

ニトロゲナーゼという酵素は酸素により強く干渉されるという意味において、全ての生物的窒素固定は嫌氣的である。そこで、多くの好氣的シアノバクテロフ（窒素固定する微生物）は異方細胞(heterocysts; 図9)の様な特別な構造で窒素固定の場を酸素フリーにしている。その様な構造が無いと、窒素固定の強度は酸素濃度により変化し、酸素発生型光合成が起らない夜に最大になる。

二窒素固定はエネルギー的に高価な反応であ

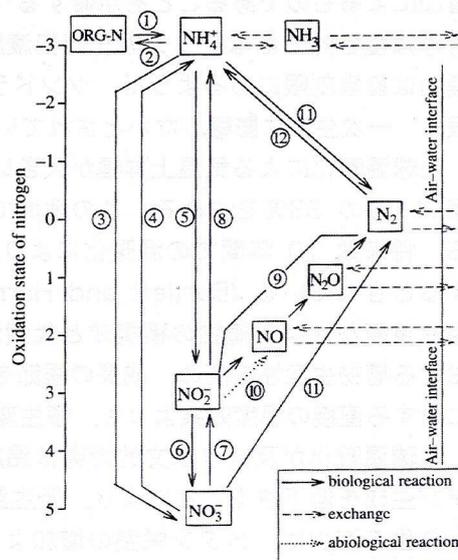


図8. 窒素の主要酸化還元反応. 1) 分解 (mineralization), 2) アンモニア固定, 3) 硝化, 4) 固定/非固定硝酸還元, 5) アンモニウム酸化, 6) 亜硝酸酸化, 7) 固定/非固定硝酸還元, 8) 固定/非固定亜硝酸還元, 9) 脱窒, 10) 化学的脱窒, 11) 嫌氣的アンモニウム酸化, 12) 窒素固定.

表4. 様々な窒素代謝

脱窒 (窒素呼吸-有機物酸化とカップリング)
1. $NO_3^- + 6H^+ + 5e^- \rightarrow N_2 + 3H_2O$
2. $NO_3^- + H_2 \rightarrow NO_2^- + H_2O$
3. $NO_2^- + 4H^+ + 3e^- \rightarrow N_2 + 2H_2O$
自家脱窒 (金属酸化とカップリング)
4. $10Fe^{2+} + 2NO_3^- + 14H_2O \rightarrow 10FeOOH + N_2 + 18H^+$
硝化 (還元的窒素化学種の酸化)
1. $NH_4^+ + 3/2O_2 \rightarrow NO_2^- + 2H_2O$
2. $NO_2^- + 1/2O_2 \rightarrow NO_3^-$
非固定のアンモニアへの還元 (DNRA)
$NO_2^- + 3H_2 + 2H^+ \rightarrow NH_4^+ + 2H_2O$

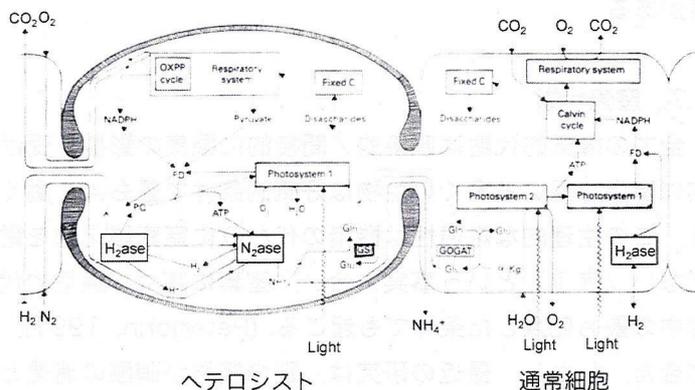


図9. シアノバクテリアが持つヘテロシスト (異方細胞) 中の窒素固定経路. 酵素活性を保つために、酸素を消費する。

り、より小さなエネルギーで固定されるアンモニウムイオンのレベルにより抑制される。このプロセスが要求する高いエネルギーのために、多くのジアゾトロフはそれ自身が光合成をするか、植物に共生している。ただし、ジアゾトロフはこれらのグループに限定される訳ではなく、従属栄養・化学自家栄養微生物にも見られ、好氣的・嫌氣的のどちらにも存在する。

ジアゾトロフとメタン生成の間の関連性が近年 Hoehler et al. (2001) により提案された。彼らはシアノバクテリアが海岸の泥平地において水素生産のホットスポットになっていることを見だし、それがニトロゲナーゼ酵素システムの側反応によると考えた。いくつかのケースではマットの下で蓄積する水素レベルはメタン生成をサポートするのに十分であった。さらに重要な事は、嫌氣的代謝により生産された水素は宇宙に放出されれば、酸化剤の蓄積を引きおこし、初期の地球を酸化した可能性があることである。

2.7.2. 呼吸的脱窒

脱窒（反硝化：denitrification）という言葉は、窒素酸化物（ NO_3^- ; NO_2^- ）を還元窒素ガス（ N_2O , N_2 ）へと変化させる全てのプロセスに対して用いられる。微生物代謝の観点から言うと、この言葉は特異な呼吸経路に対して用いられる。脱窒は窒素に基づく嫌氣的呼吸の最も一般的な形であり、細胞外に存在する窒素酸化物を還元するリン酸化電子輸送とカップリングしてエネルギーが生み出される。窒素は細胞に固定されないため、この反応は dissimilatory（非固定的）である。脱窒呼吸は鉄酸化・硫酸還元・メタン生成よりもエネルギー的に優れており、 NO_3^- , NO_2^- が豊富な条件では優勢な嫌氣的炭素代謝になっている。多くの微生物は成長のためのエネルギーを得ることなく窒素酸化物を還元し、そのプロセスは非呼吸的である。非呼吸的な窒素酸化物の還元は assimilatory である場合もあり、dissimilatory であることもある。非固定的な NO_3^- から NH_4^+ への還元は大部分の生態系において重要な NO_3^- シンクになりうる。

脱窒細菌は好氣的生物であり、酸素がほとんど無い場合、電子受容体として分子酸素の代わりに NO_3^- を用いる。好氣呼吸は NO_3^- に比べてより多くの自由エネルギーを生み出し、代謝的により好ましいので、酸素は脱窒酵素を抑制する。いくつかの生物は大気の 80% 程度の酸素濃度で脱窒を行うが、このプロセスは嫌氣的条件かつ NO_3^- の供給下で最も急速に進行する。脱窒菌が嫌氣的呼吸に切り替える酸素濃度は $10\mu\text{mol/L}$ である。脱窒活動は新たな酵素の合成や細胞の成長無しに好氣的土壌での生き残りを可能にする。

脱窒細菌は有機炭素・無機物・光の3つのエネルギーソースを用いることができる。脱窒細菌の優勢なグループは *Pseudomonas* や *Alcaligenes* の様な有機物栄養である。他のグループは発酵したり、 H_2 , イオウ, アンモニウムをエネルギーソースとして用いる。*Rhizobium* 属の様な細菌は植物と関連して窒素を固定するが、これらの系統が NO_3^- を唯一の電子受容体としてもちいるかは不明である。*Nitrosomonas europaea* の様に、多くの脱窒細菌は化学岩石栄養である。

最も一般的には、脱窒細菌は有機炭素を電子ドナーとして、 NO_3^- もしくは NO_2^- を電子受容体として用いる。電子受容体として作られた多様な中間的生成物は段階的に N_2 へと還元される。これらには亜硝酸イオン（ NO_2^- ）、ガス相である一酸化窒素（ NO ）、亜酸化窒素（ N_2O ）が含まれる。これらの成分は電子受容体としてふるまい、最終生成物である N_2 へと変化する。また、*Nitrosomonas eutrophica* が二酸化窒素ガス（ NO_2 ）を電子受容体として用い、 N_2 を生産することが報告されている。

呼吸的脱窒は多くの生理的分類的グループに認められ、嫌氣的代謝の中で最も融通が利く形である。脱窒菌を含まない原核生物のグループは *Enterobacteriaceae* のみであるが、興味深い事に、このグループはアンモニウムへの非固定的還元を行い、 NO_3^- をめぐって脱窒と競争する。いくつかの例外はあるが、脱窒はグラム陽性細菌や厳格な嫌氣的細菌には認められない。

Fusarium oxysporum やいくつかの菌類は NO_3^- や NO_2^- を N_2O へと変える能力を持つ。これらの脱窒酵素システムは ATP を生産するミトコンドリアの電子輸送鎖と連結している。これらは完全な嫌氣的条件では成長できず、少量の酸素を必要とする。Zhou et al. (2002) は *F. oxysporum* が酸素の有用度に応じて3つ

の異なるタイプの代謝を行うことを示した。酸素に富む時には好氣的呼吸が優勢になり、嫌氣的条件での発酵の間には NO_3^- は NH_4^+ に還元される。

脱窒を制御する要因として、酸素・硝酸・有機炭素・基質の性質が挙げられる。いくつかの要因は基質プールに直接影響し、他の要因は基質の変化に影響する。要因を個別に検討するのは便利だが、現地での脱窒速度を予測するためには、その複雑な相互作用を考慮しなければならない。

例えば、分子酸素 (O_2) は脱窒細菌により生理学的に好まれる電子受容体であり、その存在は脱窒酵素の合成と活性を低下させる。いくつかの生物は酸素の存在下で脱窒を行えるが、それは嫌氣的・好氣的条件が共存できる場所で起る。水の存在は酸素の拡散速度を空気中に比べて1万分の1に低下させるので、脱窒にとってほぼ必要条件であると言える。高地土壌では、空隙に気体が多いので、深さ1mでの酸素濃度は21%までしか低下しない。水は空隙をブロックすることで酸素の供給を制限する。土壌水の含有量が増加すると、孔隙がブロックされ、大気との経路は完全に塞がれる。例えば、温帯での森林土壌での脱窒酵素の活性は、湿った年に高い (Bohlen et al., 2001)。

2.7.3. 硝化と脱窒のカップリング

微生物の代謝や人間活動は硝酸の重要なソースである。硝酸は化学自家栄養による硝化の副産物であり、特殊な細菌グループによる2つのシリーズの非固定酸化反応で生じる。最初のステップでは、*Nitrosomonas europaea* もしくは *Nitrosococcus* や *Nitrospira* を含む *Nitroso*-属による NH_4^+ の NO_2^- への酸化である。pHが8以下の条件では、アンモニアプール ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) の95%以上が NH_4^+ であるが、これらの属は NH_3 を酵素のレベルで用いるのでアンモニア酸化細菌としても知られる。第二のステップでは、*Nitrobacter* や *Nitrospira* の様な亜硝酸酸化細菌が NO_2^- を NO_3^- へ酸化する。アンモニウムイオンは他の代謝に特殊化した細菌により酸化されることもある。最も重要なのはメタン栄養細菌であり、水田での NO_4^+ 酸化の44-85%に貢献している (Bodelier and Frenzel, 1999)。加えて、メタン栄養細菌は一般的な硝化生成物である NO を生成・消費する。 NH_4^+ や有機窒素の亜硝酸・硝酸への酸化は菌類にも認められることがあるが、大部分の生態系において、バクテリアが硝酸の優勢なソースであると考えられている。

硝化作用は好氣的 (+微好氣的) 条件で、脱窒は嫌氣的条件で起るので、2つのプロセスは空間的に分離される。ただし、2つのプロセスのサイトが非常に隣接している場合、 NO_3^- の輸送と消費は急速に起り、硝化と脱窒がカップリングする。Seitzinger (1988) のレビューは河川・湖・海岸環境で硝化が脱窒のための NO_3^- ソースになっていると結論付けた。同様のことが非耕作地での土壌にもあてはまる。

NO_3^- が流入水・肥料・酸性雨などの外部ソースからもたらされる場合、硝化は脱窒とカップリングしない。肥料は地下水への NO_3^- ソースとなり、それは潮間帯湿地やエスチュアリーにもたらされる。地表を流れる水は NO_3^- を河川・湖・エスチュアリー・海洋へと供給する。 NO_3^- の供給量が大きいと、脱窒速度は水中の NO_3^- 濃度に比例する。

堆積物への酸素の注入が強まると硝酸の有用度が増加し、硝化—脱窒のカップリングが強調されるが、同時に嫌氣的レイヤーへの NO_3^- の拡散距離が長くなるため、水柱中の硝酸による脱窒が阻害される。エスチュアリー堆積物では、光合成により生じた酸素の注入が硝化—脱窒カップリング速度を2倍にするが、水柱中の硝酸による脱窒量が半分になる (Risgaard-Petersen et al., 1994)。硝化—脱窒カップリングによる脱窒が総脱窒量に占める割合が小さい (約16%) ので、酸素注入による全体的効果は脱窒を縮小する。ただし、 NO_3^- ソースとして堆積物が優勢な北海では、酸素注入が脱窒を増加させている (Lohse et al., 1993)。

古典的な硝化—脱窒カップリングはアンモニウムイオン・有機炭素・好氣的条件・嫌氣的条件を必要とする。それは3つの明瞭な微生物群集を包有しており、いくつかは従属栄養的、他の物は自家栄養的である。その結果、プロセスの制御は複雑であり、異なる窒素化合物の相対的な比率は環境と生態的条件により大きく変化する。

いくつかの要因が NO_3^- から N_2 への還元を不完全にし、 NO や N_2O のプールを作る。硝化や脱窒の酵素は硫化水素と酸素により抑制される。脱窒酵素の酸素抑制の感度は窒素基質の酸化状態に反比例しており (図 8)、硝酸還元酵素 < 亜硝酸還元酵素 < NO 還元酵素 < N_2O 還元酵素の順である。有機物量に対して硝酸が過剰である際、様々なステップでの速度論的な不釣り合いが生じているときに、プールが生じる。鍵となる酵素を持たない生物も NO や N_2O を放出する。

2.7.4. アンモニウムへの非固定の硝酸還元 (DNRA)

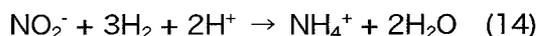
硝酸還元についての多くの研究は硝酸を他のシンクへと消費するアンモニウムへの非固定の硝酸還元 (DNRA or nitrate ammonification) について行われてきた。 NO_3^- を NH_4^+ へ還元するか、 N_2 へ還元するかは生態的に大きく異なる。 NH_4^+ は生態系に残りやすく、生物により固定されるからである。すなわち、DNRA は本来 N_2 として大気へと散逸される窒素を還元し、富栄養状態を作っている。

NO_3^- が NH_4^+ へ還元される経路は 2 つある。固定硝酸還元で微生物や植物により取り込まれた硝酸の窒素が、 NH_4^+ へと還元され、アミノ酸のような有機窒素化合物に固定される。このプロセスは低い NH_4^+ や有機窒素濃度 ($0.1 \mu\text{L L}^{-1}$) で抑制され、酸素により制御されない。これらの条件は DNRA に対しては逆に働く。微生物による固定硝酸還元は NH_4^+ による抑制のため無視できるとされている。

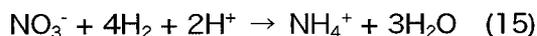
DNRA は NH_4^+ 濃度に影響されないエネルギー生産の嫌氣的経路である。このプロセスの第一段階は硝酸呼吸と呼ばれ、ATP を生産するリン酸化へと電子を輸送する。



硝酸呼吸は微生物に広く認められ、いくつかは NO_2^- を NH_4^+ へと還元する。



第二のステップは多くの種でエネルギーを産み出さない。例外は *Campylobacter*, *Deulfovibro*, *Wolinella* であるが、天然環境では豊富ではない。DNRA 反応全体では、硝酸 1 モルに対して 8 個の電子を輸送し、600kJ のエネルギーを発生する (Tiedje, 1994)。



第二段階で亜硝酸還元で生じたアンモニウムイオンは植物により搾取され、微生物により固定されたり陽イオン交換サイトとして利用される。あるいは亜硝酸は蓄積するか脱窒により消費される。エネルギー発生を伴わない第二段階は他の生理的もしくは生態的利点を持つようである。おそらく、最もありそうなのは NADH_2 から NADH を作る際の電子シンクとして働くことである。

DNRA 細菌は好氣的、選択性嫌氣的、絶対嫌氣的グループのいずれにも認められ、大部分は発酵細菌である脱窒細菌とは異なっている。DNRA 細菌は DNRA 活性が低い好氣的土壌などの環境に豊富に居る。これは、DNRA 細菌が他の発酵細菌や好気細菌と炭素基質をめぐる競争できることを示唆する。DNRA 細菌は脱窒細菌に比べて、その多様度や生理が理解されていない。ただし、いくつかの環境では脱窒細菌よりも大きな硝酸シンクになる。

DNRA と脱窒は同時に起り、炭素と硝酸をめぐる競争すると思われる。Tiedie et al. (1982) は硝酸が N_2 あるいは NH_4^+ へと代謝される比率は、炭素/硝酸比の関数であると提案した。彼らの考えによると、炭素の様な電子ドナーに富み、硝酸の様な電子受容体が限られた環境では、電子受容体を効果的に用いる生物が有利である。DNRA 細菌は硝酸 1 モルに対して電子を 8 個輸送するのに対し、脱窒細菌は 5 個であるので、このケースでは、DNRA 細菌が有利である。亜硝酸呼吸だけであれば電子を 2 個しか輸送しない。従って、炭素が限られた環境では、脱窒は DNRA 細菌を排除する。いくつかの研究が、ラビーレ炭素が豊富で、硝酸が限られているケースで、DNRA が脱窒を排除するとしている。ただし、これら 2 つのグループの間で起る競争は適切に研究されておらず、他の要因が関係する例外もある。

DNRA の活性は還元的な条件でのみ重要であると考えられてきた ($E_h = -200\text{mV}$; Buresh and Patrick,

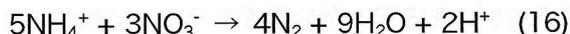
1981). しかし、比較的酸化条件でも DNRA が重要であることを示す証拠も多い。土壤酸素濃度が 15% に達する熱帯降雨森での硝酸還元約 75% が DNRA によるものである。DNRA は甲殻類 *Corophium volutator* の掘穴活動により促進されると考えられている。Fazzolari et al. (1998) は DNRA 細菌が硝化細菌よりも酸素に耐性を持つと示唆した。明らかに還元的環境は DNRA にとっての必要条件ではない。

「緑錆」や Cu(II) の様な微量元素の存在下での生物反応と同じ様な速度で進行する非生物的反応を DNRA は持つ。「緑錆」は酸性でない Fe(II) に富む土壤や堆積物中で出来る Fe(II)-Fe(III) 沈殿物である。同様の反応は生命の無い時期の地球で NH₄⁺ の生成に貢献したと考えられている (Summers and Chang, 1993)。従来、DNRA は淡水環境では起りにくいと考えられていたが (Tiedje, 1988)、最近の証拠は、このプロセスが重要であり、幅広い淡水環境での硝酸シンクになっていることを示す。DNRA の活性と炭素/硝酸比、酸素、温度との相関は、DNRA 活性が重要である条件を考察するための基礎になっている。

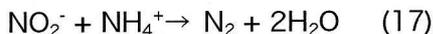
2.7.5. 窒素を生産するもう一つの経路

近年、古典的な酵素システムに含まれない脱窒のためのもう一つの経路について、その存在と詳細が確認されてきた。酸素が存在していると、多くの元素と化合物 (Mn(II), MnO₂, NO₃⁻, NO₂⁻, NO₂) が NH₄⁺ を酸化できるようになる。嫌気的な NH₄⁺ の N₂ への酸化、硝化と脱窒のカップリングのための複雑な酸化ステップを経由するので (図 8)、その反応を支配する基質や環境は、古典的な反応シーケンスを支配する条件とは異なっていると思われる。脱窒全体に対するこれらのプロセスの貢献度については良く理解されていないが、天然生態系や排水処理プロセスでは量的に重要であると思われる。

亜硝酸還元とリンクしたアンモニウムの酸化は最初に排水処理システムで認識され、嫌気的アンモニウム酸化の略語である**アナモックス**と名付けられた (図 10; Mulder et al., 1995)。この発見は、嫌気的条件下で、NO₃⁻ と NH₄⁺ が同時に消費され、それが N₂ 生産量とつりあっているという観察結果によるものである。NH₄⁺ の酸化と NO₃⁻ あるいは NO₂⁻ の還元をカップリングする生物は約 20 年間も熱力学的に予想されていた (Broda, 1977)。アナモックス反応は最初は NO₃⁻ と関連すると提案された (Mulder et al., 1995)。



しかし、提案とほぼ同時にアナモックスでは NO₂⁻ が酸化剤であると決定された (Van de Graaf et al., 1995)。



反応 16 と 17 は ¹⁵NH₄⁺ を利用して識別された。アナモックスでは二酸化炭素固定の還元的等価物を供給すると考えられている少量の NO₃⁻ も生産される。

嫌気的アンモニウム酸化を担う微生物を分離するのは極めて困難で、純粋培養は成功していない。ただし、アナモックス反応が進行している排水処理環境では 2 つの微生物が優勢で有り、その生理は記載されている (Strous et al., 1995)。2 つの微生物は *Candidatus Brocadia anammoxidans* と *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* であり、真正細菌の大きなグループである Planctomycetelas 目のメンバーと深い部分で分岐している。このメンバーは真核生物と似た細胞内部のコンパートメントを持つなど異常な特徴を持っている (Linday et al., 2001)。Planctomycetelas 目のアンモニウムを酸化するメンバーは、長い脂質から構成されるアナモックゾームというコンパートメントを持つ。アナモックゾームの脂質膜は不透性であり、アナ

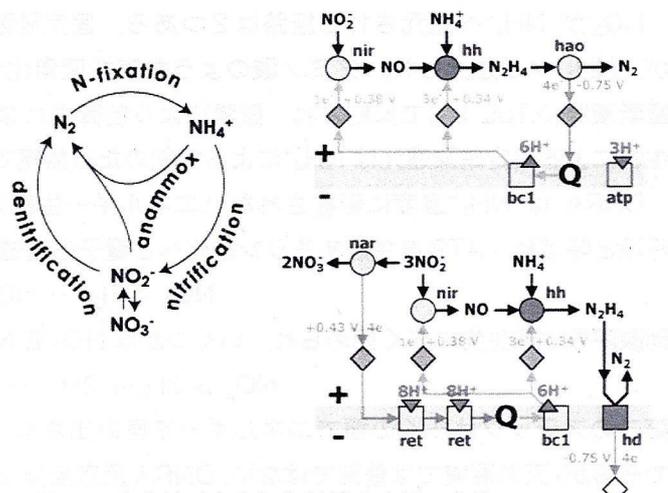


図 10. 窒素サイクルにおけるアナモックス (Anaerobic ammonia oxidation) (左) と、反応経路 (右上: 一酸化窒素とヒドラジンが中間生成物になる) および逆電子輸送 (右下: アセチル CoA 経路で炭素が固定される)。

モックスを阻害する毒物中間生成物から細胞を保護する役割を持つと思われる。毒物中間生成物は、ロケットの燃料でもあるヒドラジン (N₂H₄)、とヒドロザミン (NH₂OH) を含む。これらの生物は化学合成自家栄養であり、成長は遅く、最も良い条件でも9日に1回しか分裂しない。アナモックスゾームの不透過性膜は電気的な勾配を保持する役割を持っているのかもしれない。アナモックス細菌は 2μM 程度の低い酸素により阻害される。

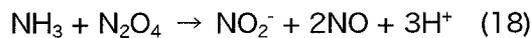
アナモックスが窒素サイクル全体に及ぼす貢献度を定量した研究は少なく、そのほとんどが排水浄化系で行われたものである。例外的に、バルト海—北海の天然システムでの研究は、総 N₂ 生産のうち最大 67% が嫌氣的なアンモニウム酸化によることを示す。さらに、¹⁵NH₄⁺ と ¹⁵NO₃⁻ の消費が 1 : 1 であり、ほぼ 100% の窒素が ²⁹N₂ であることは、それがアナモックスの様な過程で起っていることを示唆する。

2.7.6. 硝化的な脱窒

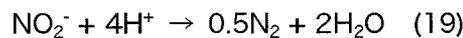
アンモニウムを酸化する細菌は亜硝酸の重要なソースであり、亜硝酸は他の細菌により最終的に硝酸にされる (Henriksen and Kemp, 1988)。ただし、アンモニウム酸化細菌の代謝的な融通性を認識し、それらのイオウサイクルに及ぼす役割を考慮することは重要である。いくつかの硝化細菌は O₂ や NO₂ を酸化剤として用いて NH₄⁺ から N₂ を作る。このプロセスは「硝化的脱窒」(Nitrifier denitrification) と呼ばれ、従属栄養的脱窒細菌と類似した酵素システムを持つ自家栄養アンモニウム酸化細菌によるものである。

実際、脱窒するアンモニウムさんか細菌と脱窒細菌の間には進化的なつながりがあり、亜硝酸還元遺伝子シークエンスには大きな遺伝子的類似性が認められている。硝化的脱窒では、典型的な硝化と同様に、アンモニアは亜硝酸へと酸化され、その後、NO、N₂O、N₂ へと還元される (図 11)。すなわち、*Nitrosomanas europaea* や *N. eutropha* の様な単一の生物の中で、アンモニウム酸化と硝化がカップリングされているのである。

Nitrosomonas で記載され、最近認識された代謝経路は、酸素が 2 酸化窒素 (NO₂) やその 2 倍型である N₂O₄ へ置換された場所での嫌氣的アンモニア酸化である。



この経路は表面的には hydrozylamine が仲介し、亜硝酸を生産する好氣的アンモニア酸化と類似し、亜硝酸の一部はさらに N₂ へと還元される。



Schmidt and Bock (1997) は嫌氣的状況での硝化的脱窒が成長をサポートする事を示した。

嫌氣的な硝化的脱窒の経路では最終生成物となる NO は、好氣的プロセスでは中間生成物である。加えて、*N. eutropha* による N₂O に依存したアンモニア酸化は、アンモニウムモノオキシゲナーゼという好氣的な硝化的脱窒の酵素を必要としない。アンモニアが無い環境では、*N. eutropha* は H₂ や単純な有機分子を電子ドナーとして用いることが出来る。完全に嫌氣的なアナモックス過程とは違って、N₂O 依存のアンモニア酸化と N₂ 生産は好氣的な条件での進行する。ただし、Shrestha et al. (2002) は *N. eutropha* による N₂ 生産は低い酸素濃度でのみ観察されるとしている。

これらの代謝的融通性を持つアンモニア酸化細菌が実際に N₂O や N₂ 生産にどれだけ貢献しているかについては少数の研究がある。Webster and Hopkins (1996) は硝化的脱窒が乾燥土壌では 29%、湿潤土壌では 3% の N₂O 生産に貢献していることを示した。Wrage et al. (2001) は硝化的脱窒は炭素や窒素の含有量が低い環境で最も貢献度が高くなると考察している。嫌氣的な土壌や堆積物では、低い NO₂ の有用度が硝化的脱窒の貢献度を制限している。

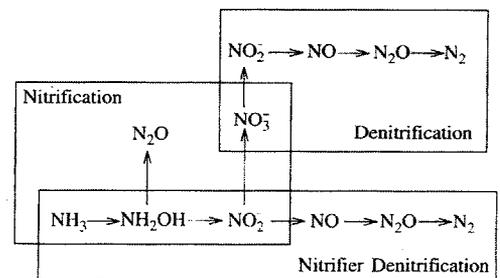
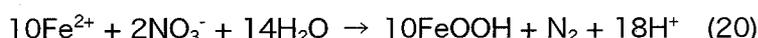


図 11. 3つの無機的窒素酸化還元経路の関係。Nitrification = 硝化, Denitrification = 脱窒, Nitrifier denitrification = 亜硝酸脱窒。

自家栄養細菌は有機炭素の添加無しに脱窒を行うので排水浄化において興味の対象になっている。これらの人工的システムでの微生物の生態は、天然システムよりも良く理解されている。アナモックス細菌の *B. anammoxidans* と硝化細菌の *N. eutropha* は実験室のスケールで共存する。実際、*N. eutropha* の嫌氣的アンモニア酸化の能力は共培養により 10 倍に高められる。2つのグループは、同時に N_2 を生産するというよりも、亜硝酸酸化細菌を経由した硝化と脱窒のカップリングを行っているようである。アナモックス過程を促進する排水系は好氣的・嫌氣的アンモニア酸化細菌を含んでいるが、*Nitrobacter* の様な亜硝酸細菌を含んでいない。これは亜硝酸細菌が酸素をめぐるアンモニア細菌と競争できないか、嫌氣的アンモニウム酸化細菌が亜硝酸をめぐるアンモニア酸化細菌と競争できないことを示す。海洋堆積物中でのアナモックス様代謝の発見は天然生態系でのこれらのグループの相互作用に関する疑問である。

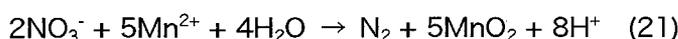
2.7.7. 非生物的脱窒と自家栄養的脱窒

脱窒は有機炭素以外の電子ドナーである $Fe(II)$, $Mn(II)$, H_2S によりサポートされることもあり、そのプロセスは非生物的、生物的のいずれの経路でも進行する。 $Fe(II)$ の酸化とカップリングした硝酸の N_2 への非生物的な還元は $pH = 2-7$ の条件で遅い速度で起る (Postma, 1990),

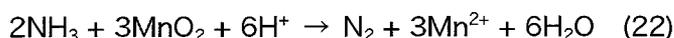


この反応は温度に対して非常に敏感であり、新鮮な $Fe(III)$ 酸化物や Cu^{2+} により触媒される (Buresh and Moragham, 1976; Postma, 1990)。非生物的反応に対して、硝酸とカップリングした化学自家栄養脱窒は、低温・中性 pH でも急速に進行する (Weber et al., 2001)。

固定した窒素とマンガンの中で起る非生物的反応から N_2 を作る2つの経路が提案されており、両方とも典型的な海洋堆積物空隙水中で熱力学的に起りうる。 Mn^{2+} による硝酸の還元作用は、



Mn^{2+} は O_2 と急速に反応するので、反応 21 はマンガンを富む堆積物の嫌氣的帯に限定される。この反応は $Fe(II)$ に関連した微生物的反応 (反応 26) と似ているが、微生物的に進行することを示す証拠がない。Luther et al. (1997) はアンモニウムイオンから硝酸が出来る反応が Mn^{2+} から急速に MnO_2 が出来る嫌氣的環境で起りやすいと考えた。



この反応は新鮮な MnO_2 と NH_4^+ を含む嫌氣的な海洋堆積物中で起っていることが示されている。しかし、マンガンを富む堆積物での ^{15}N ラベリングの研究では認定できなかった。この反応は特有な MnO_2 の存在や豊富な NH_4^+ がある条件でのみ起りやすいのかもしれない。

Thiobacillus 属の *T. denitrificans* の様な細菌では H_2S , S^0 , $S_2O_3^{2-}$ とカップリングした自家栄養脱窒が起る。この様な経路による硝酸還元は黄鉄鉱の添加により増加し、ミハエリスーメンセンの速度論に従う。

2.8. 鉄とマンガンの地球化学

鉄とマンガンは地殻の5%を占め、そのうち98%は鉄である (Weaver and Tarney, 1984)。鉄原子は地球上で酸化的 (ferric) な $Fe(III)$ と還元的 (ferrous) な $Fe(II)$ の間でサイクルを作っている。マンガンは $Mn(II)$, $Mn(III)$, $Mn(IV)$ の3つの酸化還元状態で存在する。ここでは、 $Mn(IV)$ は $Mn(IV)$ と $Mn(III)$ を合わせたものを表現する。

酸化的な鉄は $pH 8$ の海水中では 10^{-8} モルしか存在出来ず、酸化的なマンガンは中性 pH ではほとんど溶解しない。乏しい溶解度のため、これらの元素は岩石風化からもたらされ、土壌や堆積物中に保持される。 $Fe(III)$ と $Mn(IV)$ の溶解度は配位子により複雑化した時に大きく増加する (Lovely and Woodward, 1996)。最も溶解しやすい鉄は $Fe(II)$ であるとされるが、有機物による複雑化の影響で、空隙水中の $Fe(III)$ の濃度は $Fe(II)$ の濃度と同じ程度になる (Ratering and Schnell, 2000)。すなわち、鉄のサイクルは有機物キレート生成

と分解により仲介されることになる。

鉄とマンガンの溶解度は還元作用により大きく増加するが、堆積物中での Fe(II)と Mn(IV)の大部分は溶存型ではない (図 12)。2つの金属の溶存型は陽イオン交換サイトに強く吸着する。Fe(II)は単硫化物 (monosulfide; FeS), 黄鉄鉱, シデライトなどの2次的鉱物として沈澱する。エスチュアリーや海洋堆積物では硫化鉱物が優勢であり、酸素の無い中性～弱酸性の環境で安定である。シデライトはアルカリ度が 1mM 以上の条件で沈澱しやすく (King, 1998), 鉄還元やメタン生成が優勢な堆積物中では最も優勢な鉄鉱物である

(Coleman et al., 1993)。これらの鉱物は Fe(III)還元バクテリアにより形成される。Fe(II)と比べると、Mn(II)は通常 pH で酸素の存在下でも安定であり、酸化環境で蓄積しやすい。Mn(III)は MnCO₃として沈澱するが、多くは吸着、溶存、もしくは有機物複合体を作る (Burdige, 1993)。

土壌や堆積物中での 35%の鉄と 75%のマンガンは自由酸化物として存在し、残りは珪酸塩鉱物の微量成分として存在する。鉄酸化物の格子構造は幅広い多様度を持つ。酸化された Fe(III)は急速に赤褐色で非晶質なフェリハイドライト、Fe(OH)₃として沈澱する。フェリハイドライトは非生物的・好気/嫌気的環境での生物的酸化による優勢な生成物である。数週間から数ヶ月の時間で、非結晶質なフェリハイドライトはより安定な鉱物である赤鉄鉱 (α-Fe₂O₃) やゲーサイト (α-FeOOH)へと変化する (Cornell and Schwertmann, 1996)。

フェリハイドライトの表面に生息する鉄還元バクテリアは微粒のマグネサイト (Fe₃O₄) を形成する。近年、*Shewanella oneidensis* が細胞内に鉄鉱物を形成していることが発見された。細胞内の磁鉄鉱は走磁性バクテリアといくつかの高等生物からのみ報告されている。

2.8.1. 鉄とマンガン還元細菌

Fe(III)と Mn(IV)を細胞外で還元する微生物は2つの生理的カテゴリーに分類される。1つは、有機物もしくは H₂を酸化するための電子受容体として金属を用いるグループであり、Fe(III)や Mn(IV)の呼吸を通じてエネルギーを得るもの。2つめのグループは、有機物から獲得した電子の一部 (<5%) を Fe(III)と Mn(IV)の還元のために輸送するものであり、金属は呼吸ではなく電子シンクとして用いられる (Lovely, 1997)。鉄は豊富に存在し、他の元素との結合力が強いので、金属の微生物還元の多くの研究は鉄を扱っている。しかし、金属還元微生物の多くは用いる金属の選択肢を持っており、どの金属も多様な微生物により還元されうると考えられる。

Fe(III)と Mn(IV)還元能力は真正細菌のグループ、特にプロテオバクテリアと一部の超好熱菌に認められる。鉄還元細菌の既知種の多くはδプロテオバクテリアに属し、その中の Geobacteraceae 科の全てが鉄還元細菌であり、良く研究されている *Geobacter metallireducens* を含んでいる。菌属還元能力は古細菌の超好熱菌からも報告されている (Vargas et al., 1998)。嫌気的成長と Fe(III)呼吸をカップリングする 40 以上の系統が特徴付けられている (Coates et al., 2001)。

Fe(III)と Mn(IV)呼吸細菌により用いられるエネルギーソースは水素やアセテートであり、メタン合成や硫酸還元菌のための底質と同じである。メタン合成菌とは違って、いくつかの金属呼吸細菌はラクテート・長鎖脂肪酸・芳香族化合物・アミノ酸・グルコースなどの多炭素化合物を酸化する。これらの化合物は完全に二酸化炭素へと酸化されるか、アセテートへと発酵する。いくつかの発酵生物は少量の Fe(III)を呼吸と無関係

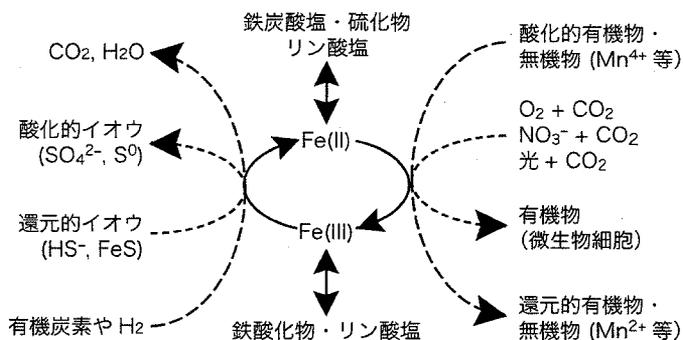


図 12. 鉄酸化/還元に関連した基質とプロセスの概要。鉄還元 (左) はイオン化学種や有機物などの酸化とカップリングし、鉄酸化 (右) は二酸化炭素の還元 (有機物固定) や有機物・無機物の還元とカップリングする。

な電子シンクとして用いる。

Geobacteraceae の4つの属のうち3つと、系統的に明瞭な *Geovibrio* と *Deferribacter* は有機炭素を完全に二酸化炭素へと酸化する。γ-およびε-プロテロバクテリアはより限定された有機酸を酸化する傾向があり、有機物の酸化は不完全である。最も最初に記載された非発酵 Fe(III)還元バクテリアである *Shewanella oneidensis* は条件的嫌気性菌（好気的環境にも生息出来る細菌）である。水素をエネルギーソースとして用いる能力は不完全に酸化する鉄還元菌と好熱的鉄細菌に共通している。これら以外の鉄還元菌の中では、*Geobacter* の数種以外には水素を酸化する細菌がまれである。

大部分の Fe(III)還元細菌は Mn(IV)を還元する能力を持ち、O₂・硝酸・硫酸・元素イオウ・フミン底質のうち少なくとも1つの酸化剤を共用する (Thamdrup, 2000)。フミン物質は、特にイオウが豊富でない淡水環境において、金属還元バクテリアの電子受容体として最も一般的である。*Desulfovibrio desulfuricans* のようないくつかの硫酸還元菌は Fe(III)や U(VI)を還元する。ただし、これらは金属還元のみで成長できない。

Fe(III)と Mn(IV)還元とその他の主要嫌氣的代謝経路の本質的な違いは、酸化物が可溶性の固体であることだ。電子受容体を得るために、微生物は、1) 酸化物表面に物理的に接触するか、2) 仲介分子を還元し、電子を細胞から酸化物表面へと放出するか、3) 溶存もしくはキレート化した金属を持ちいる。これら3つの適用方法は Fe(III)と Mn(IV)呼吸細菌に認められる。金属呼吸は酸化物に直接接触する必要は無いと考えられてきたが、その様な接触は一般的に認められている。その証拠として、*G. sulfurreducens* と *S. oneidensis* の両方の外膜で Fe(III)還元酵素の活量が高くなっている (Beliaev and Saffarini, 1998)。電子間力顕微鏡を用いて、Lower et al. (2001) が *S. oneidensis* の細胞と鉱物表面の吸着力を測定したところ、嫌氣的条件でゲージサイトとの吸着力が増加したことが観察された。外膜内の可動性のある鉄還元酵素が細胞から鉄酸化物の表面へと電子を輸送する証拠が得られている。Grantham et al. (1997) は *S. oneidensis* が鉄酸化物表面に付着し、そこでは Fe(III)の溶解に起因したピットが出来ていることが示されている。同様の適応が他の種についても報告されている。

2.8.2. Fe(III) の還元を制御する要因

鉄呼吸は最近になって注目された嫌氣的代謝なので、それを制御するプロセスを *in situ* で解析した例はほとんどない。むしろ、微生物が Fe(III)を取り入れ、その酸化溶解を行う生理化学的プロセスとの相互作用に関するメカニズムについては理解が進んでいる。

フミン物質は効果的な電子放出分子であり土壌や堆積物中に普遍的に存在する (Stevenson, 1994)。これらの酸化還元に敏感な性質はキノンやそれに関連した芳香族還元剤にある。フミン酸の電子受容体としての能力を研究するためのモデル分子として、quinone 2,6-authraquinone disulphanate (AQDS) が用いられる。全てではないが大部分の Fe(III)還元バクテリアは AQDS もしくはフミン底質の還元によりエネルギーを獲得するようだ。現在までに、Geobacteraceae 科と超好熱菌の系統についてはこの作用が確認されている。

フミン底質を還元する能力が金属還元微生物の利点になる理由がいくつかある。フミン酸やほかの可溶性酸化物は、固体酸化物よりも大きな速度で還元が可能である。フミン酸は普遍的に存在している。ほかの嫌氣的電子受容体と同様に、呼吸を助ける能力はフミン物質を再編成するプロセスで高められる。還元的なフミンやヒドロキノン（還元的なキノン）は Fe(III)や Mn(IV)により急速に酸化され、また微生物の呼吸に利用可能になる。フミン酸分子は比較的小さいので、微生物の細胞よりも効果的に金属酸化物を取り込むことが可能である (Zachara et al., 1998)。さらに、酵素により還元されたフミンは Fe(III)、Mn(IV)、U(VI)に電子を輸送するので、生物は間接的に二次電子受容体を取り込むことができる。微生物と無機的酸化物の間で起る電子放出の能力は、低濃度の AQDS (5 μmol/kg) やフミンがなぜ堆積物中で Fe(III)の還元を高めるのかを説明する。

金属の溶解と溶解度を高める多くのフミン・非フミン有機物が存在する。キレート化した Fe(III)のいくつ

かの形は不溶性 Fe(III)酸化物よりも急速にバクテリアによって還元される (Lovley, 1991). 堆積物にニトリロ 3 酢酸 (NTA) を添加し, 溶存 Fe(III)の濃度は増大し, Fe(III)の酵素的還元が増大する (Lovley and Woodward, 1996). Fe(III)還元は有用な溶存 Fe(III)の増加によるものであり, 微量元素や代謝可能な有機炭素による成長の促進によるものではないだろう. しかし, この効果は鉱物表面での Fe(II)吸着を妨げる, NTA による Fe(II)の複雑化 (キレート化) でも説明出来る. フミン酸と同様に, キレーターが微生物の鉄代謝に重大に影響することを示す証拠はない. 細胞は Fe(III)の獲得のためにキレーターに勝たなければならないので, Fe(III)を配位する化合物の安定性は Fe(III)の還元速度に影響を与える. *S. oneidensis* の研究では, 化合物の安定性は Fe(III)の還元速度と反比例することが示されている (Haas and DiChristina, 2002).

土壌と堆積物の金属酸化物は結晶度が悪いもの・良いもの・珪酸塩にバインドされたものの混合物である. これら広い反応性の違いは天然で観察される金属還元速度を説明するのに十分である. 例えば, 結晶度の低い成分はシュウ酸や弱い塩酸で溶解するが, 結晶度の高い成分は dithionate-citrate-biacarbonate の溶液を用いなければならない. ただし, 鉱物相を限定する溶解テクニックは見つかっていない (Zachara et al., 2002). Fe(III)酸化物の集合体の反応性を認識するために, Postma (1993) は単一の連続的抽出法を提案し, reactivity continuum 法と名付けた.

金属酸化物の還元や溶解しやすさは鉱物種・結晶度・表面積・還元剤とキレート剤の存在・微生物活動に依存している. 初期の微生物培養実験では Fe(III)の還元速度が鉱物種と結晶度に関連していることが示された (Loveley and Phillips, 1986). フェリハイドライトやレピドクロサイト (γ -FeOOH) はゲーサイトや赤鉄鉱よりも急速に還元される. ヴァルナダイトの様な非晶質なマンガン酸化物もより結晶度の高い鉱物種よりも還元されやすい.

反応性における鉱物依存の違いは熱力学的安定性によるものではなく, 非晶質鉱物に見られるように表面積に関係しているようだ (図 13). Kostka et al. (2002a) は Fe(III)還元菌がフェリハイドライトと同様にスメクタイトの表面で良く成長することを示した. スメクタイトは結晶度の良い鉱物であるが, フェリハイドライトと同じくらい表面積が大きい ($\sim 700\text{m}^2/\text{g}$). その結果, Fe(III)還元菌は粘土と結合している鉄の 20-50% を除去するとされている (Kostka et al., 1999a, b).

Fe(III)と Mn(IV)鉱物の反応性は, それらが鉄やマンガンの酸化により沈澱した直後で最も大きい. 金属還元はしばしば電子受容体の存在度により制限されているので, 鉄・マンガンの酸化がおこっている環境では, Fe(III)と Mn(IV)の還元が促進される. 水中での酸素の拡散速度は極めて小さいので, 河川・湖・海洋における酸素の再生はゆっくりと起る. 堆積物中での酸化は水流やバイオターベーションの効果で大きく促進される. 潮間帯での定期的な地下水面の昇降は急速に酸素を供給し, 金属の酸化を促進する. 湿地での植物は根から直接土壌に酸素を注入し, 金属の酸化を促進する. また, 還元的環境においても, 微生物がイオウ・鉄・マンガンの酸化還元サイクルに関連して金属を酸化させる. 湿地土壌ではこれら全てのプロセスが起きているので, 鉄プールの多くの部分が乾燥条件よりも反応しやすい. つまり, 湿地は鉄サイクルのホットスポットなのである.

2.8.3. 非生物的 vs 生物的還元

鉄とマンガンは非酵素的還元を急速に受けるという点で, 酸素・硝酸・硫酸・炭酸水素イオンなどの電子

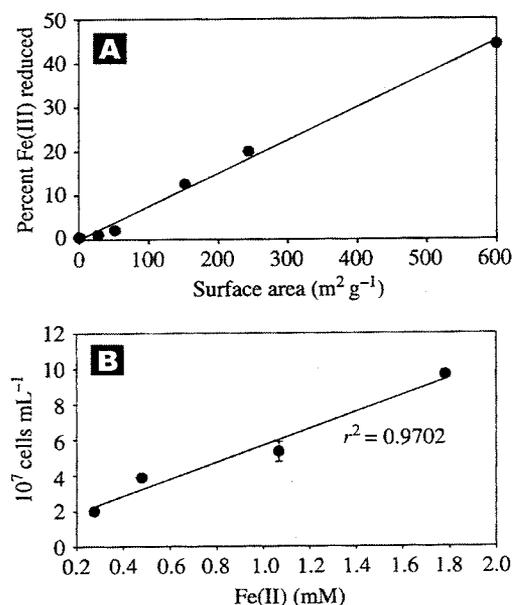


図 13. 鉄還元細菌の活性と酸化物の表面積との関係. A) 鉄鉱物の表面積が大きい (例えば, 鉄水酸化物) ほど還元される鉄の割合が大きくなる. B) *Shewanella oneidensis* の細胞数と還元された鉄濃度の関係.

受容体とは異なる。例えば、Fe(II)はMn(IV)を還元する。



この反応は、Fe(III)還元菌により消費された有機物の一部について、マンガン電子シンクとして利用することを意味し、堆積物からの鉄の除去を抑える。Fe(II)による非酵素的なMn(IV)還元は、Mn(IV)に富む堆積物中で重要であるが、グローバルにはMnはFeに比べて量的に少ないため、重大ではない。

硫酸に富み硫酸還元が優勢な嫌氣的代謝にである場所では、Fe(III)とMn(IV)は硫化物により非酵素的に還元される。しかし、Fe(III)還元菌は土壌や堆積物中に豊富であり、いくつかの研究は、モリブデン酸がH₂Sの生産をブロックしている環境ではFe(II)は連続的に増加すると報告している。

有機化合物は非生物的にFe(III)とMn(IV)を還元する能力を持つ。フェノールやその他の芳香族分子は酸性pHで急速に、中性pHでゆっくりとFe(III)を還元する。フミン酸は土壌と堆積物中に豊富に存在し、中性pHで効果的にFe(III)を還元する。フミン酸とその他の有機分子は金属還元細菌と金属酸化物の間での電子放出者としてふるまうこともあり、電子ソースを微生物的か非微生物的かを区別するのが困難である。さらに、淡水・海水環境では好氣的なFe(III)の光還元が報告されている(Barbeau et al., 2001)が、このプロセスが非酵素的鉄還元の中でどれだけ重要であるかは不明である。

海洋環境におけるFe(III)還元での酵素的/非酵素的経路の比率は測定困難であり、多様であると思われる。非酵素的還元は微生物と競争するの十分急速であるので、硫化物が豊富でFe(III)酸化物に乏しい環境では優勢なプロセスになる。その様な堆積物中では、硫化物のレベルが低く、鉄酸化物の結晶度が低い微環境に限定して生物的還元が起る。しかし、多くの堆積物の空隙水の中で、硫化水素は金属酸化物と反応してしまうために高いレベルに蓄積しない。硫化物イオンに乏しい環境では、酵素的鉄還元が重要になる。化学量論的(stoichiometric)考察もこれを支持する。例えば、1モルの有機炭素が二酸化炭素に酸化される反応は、4モルのFe(III)の還元もしくは、0.5モルのSO₄²⁻のS²⁻への還元をサポートする。SO₄²⁻がH₂Sへ還元されるとすると、H₂Sは1/3モルのFe(III)しか酸化できない(3H₂S + 2FeOOH → 2FeS + S)。このケースでは、酵素的/非酵素的経路の比率は同程度になり、鉄還元は有機物酸化の10%にしか貢献しない。総鉄還元における鉄還元細菌の貢献度を定量する必要があるが、全体的な微生物の代謝から予想すると、鉄還元は微生物の呼吸の結果生じていると考えられる。つまり、Fe(III)が非酵素的にH₂Sにより還元された時には、Fe(III)は硫酸還元バクテリアのための電子受容体を間接的に提供したと言える。

Fe(III)とMn(IV)還元への微生物の貢献度は炭素マスバランスにより見積もられるのが一般的だ。総嫌氣的微生物の呼吸は炭素の分解速度(ΣCO₂ + CH₄)から求められる。硫酸還元細菌とメタン合成菌による呼吸で消費された炭素を合計から差し引くと、Fe(III)とMn(IV)還元細菌の貢献度が導かれる(Canfield et al., 1993b; Thamdrup, 2000)。通常、硝酸の有用度は小さく、脱窒細菌の貢献度は無視できる。また、非メタン発生の発酵は有機物を完全に二酸化炭素へと分解しないと見積もられる。この方法はメタン合成が無視できて硫酸還元が放射性的³⁵Sを用いて評価出来る海洋堆積物について有用である。逆に、有機物の発酵が盛んに起きている塩分の高い湿地では適用が困難である。

酵素的/非酵素的還元を区別するもう1つのやり方はモリブデン酸(MoO₄²⁻)を添加して硫酸還元を抑える方法である。この方法を用いて、淡水/海水環境において酵素的還元が重要であることが示されている。全ての抑制テクニックの様に、モリブデン酸の添加は硫酸還元以外のプロセスにも影響を及ぼす可能性がある。Fe(III)底質に対するH₂Sとの競争が無いので、生物的Fe(III)還元は過大評価されているかもしれない。この様な問題点があるが、モリブデン酸法はほかの地球化学的データと整合的であるので、広く用いられている。

Fe同位体分別を用いて、酵素的/非酵素的還元を区別できる。しかし、この方法はあいまいであることが証明された。鉄還元バクテリア*Shewanella algae*を用いた実験では溶存Fe(II)とフェリハイドライトFe(III)の間に1.3‰の分別を見だし、天然の高いδ⁵⁶Feは生物的であると解釈された(Beard et al., 1999)。残念な事に、より大きい鉄の分別(<3.6‰)が非生物学的メカニズムでも可能である(Anbar et al., 2000)。シデ

ライト (FeCO_3)の酸素同位体比もバクテリアによる鉄還元指標にならなかった。放射性 Fe の添加も識別には使えなかった。

2.8.4. 微生物の鉄とマンガンの酸化

Fe(II)と Mn(II)の酸化は Fe(III)と Mn(IV)還元微生物に対して高品質の底質を提供する。他の電子受容体とは異なり、これらの元素は酸化により速やかに沈澱し、生態系の中で効率的にリサイクルされる。好氣的・嫌氣的条件の両方で、また生物の仲介あるいは自己増殖的 (autocatalytic) に酸化が起こる。嫌氣的条件での Fe(II)の化学的酸化は Mn(IV)・亜硝酸 (Hansen et al., 1994; Weber et al., 2001)との反応で起る。Fe(II)と Mn(II)を酸化して成長する生物はこれらの化学的酸化と競争しなければならない。

Fe(II) 酸化に依存した微生物の成長は、 Fe^{2+} イオンが安定である酸性環境(pH<4)で進行する (Patrick and Henderson, 1981)。一方、自己増殖的酸化が急速に起り、反応生成物がわずかな自由エネルギーしか生み出さない中性環境では生物的 Fe(II)酸化は重要ではないとされてきた (Staub et al., 2001)。しかし、天然生態系での Fe(II)と Fe(III)の形を考慮すると、**中性環境での Fe(II)酸化バクテリアが、酸性細菌よりも、Fe(II)から多くのエネルギーを生み出すことか可能である。** pHが6~7の条件では、Fe(II)は FeCO_3 の形をとり、Fe(III)は不溶性の非晶質水酸化物 [$\text{Fe}(\text{OH})_3$ や FeOOH] になり、溶液から取り除かれる。これらの条件では Fe(II)は O_2 呼吸とカップリングして大量の自由エネルギーを生み出す。

Mn(II)は pH<8の条件で安定なので、微生物が Mn(II)の酸化に関係している事は容易に示される。微生物の酸化は中性淡水環境における Mn(II)の酸化メカニズムとして最も重要である (Ghiorse, 1984; Nealson et al., 1988)。サヤを持つバクテリア *Leptothrix discophora* はおそらく最も良く研究された細菌であり、その Mn(II)酸化は pH・温度・溶存酸素・銅濃度の関数であることが示されている (Zhang et al., 2002)。*Bacillus* sp. strain SG-1 も良く研究されている。全ての既知の Mn(II)酸化は従属栄養であり、chemolithoautotrophy とのリンクは示されていない。

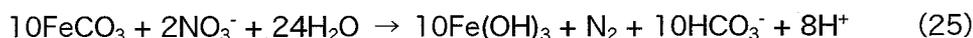
2.8.5. 嫌氣的 Fe(II)酸化

嫌氣的 Fe(II)酸化は最近認識された代謝の1つである。この代謝が最初に報告されたのは Fe(II), CO_2 , 光のみを必要とする嫌氣的光合成生物である (Widdel et al., 1993)。



この発見以降、同様のバクテリアが淡水・海洋環境から発見されている。この代謝の重要な点は、**微生物が縞状鉄鉱層の堆積に関与した**ということである。これらの生物の生理についてはほとんど理解されていないが、大部分の系統は Fe(II)の酸化を硝酸還元結び付けられる。

硝酸還元とカップリングした Fe(II)酸化の発見はさらに最近のことだ (Straub et al., 1996)。



全ての系統は硝酸を N_2 に還元し、これは N_2 を生産する新しい経路でもある。いくつかの系統は Fe(II)と CO_2 だけで培養可能だが、その他の系統はアセートの様な有機物底質を加えなければならない。湖底堆積物中の脱窒細菌の58%は嫌氣的 Fe(II)酸化を行うのに対し、他の水環境での脱窒細菌では嫌氣的 Fe(II)酸化を行うものは0.8%以下である。淡水生物は硝酸還元を、微生物的に還元されたゲーサイトやほかの固相 Fe(II)の酸化とカップリングできる (Weber et al., 2001)。ただし、海洋堆積物からの培養菌は FeS を酸化するが、 FeS_2 は酸化できない。これらの生物の N_2 生産や Fe(II)酸化に対する貢献度は評価されていない。それらの鉄酸化の能力は最終的に硝酸の有用度に制限されている。しかし、多くのこれら生物は条件的嫌氣細菌であり、その従属栄養的成長に際して電子受容体として O_2 を選択できる。電子受容体を O_2 と NO_3^- の間でスイッチする能力は、Fe(II)酸化と N_2 生産をリンクさせる化学自家栄養細菌で一般的である。

2.8.6. 好氣的 Fe(II)酸化

嫌氣的／好氣的環境のインターフェースにおける鉄酸化は以下の式で表わされる。



Fe(II)酸化における、酵素的／非酵素的反応の比率は、pH・酸素濃度・Fe(II)濃度と供給速度の影響を受ける (Neubauer et al., 2002)。PH < 4 の条件では、酸素による鉄酸化速度は極めて低く、微生物活動によって酸化速度は 100 万倍以上に増加する (Singer and Stumm, 1970)。この事は鉱業排水が酸性菌の研究題材として極めて良いことを示し、*Acidithiobacillus ferrooxidans* (従来は *Thiobacillus ferrooxidans* と呼ばれた) や *Leptospirillum ferrooxidans* が研究されてきた (Nordstrom and Southam, 1997)。これらの細菌が排水の pH に及ぼす影響は様々であり、それらの占めるニッチェに依存する。*L. ferrooxidans* は黄鉄鉱鉱床に接触した極めて低い pH (<1.0) にも耐性を持ち、黄鉄鉱の溶解と酸性化を促す一連の反応を誘因している。Thermoplasmatales 目の古細菌はその様なサイトに豊富であり Fe(II)の酸化に貢献しているようである (Edwards et al., 2000b)。これに対して、*A. ferrooxidans* は、黄鉄鉱溶解の影響をほとんど受けてないより酸性度の低い環境に生息する (Schrenk et al., 1998)。実際、*A. ferrooxidans* は Fe(II)や他の金属の還元的液相成分から利益を得ている。

1990 年代までに培養が成功した中性 Fe(II)酸化細菌は、微好気性で螺旋状のスタークを持つ *Gallionella ferruginea* だけだった (Emerson, 2000)。この種は β -プロテロバクテリアのメンバーであり、化学自家栄養もしくは mixotrophic な成長を行う (Hallbeck and Pederson, 1991; Hallbeck et al., 1993)。多くの化学自家栄養的な Fe(II)酸化バクテリアの系統が地下水 (Emerson and Moyer, 1997) や熱水噴出口 (Emerson and Moyer, 2002) から抽出されてきた。これらの系統は単細胞であり、細胞外のスタークを持たない。これらは Xanthomonaceae 科の γ -プロテロバクテリアである。また、最近、淡水湿地から抽出された lithotrophic な Fe(II)酸化細菌 strain TW-2 は β -プロテロバクテリアであると認定された (Sobolev and Roden, 2003)。

中性 pH 条件では、自己増殖的な酸化速度が大きいので、そこで起る Fe(II)酸化は非酵素的プロセスで起ると考えられている。これは、物理的攪拌・バイオターベーション・地下水面の急速な昇降などで酸素レベルが高いときに起きる。しかし、酸化—嫌気インターフェースが安定しており、Fe(II)と O₂ 濃度についての逆方向の勾配が微好氣的帯 ([O₂] < 0.5%) から生じているときには、還元的無機物と O₂ の両方を呼吸のために用いる生物にとって理想的な環境である。低酸素環境での Fe(II)の半減期は高酸素環境のときよりも 300 倍も大きい (Roden et al., 2002)。Fe²⁺の半減期は長いほど微生物的酸化にとって都合が良い。実際、化学自家栄養細菌は中性 pH の培地の中で非酵素的酸化と競争可能である (Emerson and Revsbeck, 1994)。

培養実験では、天然環境で酵素的 Fe(II)酸化を制御する様々な要因 (堆積物・土壌) について検討されている。Neuhauser et al. (2002) は天然環境での O₂ と Fe(II)濃度を用いて、湿地で鉄酸化を行う系統を分離した。彼らは、生物的・非生物的鉄酸化がともに Fe(II)の添加速度と高い相関 (r² = 0.90) で比例することを見いだした (Figure 23)。実験で用いられた Fe(II) の添加速度は淡水湿地の土壌での Fe(II)拡散速度と同程度なので、これらのデータは微生物による Fe(II)酸化は Fe(II)濃度に制御されていることを示す。細胞に蓄積する全鉄量が低いときに、バクテリアは非酵素的酸化と最も良く競争する。この事は競争が粒子のサイズ・組織・鉱物組成のような要因にも関連することを示唆する。これらの要因は Fe(II)を吸着し酸化反応を促す表面の広さや性質に影響する。最後に、状況によっては、Fe(II)酸化バクテリアの存在は Fe(II)の酸化速度を低くする。これは、Fe(II)のキレート化を通じて起る、非酵素的な抑制であり、これは鉄酸化細菌が分泌する EPS やその他の細胞外有機分子によるものである。

酵素的／非酵素的な Fe(II)を分離する有力な方法はない。しかし、いくつかの培養実験では、鉄酸化の 90% がバクテリアによるものであることが示された (Emerson and Revsbeck, 1994; Neubauer et al., 2002)。

Sobolec and Roden, 2001). これらの研究に対して, van Bedegom et al. (2001)が水田で行った研究では, 非酵素的酸化が卓越していると示された.

2.8.7. 鉄のサイクル

Nealson (1983) は微生物代謝を主眼に置いた鉄サイクルについて初めて詳細に記述した. これ以降の研究は, 微生物の鉄サイクルに関して予想された事項が確認され, Fe(III)還元とFe(II)酸化をリンクする「ferrous wheel」が湿地土壌について提案された. 微生物の鉄サイクルはFe(III)還元を通じた有機物酸化を促進し, それはFe(III)還元菌と効果的に競争しない硫酸還元菌やメタン合成菌を排除する. この分野での多くの発展は, 硫化物によるFe(III)の非酵素的還元が比較的重要でない淡水湿地を研究したRodenと同僚によるものである(Roden et al., in press). 彼らは, 嫌氣的なメタン酸化が起っている凝集物中でFe(II)酸化細菌とFe(III)還元細菌が空間的に整理されているというモデルを提唱した(Sobolev and Roden, 2002). 凝集物はFe(III)にコートされた中心部とFe(II)酸化細菌が息する外縁部からなる. 鉄酸化細菌は, 1) 急激なO₂の勾配を作り, 中心部を嫌氣的に保ち, 2) Fe(III)をキレート化する化合物を作り, それを嫌氣的な中心部に拡散させることによりFe(III)還元を促進している. Fe(III)還元細菌により作られたFe(II)生成物は凝集物の周辺へと拡散し, 鉄サイクルを完成している. これらの微生物反応の結果, Fe(III)酸化物を消費することなく有機物が酸化される. このモデルの詳細は実験の証拠により支持されたが(Roden et al., in press), 想像的であると考えられるべきだ. 凝集物中には嫌氣的鉄酸化と脱窒を結び付ける細菌が存在している可能性もある.

Roden et al. (2002) により提案されたモデルよりも, より大きな時間的・空間的スケールで鉄サイクルが働いているかもしれない. 湿地の土壌では, 鉄サイクルは植物の存在に関連したいくつかの要因により促進される. 根は嫌氣的な土壌へ酸素を注入し, 生物的・非生物的鉄酸化を支援し, 結晶度の低い鉄酸化物を沈澱させる. 根の成長と休止の一年のサイクルにより, 湿地の土壌では, 植物の無い堆積物に比較して, 結晶度の低いFe(III)酸化物が豊富になる. 結晶度の低い鉄酸化物とラビーレな有機炭素の含有により, Fe(III)の還元は嫌氣的な時期に促進される. 植物の発達や光合成の活性の変化は, 根からのO₂放出速度の数時間・一日・季節的サイクルを作り出し, 酸素のある時期には結晶度の低いFe(III)酸化物の堆積が, 無い時期にはFe(III)の還元がおこる. 実際, Fe(III)還元細菌とFe(II)酸化細菌は植物根の1cmの範囲で共存する. 穴を掘る動物も植物根と同じ様な動きをし, 地下水面の昇降も急激な酸化的/嫌氣的環境変化の原因になる.

2.9. イオウ

イオウは生化学的・地球化学的に重要な元素であり, 地殻では14番目に豊富であり, 生物の乾燥重量の1%を占め, 構造的・酵素的機能を提供する. 多くの細菌の代謝においてイオウは重要な電子ドナーと受容体になる. 微生物によるイオウの転移は炭素サイクルと密接に関連し, イオウ還元は有機炭素の酸化とカップリングし, 嫌氣的環境の有用なミネラル化経路になっており, 自家栄養的イオウ酸化は好氣的/嫌氣的環境の両方で起る. イオウ化合物はしばしば反応性が高く, 生物的イオウサイクルの酸化的/還元的部分に強くカップリングする(図14). 陸上・淡水環境でもイオウのサイクルは起るが, **硫酸濃度の高い海水環境で顕著である**. 高塩環境や温泉などの小規模なスケールの特殊な環境での生態系も微生物のイオウ転移により生息している(e.g., Ehrlich, 2002). 海洋環境では, 有機炭素の大きな部分(最大80%)が硫酸還元により分解されており, 大量の硫化物が地球化学的/微生物的転移に有用である.

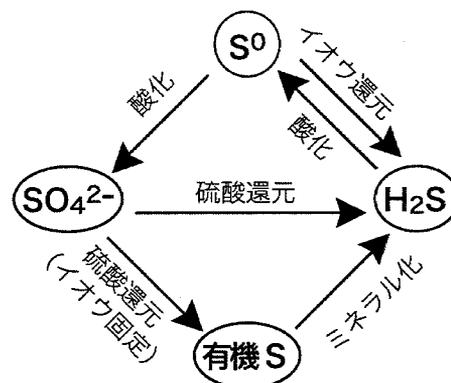


図 14. 4つの主要イオウ化学種の間で起る主な微生物反応.

平均的地殻は260ppmのイオウを金属硫化物, 石膏, 硬石膏, 溶存硫酸の形で含んでいる. イオウの電荷

状態は還元的イオウの-2 から硫酸の+6 まで幅広い。元素イオウやチオ硫酸の様な中間的な電荷を持つイオウは、微生物にとって電子ドナーにも受容体にもなる。硫酸は溶解度が高く、淡水環境では炭酸水素イオンに次いで、海水環境では塩化物イオンに次いで豊富である。硫酸は蒸発岩である石膏 (CaSO₄ · 2H₂O) として存在し、それが溶解すると微生物に硫酸を供給する。硫酸を含む鉱物は硫化鉱物の酸化生成物であり、それらの中にはバライトの様な無水硫酸塩やアルマイト (KAl₃(SO₄)₂(OH)₆) の様な水酸化された硫酸塩が含まれる。元素イオウは熱水生成物や硫化物の風化生成物としてできる。ただし、S⁰ は細菌による硫化物酸化の生成物としても一般的であり、細菌の呼吸のための電子受容体にもなる。

還元的な S(II) は硫化物とよばれ、多くは固体として存在する。溶存硫化物は、中性 pH では重硫化水素イオン (bisulfide ion, HS⁻)、アルカリ性環境では硫化物イオン (S²⁻)、酸性環境では硫化水素 (H₂S) として存在する。H₂S は唯一の揮発性硫化物であり、干潮時の堆積物の腐卵匂の原因である。溶存硫化物は塩基や遷移金属イオンと強力に反応し、不溶性の硫化物金属を作り、最も顕著なのが硫化鉄であり嫌氣的堆積物を黒色にする。沈澱したばかりの硫化鉄は非晶質だが、酸に可溶性磁性鉱物の Mackinawite (tetragonal FeS) や Greigite (cubic Fe₃S₄) へと結晶化する。多くの金属は不溶性の鉱物を作り、PbS, CuS, HgS など採鉱対象の鉱物の多くは熱水交代鉱物だが、生物的に作られた硫化物からも生成する。イオウの添加により可溶性鉄硫化物は2硫化の黄鉄鉱になる。黄鉄鉱は酸に不溶であり、還元的堆積物中でのイオウの最終生成物として、ゆっくりと数年かけて生成する。ただし、鉄単硫化物が未飽和な時には、黄鉄鉱は急速に生成しうる。2硫化物は他の元素を含有し、アルセノパイライト (FeAsS) やモリブデナイト (MoS₂) になることがある。

2.9.1. 硫酸の微生物還元

表5. 主なイオウ代謝

生物的硫酸還元は古いプロセスであり 35 億年前以前に進化した (Shen et al., 2001)。硫酸還元細菌は嫌氣的食物連鎖の末端に位置する嫌氣的細菌であり、二酸化炭素と S(II) を最終生成物として放出する。硫酸還元菌は有機化合物もしくは H₂ を硫酸の

硫酸還元 (不完全分解)	$2 \text{ lactate} + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{acetate} + 2\text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{S}^{2-}$
(完全分解)	$\text{acetate} + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{S}^{2-}$
イオウの不均化 (チオ硫酸)	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + \text{HS}^- + \text{H}^+$
(元素イオウ)	$4\text{S}^0 + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 3\text{HS}^- + 5\text{H}^+$
(亜硫酸)	$4\text{SO}_3^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow 3\text{SO}_4^{2-} + \text{HS}^-$
イオウ酸化	$\text{HS}^- + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+$
硝酸によるイオウ酸化	$5\text{HS}^- + 8\text{NO}_3^- \rightarrow 5\text{SO}_4^{2-} + 4\text{N}_2 + 3\text{OH}^- + \text{H}_2\text{O}$
光合成によるイオウ酸化	$\text{HS}^- + 2\text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 2[\text{CN}_2\text{O}] + \text{H}^+$

還元カップリングし、エネルギーを得る生物である (図 15)。このプロセスは固定的硫酸還元とも呼ばれ、生合成のために還元的イオウを生産する非固定的硫酸還元と区別される。固定的硫酸還元は生物の間で一般的に起り、硫化物の放出を引き起こさない。硫化水素の存在は腐敗臭を放ち、黒色の硫化鉄の沈澱を伴うか、酸化生成物としての S⁰ の白色のパッチを生成する。非固定的硫酸還元は多くの環境において 50% 以上の有機物分解に貢献する (Canfield et al., 1993a)。一年間に約 5×10^{12} kg の硫酸-S がバクテリアにより分解され、その 95% が海洋で起きていると見積もられている (Skyring, 1987)。海洋生態系での大部分の硫酸還元は有機物のインプットが大きい海岸環境で起っている。ただし、淡水環境における硫酸還元も嫌氣的分解プロセスで重要であり、いくつかの例では優勢な経路である。

有機物分解としての重要性のほかに、硫酸還元で生成する還元的イオウは不溶性の金属硫化物の沈澱や溶存硫化物の蓄積をもたらすという点で地球化学的に重要である。還元的生成物は酸化的環境では再酸

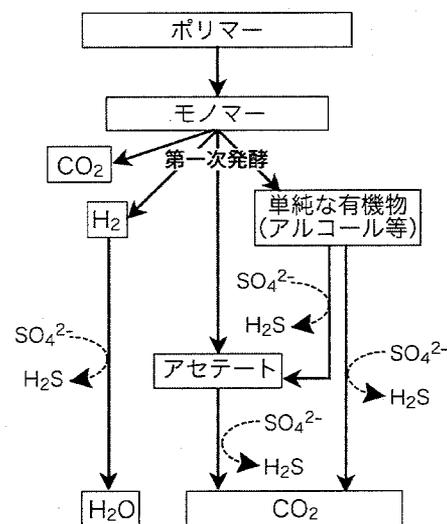


図 15. 嫌氣的条件での硫酸還元。硫酸の還元は第一次発酵により有機物が単純なものになってから起る。

化され、光合成細菌を含むバクテリアにとっての代謝基質となる。硫酸還元剤の溶存・固相生成物は堆積物中へと拡散する酸素を消費し、そのシンクの規模は好氣的微生物呼吸と同等である (Jørgensen, 1977)。典型的な海岸堆積物では、硫酸還元により生じた還元的イオウの 90%が硫酸へとリサイクルされる。残りの硫化物は金属硫化物として沈澱し、最終的には FeS_2 へと転移する (Jørgensen, 1982a)。

炭素サイクルの中での硫酸還元剤の第一の役割は比較的小さな有機基質を二酸化炭素に分解することである。その代謝能力は幅広いが、硫酸還元菌は一般にポリマーを分解しない。例外は好熱古細菌である *Archeoglobus* とその他の 2~3 の種であり、これらは単純なモノマーや発酵生成物より複雑な成分を分解できる。非固定硫酸還元剤により得られるエネルギーは比較的小さく、アセテートやラクテートの完全な二酸化炭素への酸化による自由エネルギー ($\Delta G'$) はそれぞれ、 -48kJ と -128kJ である。これは、それぞれの成分の酸素による酸化で生じるエネルギー (-844kJ と -1323kJ) の $1/10\sim 1/20$ にすぎない。ただし、これらの反応により生じる硫化物生成物は他のバクテリア、特に光自家栄養と化学自家栄養細菌のためのエネルギーを好氣的な表層堆積物において提供する。

有機物の完全/不完全な酸化—生理的に硫酸還元は完全/不完全酸化プロセスに 2 分される。不完全酸化細菌は多様な基質を利用し、多くはアセテートへの不完全な分解を行う。例えば、



もしくは、



いくつかの不完全酸化菌は硫酸還元を伴わずに基質を発酵する。例えば、



ただし、硫酸還元菌のいくつかの系統は発酵生成物として H_2 を放出し、 H_2 は他のバクテリアにより速やかに除去されなければならない。過去において、最終生成物としてアセテートが放出されることから、硫酸還元菌は発酵細菌であると看做されてきた。硫酸還元菌の呼吸的性質が確認されたのは 1950 年代のことである。1977 年までに分離された全ての硫酸還元菌は不完全酸化菌であり、ほとんどが 100 年前に分離された *Desulfovibrio* 属のメンバーであった (Voordouw, 1995)。1970 年代以前にはアセテートを消費する系統は分離されていなかったが、硫酸還元菌がアセテートを電子ドナーとして用いる事は古くから知られていた。

最初に分離されたアセテート利用の硫酸還元菌はグラム陽性細菌である *Desulfotomaculum* 属である (Widdel and Pfening, 1977)。それ以降、アセテートを利用するグラム陰性細菌が新属として報告されている。アセテートによる完全な酸化は式 32 の様に二酸化炭素の発生を伴う。



生理的な違いがある完全/不完全硫酸還元細菌は共存し、後者は前者に対してアセテートを提供する。

硫酸還元細菌は種間 H_2 移動に関連して他の種と共生し、 H_2 対価物を他の種へ提供し、硫酸呼吸を行う。例えば、*Desulfovibrio* は



水素栄養メタン合成菌は、



概要をまとめると、このケースでの硫酸還元菌は発酵菌であり、水素濃度を低いレベルに保つためにメタン生成菌に依存している。加えて、メタン生成菌は硫酸還元菌により放出されるアセテートを消費する。

電子ドナー—硫酸還元菌により用いられるエネルギーソースは金属還元やメタン生成菌により利用されるものと類似している。硫酸還元細菌が脂肪酸・アルコール・ H_2 等の発酵生成物を酸化することは一般的に受け入れられているが、このリストは不完全であり、新しい代謝経路の発見が続いている。硫酸還元菌は H_2 を電子ドナーとして用いる時に、化学合成的な代謝を行うことができる。硫酸還元菌により利用される大部分の基質が他の多様な細菌により供給されるので、硫酸還元がモリブデン酸 (MoO_4^{2-}) やセレン酸 (SeO_4^{2-}) の

様な硫酸類似物により抑制されると、これらの有機基質は急速に中間生成物を産み出す。

上記の一般的な発酵生成物の他に、硫酸還元菌は生理活性のある生体異物 (xenobiotics)、その他の芳香性成分、フルクトースの様な糖、C₂₀ までのアルカンとアルケン、亜リン酸、ジカルボン酸、グリコレート、窒素メチル、イオウ化合物、アセトン、タウリン等のスルホン酸を消費する。

硫酸還元菌は有機化合物を電子受容体と電子ドナーの両方に用いることが出来る。例えば、*Desulfovibrio* 属はフマル酸やリンゴ酸を発酵するが、もし有用な電子受容体加わると、これらをコハク酸へと還元する。

電子受容体—硫酸の還元は硫酸還元菌の古典的な役割であるが、これらの細菌は様々な無機イオウ化合物 (亜硫酸、チオ硫酸、元素イオウなど) を電子受容体として用いることが出来る (Fitz and Cypionka, 1990)。いくつかの種は電子受容体として S⁰ で成長するが、多くの種の成長は S⁰ により阻害され、それはおそらく酸化還元電位の上昇によると思われる (Rabus et al., 2000)。

硫酸還元菌の多くは硝酸・亜硝酸還元を行い、場合によっては、これらの代謝は硫酸還元よりも好まれる。硫酸還元菌が持つ重亜硫酸 (HSO₃⁻) 還元酵素は亜硝酸に対しても働く。ただし、亜硝酸還元に特化した酵素も認められている。硝酸から窒素を作る脱窒細菌とは異なり、硫酸還元菌の硝酸還元で生じる最終生成物は NH₄⁺ である。つまり、硫酸還元菌は DNRA (アンモニウムへの非固定の硝酸還元) を行っているのである。鉄還元的能力は硫酸還元菌の中にも認められるが、その能力は非硫酸還元の δ プロテロバクテリアにより顕著であり、細胞成長は観察されていない。硫酸還元菌はウラン・クロム・金などの金属も還元するが、成長はしない。ヒ酸(V) (arsenate) をヒ酸(III) (arsenite) へ還元する時に、硫酸還元菌は成長をサポートし、場合によってはヒ酸(V)は硫酸よりも電子受容体として好まれる。硫酸還元菌はセレン酸や Mn(IV) をも還元する。

硫酸還元菌により用いられる非イオウ無機化合物としては炭酸が挙げられ、それはアセテートと酸素へ還元される。酸素還元も硫酸還元菌にとって一般的な代謝である。ただし、培養条件では好氣的成長はほとんど起らず、酸素還元は酸素を除去するためのメカニズムであると思われる (Cypionka, 2000)。例外はあるが、好氣的環境から分離された硫酸還元菌の多くは *Desulfovibrio* 属である。硫酸還元菌に対して電子受容体を供給する有機基質としてはリンゴ酸、アスパラ酸、システインなどがある。

硫酸還元菌は芳香族の還元的脱塩素反応で成長し、塩素化した安息酸やプロモフェノールを電子受容体として用いる。硫酸還元菌の分離した群集はアクリル酸のソースにもシンクにもなる。アクリル酸は海洋のオミシン-ジメチルスルホニオプロピネート (DMSP) の分解により生じ、そのプロセスは硫酸還元菌により触媒され、その後、硫酸還元菌により還元される (van der Maarel et al., 1998)。

2.9.2. 硫酸還元菌の分類的考察

硫酸還元細菌は複雑な生理的グループであり、伝統的にいくつかの基準を考慮して分類する必要がある。重要な基準としては運動性、細胞の形、DNA によるグアニンとシトシンの含有量、亜硫酸還元酵素 (Desulfovibridin) とチトクロームの存在、成長温度、電子ドナーの応用性、完全/不完全酸化を行う能力が挙げられる。リボソーム RNA のシーケンスは硫酸還元細菌を、**グラム陰性中温菌**、**グラム陽性分化細菌**、**好熱真正細菌**、**好熱古細菌** の4つに区分する。グラム陰性中温菌のグループは δ プロテロバクテリアで、多くは *Desulfovibrionaceas* と *Desulfobacteriaceae* 科に属する。*Desulfovibrionaceas* 科は *Desulfovibrio* と *Desulfomicribium* 属 (図 16) が含まれ、系統的に明瞭である。それに対し、*Desulfobacteriaceae* 科の系統は 20 以上の属を含み、その多くが完全酸化の種である。グラム陽性のグループは *Desulfotomaculum* 属に含まれるものが多い。

1970 年代後半までは、硫酸還元細菌として2つの属 (*Desulfovibrio* と *Desulfotomaculum*) しか知られていなかった。*Desulfovibrio* 属は容易に単離・培養できるので、研究対象になることが多かった。当初、こ



図 16. *Desulfovibrio desulfuricans*.

の属は屈曲した棒状のグラム陰性菌で、主に水素を用いてラクテートを電子ドナーにすると記載された。しかし、*desulfovibrios* 類(*Desulfovibrio* 属とは別のグループ)は複数の電子ドナーと硝酸・酸素・金属酸化物を含む硫酸以外の電子受容体を用いることが解ってきた。それらはアセテートを最終生成物として発生する不完全代謝を行う硫酸還元菌の古典的な例である。*desulfovibrios* 類は系統的分析により分類的に多様であり、その固有の科に入り切らない。*Desulfovibrio* 属は海洋堆積物から容易に分離でき、海洋における硫酸還元菌の多くを担っている。これに対し、*desulfovibrios* 類はメタン合成細菌と共生関係にある。

Desulfotomaculum 属の種はグラム陽性で棒状で分化する硫酸還元菌であり、遺伝子系統的に多様であり、他の全ての硫酸還元菌とは区別できる遺伝系統を持つ。この属は非分化硫酸還元菌と同様に幅広い栄養への適応を持ち、 H_2 、アルコール、脂肪酸、単カルボキシル～2カルボキシル酸、アラニンなどを非固定硫酸還元菌の電子ドナーとして用いる。*Desulfotomaculum* 属の種は海洋堆積物中ではそれほど重要ではないと考えられているが、有機物に富む堆積物中では容易に抽出されその代謝活動は重要である。それらが分化(Spore)を作る能力は競争のために用いられ、水田の様な乾燥/冠水を繰り返す環境では優勢な種になる。*D. acetoxidans* はアセテート酸化を行う硫酸還元菌として最初に単離されている。

1980年代以降、多くの系統が単離・記載され、完全/不完全酸化を行う新属が *Desulfobacteriacea* 科として記載されてきた。フィラメント状の属である *Desulfonema* は明瞭な酸化還元勾配中の有機物に富む堆積物中に認められる。硫酸還元菌は全体のグループとして、他の細菌よりも明瞭な系統的特徴を持ち、リボソームサブユニット遺伝子中の DNA シークエンスがオリゴヌクレオチドプローブやポリメラーゼ鎖反応プライマーとして用いられ、顕微鏡を用いた認定に使われてきた。硫酸還元菌に固有のプローブは海洋堆積物コラム、バイオフィーム・微生物マット中 (Fukui et al., 1999; Minz et al., 1999a; Ramsing et al., 1993; Santegoeds et al., 1999), 堆積物に対して用いられてきた。加えて、逆サンプルゲノム標識法 (Voordouw et al., 1991), ハイドロゲナーゼと非固定亜硫酸還元遺伝子, ゲル勾配電気誘導法 (Okabe et al., 2002) が硫酸還元菌の研究で用いられてきた。

2.9.3. 硫酸還元菌の群集

硫酸還元菌の群集組成は培養・生化学・ゲノム法を用いて検討されてきた。一般に、希釈法(最確法; MPN 法, most probable Number) や固体培地上でのコロニーカウント等の様々な方法で見積もられた菌体密度は $10^2 \sim 10^5$ 個/mL であり、細胞の硫酸還元能力と速度で見積もられる数よりも小さい。この不一致は、カウンティングの方法に問題があったことは疑いない。海洋微生物マットや塩湿地堆積物に適用する場合、MPN 法は硫酸還元菌のそれらしい値 ($10^6 \sim 10^8$ 個/mL) を見積もる。

嫌氣的微生物食物連鎖の複雑な性質により、硫酸還元菌はその重要な役割にも関わらず全細菌数の約5%を占めるにすぎない。蛍光オリゴヌクレオチドプローブを用いた FISH 法は海洋堆積物中の硫酸還元菌数を 3×10^7 個/mL と見積り、この値は全真正細菌の6%に匹敵していた。また、RNA の増幅により検討された値は1~6%であったが、数的には20%を占めると見積もられてた。

堆積物中から多様な硫酸還元菌が見ついている。MPN 法を用いた細菌の評価によると、ラクテート、エタノール、アセテート、リンゴ酸、プロピネートの様な多様な基質が硫酸還元菌により用いられることが解った。堆積物中での硫酸還元はラクテートとアセテートを分解するグループにより主に行われることが多い。硫酸還元が起こっている海洋堆積物は鎖状の微生物起源のリン酸脂肪酸に富み、アセテート利用細菌である *Desulfobacter* 属の存在を示している。MPN 法を用いて、海洋微生物マットではアセテート利用の硫酸還元菌が、塩湿地ではエタノール利用の硫酸還元菌が卓越することが示された。

分子分析は堆積環境における硫酸還元グループのさらなる記載を進めた。堆積物中から抽出した RNA を用いた FISH 法により硫酸還元細菌の多様度が見積もられている。海洋堆積物中では硫酸還元菌の不完全酸化グループが卓越し、*Desulfovibrionaceas* 科が多いが、*Desulfobulbus* の種も認められた。ただし、卓越

するグループは深度や生息域に関連して変化する。例えば、Desulfovibrionaceas と Desulfobacteriaceae 科は堆積物の上部2.0mではほぼ拮抗しているが、深度が深くなると非完全酸化を行う Desulfovibrionaceas が増加する。完全酸化は北極海の堆積物にはほぼ存在しないが、塩湿地では卓越する。Desulfobacteriaceae 科のメンバーは代謝的に多様であり、塩湿地の様な季節変化を伴う環境で卓越する。

2.9.4. 硫酸還元活動を制御する要因

硫酸還元の役割に関する知識は、 ^{35}S を用いた硫酸還元速度の決定 (Jørgensen and Fenchel, 1974) により進歩した。当初、主要生成物であると考えられていた H_2S と単硫化物 (FeS) の中への ^{35}S の付加量により、硫酸還元速度が見積もられていた。しかし、塩湿地や酸化/還元境界での堆積物では、大量の黄鉄鉱が生成されることが解った。現在ルーティンとして用いられる方法は、還元的クロム Cr(III) を酸状態で添加する還元ステップが含まれている (Meier et al., 2000)。有機物に富む土壌や堆積物では、炭素結合した ^{35}S の回収も必要である。硫酸還元速度は培養堆積物中での硫酸の消費量からも見積りが可能である。深度の増加に伴う還元的イオン濃度の増大と硫酸還元細菌の増加は硫酸還元プロセスの指標として用いられるが、速度の見積りには硫酸の拡散を評価する必要がある、利用困難である。

有機物の注入速度と、硫酸の有用度は堆積物中での硫酸還元速度を支配する。硫酸は海洋システムではほとんど無くならないが、例外的に、汽水域のエスチュアリーでは堆積物深部で硫酸濃度が減少する。堆積物中での硫酸還元速度は 10 数乗の幅で多様であるが、海岸付近の海洋堆積物の深度 5-10cm での速度は $50\text{-}500\text{nM cm}^{-3} \text{ day}^{-1}$ 程度である (Crill and Martens, 1987)。塩湿地や微生物マット内での硫酸還元速度は、それぞれ約 $4,000$ 、約 $14,000\text{nM cm}^{-3} \text{ day}^{-1}$ 程度と高い (Canfield and Des Marais, 1991; Hines et al., 1999)。嫌氣的メタン酸化は海洋堆積物での大量の硫酸還元を補助する。

温度—硫酸還元は $0\text{-}110^\circ\text{C}$ の幅広い温度で起る。 115°C 以上になると、硫酸還元は熱力学的反応のみにより起ると信じられている。他の微生物反応と同様に、生物的硫酸還元は温度により大きく影響される。硫酸還元の季節変化は、しばしば温度変化に従う。一般に夏の活動は冬お 5 倍以上 30 倍以下程度に高く、この変化は酸化還元状態や還元的化学種の蓄積に重大に影響する。

炭素—硫酸還元は炭素の量と質に大きく影響される。海洋堆積物では、有機堆積量と硫酸還元速度の間に強い相関が認められ、硫酸イオン濃度が低くなければ、硫酸還元は有機物の有用度に制限される。硫酸還元菌は狭い範囲の有機分子のみを消費するが、硫酸還元とそれが起る前の分解プロセスの強いカップリングは、複雑な有機分子の分解と硫酸の還元の間に化学量論的 (stoichiometric) 関連性を生じさせる。硫酸還元帯においては、一般に、ラビーレ炭素と還元された硫酸のモル比は $2:1$ になる (Thamdrup and Canfield, 1996)。硫酸還元により発生した窒素とリン酸の量は有機物の C/N/P 比と硫酸還元の化学量により予測される。硫酸還元活動は急速な有機炭素のインプットにより対応する。

いくつかの電子ドナーは硫酸還元菌よりもメタン生成菌により利用されやすく、これら非競争的基質の存在は2つの代謝の共存を促す。このタイプの基質の例として、メチル化アミン、硫酸メチル化合物、メタノールなどの C_1 分子が挙げられる。メチル化した窒素・イオン化合物は藻類や海草の分解物質として一般的で、それらがメタン合成細菌により利用されるため、塩湿地堆積物からは大量のメタンが発生する。

硫酸と分子酸素の濃度—堆積物中の硫酸イオン濃度は、それが低い時のみに硫酸還元に影響する。淡水環境では、硫酸濃度がかなり低くならないと硫酸還元を制限しない (Bak and Pfenning, 1991)。淡水での硫酸濃度が海水に比べてかなり低いケースでの汽水環境では、硫酸還元は塩分濃度とともに増大する。そのため、硫酸還元帯の垂直的広がりも硫酸濃度とともに増大し、メタン生成帯は深部へと下げられる。

硫酸還元菌は一般に嫌氣的であるが、最近の研究ではいくつかの菌が酸素を利用し、完全に好氣的な環境に数時間耐えられることが示された。硫酸還元菌は、酸素を消費する共代謝細菌の存在により、酸素ストレスに良く耐えられる。ただし、硫酸還元菌と選択的嫌氣性細菌の共培養の結果は、硫酸が無い場所でも硫酸

還元菌が酸素依存の成長を行うことを示している。

微生物マットの様な活発な堆積物中での硫酸還元群集は2つの明瞭な群集による二極的構成を示し、表面では酸化的、下部では嫌氣的になる (Minz et al., 1999a)。酸化部付近に生息する硫酸還元菌は、光合成する細菌や維管束植物からのラビーレ炭素成分に近いという利点がある。実際、微生物マットの酸化部で測定した硫酸還元速度はより深い嫌氣部とほぼ均しいか、高くなっていた (Canfield and Des Marais, 1991; Visscher et al., 1992)。完全に酸化する硫酸還元菌である *Desulfonema* は微生物マットの酸化/還元インターフェースに一般的であり、塩湿地の酸化的な根環境に豊富である。フィラメント状の構造や移動能力はこの種の急速な条件変化に対する適応である。

2.9.5. イオウの微生物的還元

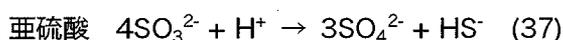
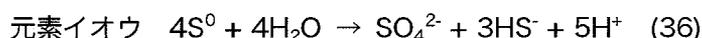
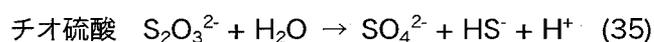
元素イオウ (S^0) の微生物的還元の発見は硫酸還元ほど早くはない。 S^0 を単一の電子受容体とする成長が報告されたのは20世紀に入ってからであり、最初の純培養 (*Desulfuromonas acetoxidans*) は Pfening and Biebl (1976) によりなされた。この種は、硫酸をイオウに酸化する嫌氣的光合成細菌のパートナーとして発見された。ここでは、完全なイオウサイクルが保持される。その後、他の S^0 還元菌が単離され、アセテート、ラクテートなどの有機分子や H_2 のにより S^0 を還元することが確認された。いくつかの硫酸還元菌は S^0 を還元する能力を持っているが、比較的新である。鉄還元細菌の一部は S^0 を還元し、硝酸・Mn(IV)・チオ硫酸・ O_2 などの他の電子受容体を用いることが可能だ (Caccavo et al., 1994)。非固定 S^0 還元は、通常の O_2 張力で好氣的に成長する細菌にも認められている。システインの様なジスルフィド (イオウ原子が線形に連結した) 有機化合物を電子受容体として用いる能力は S^0 還元菌の特殊なグループに限定されている。 S^0 還元菌のいくつかの種は S^0 を還元するときに ATP を生成出来る (Hedderich et al., 1999)。しかし、古細菌の多くのメンバーは厳格な発酵 S^0 還元菌であり、 S^0 還元を電子シンクとする。 S^0 は不溶性なので、多くの S^0 還元菌はポリサルファイドを電子受容体もしくは S^0 還元の仲介物として用いる。一般に、イオウ還元菌の生息場は硫酸還元菌と同様であり、共存する。ただし、硫酸還元菌の方が硫化物を放出しやすい。

初期に単離された好熱古細菌もイオウ還元的能力を持ち、そのうちいくつかはイオウを電子ドナーとして好氣的成長を行うか、イオウを電子受容体として嫌氣的成長を行う (Seegerer et al., 1985)。事実、大部分のイオウ還元細菌は古細菌のドメインに存在する。イオウの存在下で、メタン生成古細菌、特に好熱菌の系統はイオウを硫化水素に還元し、メタンの生成は間引かれる。イオウ還元は微生物系統の根元に多く認められ、その事はイオウ還元が非常に古いプロセスであることを示唆する (Stetter, 1997; Woese, 1987)。

Desulfuromonas sp. は δ プロテロバクテリアに属し、完全酸化の硫酸還元菌に近い。しかし、イオウ酸化の真正細菌は多様であり、プロテロバクテリアの他の亜目にも見られ、系統的に硫酸還元菌とは関係していない。一般に、イオウ還元菌は定着した分類が必要なグループである。

2.9.6. 不均化

硫酸還元菌はイオウ化合物の無機発酵を誘導し、イオウの不均化 (sulfur disproportionation) を引き起こす。チオ硫酸、亜硫酸、元素イオウを不均化する能力は多くの硫酸還元菌に認められ、以下のように起る。



純粋培養により単離されたものの中には、これら全ての反応に関与出来るものや、不均化を必ず行い硫酸を還元しないものも含まれていた。

不均化の反応は嫌氣的イオウサイクルの過程を提供するという点で堆積物中で重要であり、このタイプの代謝能力を持つ硫酸還元菌は数的に豊富である。チオ硫酸はイオウサイクルの中で鍵となる分子であり、酸

化・還元・不均化の全ての対象になる。硫酸還元菌は硫酸・チオ硫酸を還元し、チオ硫酸を不均化する。「チオ硫酸経路」は堆積物中に存在しているようで、ここではチオ硫酸がイオウサイクルでの還元的・酸化的経路の両方にカップリングしている (Jørgensen, 1990b)。チオ硫酸は還元的堆積物の中で硫化物酸化の主要生成物であり、その多くは不均化され、残りは硫酸に酸化されるか、硫化物に還元される。すなわち、硫酸還元により生じた硫化物の大部分はチオ硫酸中間物を經由して硫酸にへと酸化される。S⁰ の不均化はイオウサイクルの中で重要であるが、エネルギー的には好ましい反応ではなく、細菌のエネルギー獲得や成長の主要代謝経路ではない。

2.9.7. イオウガス

ガス相のイオウ化合物は微生物により生成・消費され、地球的なイオウサイクルの中で重要な役割を果たす。最も重要な揮発性イオウ化合物は硫化水素、硫化ジメチル (DMS)、チロールメタン (MeSH)、硫化カルボニル (OCS)、2 硫化炭素 (CS₂)、2 硫化ジメチル (DMDS) である。還元的なイオウ化合物は大気中で化学的・光学的酸化を受けて酸性雨やエアロゾルの原因になる。初期の研究は非固定硫酸還元により生じる H₂S は大気に放出されると予測した。しかし、有機イオウガスの存在は 1930 年代から知られていたにも関わらず、その重要性が認識されたのは 1970 年代に入ってからである。現在は、毎年海洋から大気へ放出されるイオウの 75% が DMS であることが明らかになっている。

硫化水素—H₂S の発生は硫酸還元による生産速度だけでなく、pH に依存した化学種間の分配、金属硫化物の沈澱、化学的・生物的酸化速度に支配されている。プロトンと結合した化学種 (H₂S) のみが揮発性であり、中性 pH では、大部分の硫化物は HS⁻ として存在し、アルカリ性の条件では硫化物イオン (S²⁻) が卓越する。これら 3 つの化学種を合計して ΣH₂S と表記することがある。硫化物の散逸は低 pH 条件で起りやすい。硫酸還元は海洋堆積物で最も優勢であり、そこでの H₂S ガスの発生は最も多い。ただし、DeLaune et al. (2002) は汽水湿地から高い H₂S 放出を報告している。大部分のケースでは、溶存硫化物の濃度が非常に高い (mM オーダー) にも関わらず、大気へ放出される割合は小さい。Bodenbender et al. (1999) によると、潮間帯での H₂S 放出速度は硫酸還元速度の 2 万 6 千分の 1 である。昼間は光合成生物が硫化物を直接的に消費したり、酸素の発生により間接的に消費するために、H₂S の放出は夜に多くなる。潮間帯からの硫化物の放出は潮のポンピングのために洪水時に増加する。植生のある堆積物では、根からの酸素発生のために硫化物が酸化され H₂S があまり放出されない。一般に、極めて還元的で植生の無い堆積物では、酸素が注入されないため、H₂S が発生しやすい。ただし、そのような環境は例外的である。

硫化メチル—DMS は海洋の生物地球化学と大気化学にとって重要な成分であると認識されてきた。実際、DMS は海洋環境から放出されるイオウの 90% を占める (Andreae and Crutzen, 1997)。DMS の生産とフラックス、DMA の大気での酸化、それによる硫酸エアロゾルの生成、雲の凝縮はリンクしていると言われている。

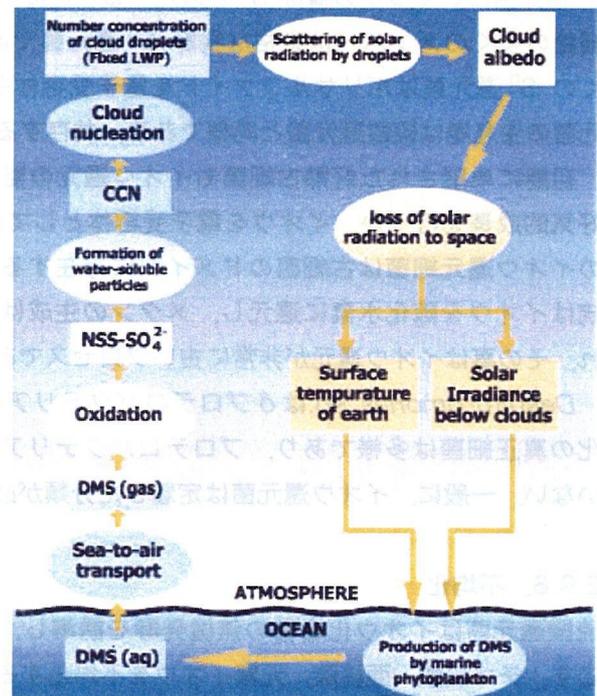


図 17. 硫化メチル (DMS: dimethylsulfide) が及ぼす地球環境への影響。硫化メチルは植物プランクトンの分解を起源とし、大気中に放出されるイオウガスの 75% を占める。硫化メチルは酸化されると硫酸エアロゾルとなり雲の核として働く。[温暖化]→[第一次生産性の増加]→[DMS の増加]→[雲の発生]→[太陽光の反射]→[寒冷化]は負のフィードバックとして重要であると考えられ、ジェームズ・ラブロックにより気候を制御するプロセスとして重視された。

(Charlson et al., 1987). このモデルでは、気温上昇が DMS の生産を促し、エアロゾルや雲による太陽光の反射で温暖化を緩衝する (図 17). これまでの多くの研究は海水での DMA のサイクルに関連したものであるが、湿地や堆積物中での DMA の地球化学も検討されている。DMS の起源物質として、ジメチルスルホニウムプロキネート (DMSP) のようなジメチルスルホニウム化合物、イオウを含むアミノ酸、MeSH, ジメチルスルホキシド (DMSO), メチル化した芳香族が挙げられる。メチオニンは生物中に普遍的に存在し、DMS を含むイオウガスの起源物質になる。メチオニンの分解は MeSH を作り、それがメチル化して DMS になる。イオウメチルシステインも分解されると MeSH になり、イオウメチルメチオニンは分解で DMS を生じる。細菌による DMSO の還元もまた DMS を生産し、硫酸還元菌の一部がそれを行う。

DMSP は DMS の重要なソースである。DMSP は海洋の藻類・微藻類・植物により作られ、浸透圧調整や酸化防止剤として働く (Sunda et al., 2002). 多くの植物プランクトンが DMSP 分解酵素を持つが、海水での DMSP 分解は細菌が主に行っている。腐敗した潮湿地での菌類も DMSP 分解酵素を分泌する。DMSP が分解すると、DMS とアクリル酸が発生するが、DMSP はジメチル化して 3メチルメルカトプロピネートになり、その後 MeSH もしくは 3メルカトプロピネートに分解される。プロテロバクテリア、特に α グループの多く (と β , δ , γ グループの一部) は海洋での DMS 生産にとって重要である。好氣的な海洋では、DMSP の分解は DMSP の濃度とイオウの形に支配され、DMSP の濃度が高いほど DMS の生成が起りやすい。

DMS や他の揮発性有機イオウ化合物は堆積物中で微生物により消費されるので、蓄積する事はまれである。*Thiobacillus*, *Methylophaga*, *Hyphomicrobium* 属のいくつかの細菌は好氣的に DMS を MeSH へ分解する。多くの細菌は他の炭素ソースがある場合、DMS を DMSO へと酸化する。

Zinder and Brock (1978d) は DMS と MeSH を二酸化炭素とメタンに変える嫌氣的細菌を最初に報告した。その後、このプロセスは多くの嫌氣的環境から報告されている。DMS と MeSH の嫌氣的分解はメタン生成菌・硫酸還元菌・硝酸還元菌・光合成細菌により行われる。DMS と MeSH 分解からのメタン生成の普遍性にもかかわらず、海洋環境での分解は主に硫酸還元菌が行っている。メタン生成菌は硫酸還元菌と DMS をめぐって競争し、DMS 濃度が高ければ硫酸濃度が高くと、硫酸還元菌との競争に勝つ。DMS 分解における硫酸還元の役割は、モリブデン酸の添加により硫酸還元を抑制すると DMS 分解も現象するという観察結果からも支持される。ただし、また、DMS を用いる硫酸還元菌は好熱環境からも単離されている。メチル化したイオウ化合物が嫌氣的細菌にどのようにエネルギーを提供しているかは良く理解されていないが、メタン合成菌や硫酸還元菌のケースでの熱力学的検討が示されてきた (Scholten et al., 2003). DMS を分解する脱窒細菌も単離されている。

硫酸カルボニルと二硫化炭素—細菌は硫酸カルボニル (OCS) や二硫化炭素 (CS_2) の様な揮発性物質の形成と分解にも関わっている。硫化メチル化学種に比べると、これらの成分の細菌 (特に嫌氣的細菌) による転移は良く理解されていない。これら 2つの成分は大気へ発散されるイオウ化学種としてはマイナーである。硫酸カルボニルは大気での滞留時間が長くイオウを含むガスとしては最も濃度が高く、一方、 CS_2 は濃度が低い。2つは水環境での光合成により生成するが、その起源物質は幅広く、含イオウアミノ酸、あるいはジエンコール酸 ($CH_2[SCH_2CH(CH_2)COOH]_2$) やランチオニン ($S[CH_2CH(NH_2)COOH]_2$) の様なより変わったものを含む。一般に、これらのガスは有機物に富む環境で嫌氣的に生成するが、その形成メカニズムは多くの例で不明確である。 CS_2 は多くの細菌にとって毒性があり、植物は身を守るために根から CS_2 を発生する。OCS と CS_2 は両方とも、無機イオウ化合物を酸化する細菌により好氣的に消費される。これらは嫌氣的堆積物でも消費されるが、そのメカニズムは不明である。 CS_2 は嫌氣的に OCS や H_2S に酸化され、そこからは脱窒細菌が単離された。

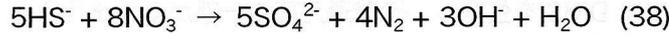
2.9.8. イオウの微生物酸化

硫化物と有機/無機の還元的イオウ分子は微生物の酸化還元反応に対して電子ドナーを供給する。天然堆

積環境あるいは温泉環境での重要性に加えて、イオウ酸化は工業的に重要である。イオウ酸化細菌は有害な硫化物を除去し、金属硫化物を酸化し、元素イオウやジブサムを堆積させ、炭酸カルシウムを溶解する。硫酸による炭素酸化で得られる自由エネルギーは酸素による酸化よりも 4~10 倍小さい。しかし、硫酸還元により生じる硫化物は優れた電子ドナーであり、酸素と以下の反応を行う。



この反応の自由エネルギーは-798kJ/mol である。あるいは、硝酸を用いた嫌氣的酸化も同じ様なエネルギーをもたらす。



この反応の自由エネルギーは-744kJ/mol である。この反応によりエネルギーを得る chemolithotrophic な微生物は無色イオウ細菌 (CSB) であり、紫イオウ細菌 (PSB) とは明瞭に生態が異なる。後者は photoautotrophic に二酸化炭素を固定する。



硫化水素とその他の還元的イオウ化合物は(紫/緑色細菌)の非酸素発生型光合成の光システム I に電子ドナーを供給する。HS⁻ の電子は生物化学的な還元成分である NAD(P)H や ATP の生産に用いられる。酸素発生型光合成細菌よは違って、光合成生成物は硫酸になる。CSB も PSB も、イオウ酸化により得られたエネルギーの大半を二酸化炭素を同化するために用いる。

天然環境における酸化—還元反応に関与するその他の還元的イオウ成分として、FeS, FeS₂, S₂O₃²⁻, S_x²⁻ (polysulfides), S_yO₆²⁻ (polythionates), S⁰, 硫化メチル (CH₃SH 等)のような有機イオウ化合物が挙げられる。明らかに、硫化物に富む環境では、イオウ化合物は化学/光合成にとって重要なエネルギー源である。しかし、イオウ酸化細菌は様々な生物的・無機的反応と電子受容体の獲得のために競争しなければならない。

2.9.9. 無色イオウ細菌

CSB は酸素や硝酸を使ってイオウを酸化してエネルギーを得る。CSB は形態的・系統的に極めて多様である(フィラメント状の *Beggiotoa* や *Thioploca* spp. (図 18A)あるいは単細胞の *Thiobacillus*や *Thiomicrospira* spp)。フィラメント状 CSB のバクテリアは極めて特徴的であり、その細胞サイズは肉眼で見えるほど大きい。*Thiomargarita namibiensis* の細胞は直径0.75mm であり(図 18B; Schulz et al., 1999; Schulz and Jorgensen, 2001), フィラメント状の *Thioploca* の種は長さが 70mm に達する(Jorgensen and Gallardo, 1999)。チリの海岸で発達する *Thioploca-Beggiotoa* によるマットは 10⁴km² の面積で発達する(Jorgensen and Gallardo, 1999)。しかし、単細胞 CSB は大部分のイオウ環境に生息し、その代謝は多様であり、量的にフィラメント状のものと同等に有用である。

単細胞無色イオウ細菌—還元的イオウ化合物の酸化からエネルギーを得る棒型の単細胞微生物は伝統的に *Thiobacillus* spp.と分類され、精子型のものには *Thiomicrospira* とされてきた。この分類体系は分子系統学により見直され、単細胞 CSB の系統は現在変更中である。さらに、生理的にもイオウ酸化生成物を詳細に検討する必要がある。いくつかの従属栄養細菌は HS⁻, S₂O₃²⁻やその他の還元的イオウ化合物を硫酸へと酸化可能である。これらは CSB に分類されないが、環境中での HS⁻能力は重要である。

単細胞 CSB は幅広い無機/有機イオウ化合物を環境中で酸化する。イオウ化合物の混合物の中で、CSB は HS⁻を特に好み、酸素少ない環境では、硝酸を使わない種にとって、S⁰, S_yO₆²⁻ (polythio-nates), S_x²⁻

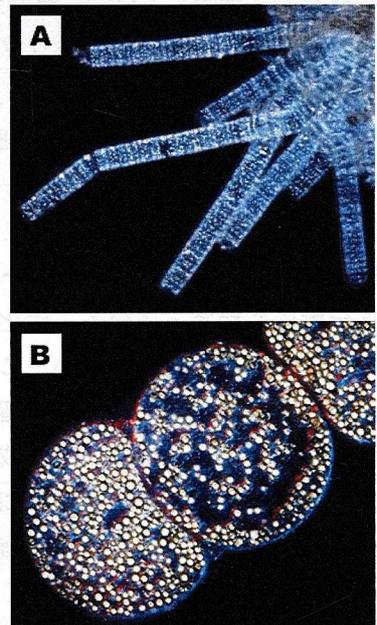


図 18. 代表的な無色イオウ細菌。(A) フィラメント状 *Thioploca*, (B) *Thiomargarita*.

(polysulfides)が酸化生成物であり、細胞の外側に沈着する S^0 は初生的に micelle-like 構造を作る長鎖 polythionates で構成される (Stuedel et al., 1987). イオウ酸化経路での酵素は、亜硫酸オキシダーゼと逆アデニン-リン硫酸-レダクターゼの2つであり亜硫酸を硫酸に酸化する。後者は亜硫酸酸化を ATP 生成にカップリングさせる能力が高い。これは、自家栄養の成長に必要なエネルギー量で認定される thiobacilli の2つのグループを説明する。第一のグループは1モルの二酸化炭素固定に約 4 モルの硫化水素を酸化するものであり、*Thiobacillus meapolitanus*, *T. thiooxidans*, *T. versutus* を含む。第二のグループは約 2 モルの硫化水素で1モルの二酸化炭素を固定するもので、*T. thioparus*, *T. aquaesulis*, *T. denitrificans* を含む。自家栄養の thiobacilli は炭素固定にカルビンサイクルを用い、結晶質ナルビスコを細胞質に含んでいる。多くの CSB は限定的な化学自家栄養細菌ではなく、autotrophs (*T. pantotropha*, *T. denitrificans*, *T. bersutus*) や mixotrophs (*T. novellus*) になり、電子ドナーとしてイオウ化合物以外に有機炭素を用いる。

単細胞 CSB は幅広い塩分・pH・温度環境から報告されている。いくつかの種は熱水口に生息する無脊椎動物、二枚貝 *Calymene magnifica* などと共生する。

酸素勾配付近の海洋堆積物中での thiobacilli の生息密度は大きく、 10^6 - 10^9 cell/cm³ に達する。同程度の密度はイオウや硫化水素の濃度が高い排水中でも認められる。いくつかの CSB は極限現況で生息し、例えば、*T. ferrooxidans* は酸性鉱業排水中に認められ、Fe(II) を Fe(III) に、Cu(I) を Cu(II)に、HS⁻を SO₄²⁻に酸化する。この生物は黄鉄鉱を酸化することが可能で、鉱石の溶解や、石炭からの脱イオウに応用されている。*T. thioparus* は応用性が高く、MeSH や DMS と酸化する。また、この種に似ている *Thiobacillus* sp.は DMS を硝酸を用いて分解するほか、アルキルチオールを硫酸へと酸化する。

Thiomicrospira 属は3つの既知の種を含み、それらの全ては化学自家栄養細菌である。これらの生物は微酸化環境に生息し、1つの種は硫化物とチオ硫酸の酸化を硝酸還元とカップリングさせる。もう1つのイオウ酸化細菌の種は *Achromatium* であり、 S^0 と方解石を細胞内に蓄える選択的 autotrophs であり (Head et al., 2000)、淡水・汽水・海水環境から報告されている。この属に属する3つの既知の種は全て mixotrophic である。方解石の堆積により、この種の細胞は $8 \times 10^4 \mu\text{m}^3$ まで大きくなる (Schulz and Jorgensen, 2001)。方解石の役割は不明であり、硫酸が生成されたときの細胞質の緩衝、もしくは自家栄養成長のための二酸化炭素源である。ただし、炭酸カルシウムの沈澱は水素イオンを放出するので、後者のシナリオは考えにくく、CSB はその自家栄養の成長の間に方解石を溶解すると考えられている (Visscher et al., 1998)。

古細菌はイオウ酸化の2つの属を含んでおり、いずれも超好熱菌である。*Sulfolobus* は嫌氣的イオウ酸化細菌であり、Fe(II)と有機炭素を用いることができる。*Acidianus* も同様の生態を持つが、酸素の存在に関わらず生息可能である。酸化的条件では、この属は S^0 を硫酸に酸化するが、嫌氣的条件では S^0 は電子受容体として用いられ、硫化物が生成される。

フィラメント状の無色イオウ細菌—このグループに含まれる *Thioploca*, *Thiothrix*, *Beggiatoa* 属は系統的に比較的近い。*Beggiatoa* spp. は化学自家栄養細菌として最初に記載されたが、その後、chemolitho-organotrophic (or mixotrophic) な生活スタイルを持つ事が解り、淡水・海水環境の酸素と硫化水素のインターフェースから報告されている (Schulz and Jorgensen, 2001)。

Beggiatoa は元素イオウを細胞内に貯蓄し、見掛け状、フィラメントが白色になる。この生物がイオウ性温泉・塩分に富む湿地・海成堆積物で繁殖するとマットを作る。深海熱水噴出口では異常に大型の *Beggiatoa* spp. (Jannasch et al., 1989) に加え、単細胞 CSB である *Riftia* spp.を含むイオウ型生態系が発達する。いくつかの *Beggiatoa* spp.では、硫化物が酸素と硝酸により酸化され、硝酸還元の生成物として窒素が放出される (Sweerts et al., 1990)。

Thioploca spp. は *Beggiatoa* spp. に似たサヤを持つフィラメント状 CSB である。これらは海水・淡水の酸素極小帯で生息し、液泡に硝酸を蓄積し (*Beggiatoa* spp. のいくつかも行う)、HS⁻, O₂, NO₃⁻の全てが

揃っていない環境にも適応している。液泡での NO_3^- の濃度は 0.5M に達することがあり、細胞外の濃度に比べて 100 倍以上にも達する。ただし、嫌氣的条件では、 NO_3^- は N_2 ではなく NH_4^+ へと還元される。 O_2 への正の走行性に加えて、*Thioploca* は硝酸へも走行し、硫化物の濃度の低い方向へも向くことから、微酸化的条件を好む。*Thioploca* のサヤは硫酸還元バクテリアを含むことがあり (*Desulfonema* spp.; Jørgensen and Gallardo, 1999), それらが大量の硫化水素を供給する。閉じた両端で特徴付けられるフィラメントはサヤの外でも生息可能であり、細胞内に S^0 を貯蔵する。

2.9.10. 非酸素発生型光合成細菌

紅・緑色イオウ細菌は還元的イオウ化合物 (HS^- , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, S_x^{2-} , $\text{S}_y\text{O}_6^{2-}$, S^0) を光合成の電子ドナーとして利用する。紅・緑色非イオウ細菌はこれらの電子ドナーの利用は制限されている。興味深い事に、いくつかの PSB は酸素の存在下で、化学合成的に硫化物を酸化する (De Wit and Van Germerden, 1987)。例えば、*Thiocapsa roseopersicina* は光合成的に HS^- を利用するが、酸素の存在下では光合成色素の合成のために嫌氣的条件が必要である。もし、この条件にない場合、この種は色素を持たなくなり、エネルギーの摂取のために化学合成的にイオウを酸化する。嫌氣的な条件が復活すると、化学合成は光合成へとシフトする。

PSB と thiobacilli の系統的つながりは、PSB (もしくは他の光合成イオウ細菌) が thiobacilli の明確な先祖であると示唆する。湖・微生物マット・塩分に富む湿地における光合成バクテリアの繁栄が確認されている。紅色非イオウ細菌 (PNSB) は幅広い有機炭素化合物を利用し、イオウと有機物に富む環境で典型的に生活する。いくつかの PSB と PNSB は同じ有機化合物を使い、一方は電子ドナーとして、もう一方は電子ドナーと受容体として用いる。

2.9.11. イオウ酸化の生態的重要性

イオウ酸化細菌の系統・生理・地球化学は再検討されており、これらの微生物の炭素・イオウ・窒素循環における生態的重要性や生物地球化学的役割も大きく見直されている。例えば、硫化物やチオ硫酸を酸化する能力は生物を特徴付けるための標準的基準にはならない。この事は、単細胞 CSB が系統樹のなかで分散して存在することを良く説明する。イオウ酸化細菌は豊富であることに加えて、酸素と硫化水素に関係する環境も豊富にある。

培養微生物を用いて様々なイオウ細菌の関連性についての新しい見方が提示されている (Overmann and van Germerden, 2000)。一つの例は CSB と PSB の関係である。PSB (*Thiocapsa roseopersicina*) と CSB (*Thiobacillus thioparus*) が酸化/還元が繰り返す条件で硫化物について競争すると、PSB は CSB を排除してしまう。この際に、細胞内に貯蔵した S^0 と光を利用する能力が PSB にとって競争的な利点である。同様に、CSB と PSB の競争に際して、光の量と性質、酸素と硫化水素の濃度も考慮しなければならない (Jørgensen and Des Marais, 1986)。酸素/硫化物比については検討がされており、PSB はその比が 1.6 以下の時 (酸素が制限している条件) のみに CSB と共存可能であり、そこでは CSB により作られた部分的酸化イオウ化合物が PSB により利用される (Van den Ende et al., 1996)。

イオウ酸化の生理・生態的重要性はイオウ化合物の発酵や、一部のシアノバクテリアが利用する電子ドナー (HS^- , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$)、酸素の存在下での CSB と SRB の共存にも示される。微生物の生理機能や分布、イオウサイクルにおける化学的变化と輸送については、過去 125 年間の研究にもかかわらず、なお検討が必要である。

2.10. 嫌氣的元素サイクルにおける競争的相互作用

元素のサイクルを元素ごとに考察するのは実用的であるが、天然に存在する嫌氣的代謝のさまざまな経路の相対的貢献度を解釈するためには、元素がどのように相互作用するかを理解することが大切だ。

微生物の電子ドナーをめぐる競争からの出力は熱力学的理論により予測されており (表 1), その予測結

果はデータと一般に整合的である。微生物代謝経路の時間的サクセションは酸化した土壌や堆積物への洪水で発達する (図 1)。嫌氣的呼吸の時間的サクセションの大部分の事例は洪水と露出を繰り返す湿地の土壌から報告されている。しかし、同様のサイクルは高地での土壌でも観察されている。電子ドナーをめぐる競争は土壌や堆積物の浄化過程でも観察できる。1 kg の土壌に 30g の鉄水酸化物を添加すると、メタンの発生を 84%抑えることができる。Freman et al. (1994) はこのメタン発生の抑制は硫酸の添加による硫酸還元でも起ることを示した。

分子水素は発酵による最も豊富な生成物であり、嫌氣的代謝の最も一般的な電子ドナーである。嫌氣的堆積物での極めて低い H_2 濃度は、 H_2 をめぐる厳しい競争の証拠である。大きな自由エネルギーを産する (より低い負の ΔG) 代謝経路は孔隙水中の H_2 濃度が低い時に発達しやすい (表 1)。すなわち、硫酸還元細菌は、 H_2 濃度をメタン生成に必要な閾値以下に低下させることにより、 H_2 に依存したメタン生成を抑制し (Lovley et al., 1982)、Fe(III)還元菌は硫酸還元菌に対して同じ影響を与える。

H_2 と生物エネルギーとの関係は優勢な電子受容プロセスをその場で決定する方法を可能にする (Hoehler et al., 1998)。その様なアプローチは、温度・pH・鉱物反応性やその他の要因によりシステムでの自由エネルギーが計算できる場合に最も効果的である。Hoehler et al. (1998) は温度や pH を制御したときに、ある呼吸プロセスの ΔG 値は一定になることを観察し、それは、微生物が H_2 と競争できるためのエネルギー限界で呼吸する必要性を反映しているとした。生命を保持するための理論的最少エネルギー (biological energy quantum) は代謝 1 経路につき 1/3 の ATP を生産できる量であり、約-20kJ/M に相当する (Schink, 1997)。これは、その場観察で得られた結果とほぼ一致する。発酵・メタン生成・その他の嫌氣的代謝で得られる低いエネルギー量は嫌氣的生物がぎりぎりのレベルで代謝を行っていることを示す (Valentine, 2001)。

熱力学的考察によると、アセテートをめぐる競争も、最大自由エネルギーの代謝経路の選択に働く。ただし、全てのケースでアセテートの濃度が代謝経路の選択に働くわけではなく、その遅い拡散速度により、カイネティックな効果が熱力学的支配に影響する。

電子受容体としてのフミン底質が近年認識されている。Cervantes et al. (2000) はフミン酸類似物 (AQDS) が毒性物と競争物の効果によりメタン生成を抑制することを示した。AQDS 還元による熱力学的エネルギー量は硫酸還元やメタン生成より高く、鉄還元より低いことが示されている。フミン底質は Fe(III) の様な電子受容体に急速に電子を供給するので、それらは急速にリサイクルされ、濃度が低くても嫌氣的代謝において重要である。

しかし、嫌氣的代謝経路のサクセションが古典的パターンにあてはまらない多数の例がある。同じ様な自由エネルギーを持つ 2 つの電子受容体 (NO_3^- と Mn, Fe と SO_4^{2-}) が共存する傾向がある。これらの競争はしばしば競合する電子ドナーが存在しない事により説明される。硝酸・Fe(III)・硫酸が存在していても、水田において少量のメタンが生成される。メタン生成活動最初の高まりは発酵により生成した H_2 濃度のピークと一致する。次に、鉄還元や硫酸還元が H_2 濃度をメタン生成の閾値以下に低下させると、メタン生成は終わる。電子受容体をめぐる競争の純粋はシステムの熱力学に影響する多くの要因によって変化する。堆積物土壌の生態系でまず考慮すべき要因は Fe(III) と Mn(IV) 鉱物の組成である。一般に硫酸還元から鉄還元へのシークエンスは鉄水酸化物の様なラビーレ Fe(III) 鉱物の豊富さと逆の相関で変化する (Postma and Jakobsen, 1996)。この事は、海洋堆積物中で Fe(III)還元と硫酸還元が共存することを説明する。Postma and Jakobsen (1996) はこの共存が Fe(III)酸化物の安定性 (もしくは表面積低下) とともに増加すると予測した。

非競争的相互作用—多くのケースでは、電子受容のプロセスの分離は競争以外の要因による。鉄還元やメタン合成を抑制する硝酸の能力は、部分的に脱窒作用の中間生成物により抑制される。 $<100\mu\text{m } NO_3^-$, $1\text{-}2\mu\text{m } NO$, $<1\text{mM } N_2O$ の濃度により、水素栄養のメタン生成は完全に抑制され、より高い濃度によりアセテート栄養のメタン生成も抑制される。また、土壌中での硝酸の添加はグルコースを減少させる。これは窒素酸化物により発酵が抑制され、メタン生成が間接的に妨げられたことを示唆する。

2.11. 炭素代謝への貢献

Thamdrup (2000) は 16 の海洋生態系について、酸素還元・鉄還元・硫酸還元の相対的貢献度について検討した。平均すると、硫酸還元が最も優勢 ($62 \pm 17\%$) であり、好気呼吸 ($18 \pm 10\%$) と鉄還元 ($17 \pm 15\%$) はほぼ同等であった。従来のもとは、約 50% が酸素呼吸であるとされ、鉄還元の重要性が見過されてきた。鉄還元が塩分の高い湿地での優勢な炭素代謝である。

淡水生態系における鉄還元の優勢さを示した研究もある。Yao et al. (1999) が中国・イタリア・フィリピンの水田において研究を進め、炭素代謝の 58-79% が鉄還元によるものであり、残りの大部分がメタン生成であることを示した。

植物の活動が炭素代謝をメタン生成から鉄還元に変化させることを示す証拠が数多く示されている。Wentzel (1996) によると、植物無しの条件では嫌氣的代謝の 69% を占めていたメタン生成が、植物の存在下では 30% 以下に低下することが示されている。同様の観察結果が湿地や水田から報告されている。これを説明するメカニズムは、植物に富む土壤中に豊富に存在する結晶度の低い Fe(III) であり、豊富なラビール有機炭素の供給量である。

1990 年以降の研究は嫌氣的代謝に関する我々の理解を大きく進展させた。嫌氣的にアンモニアを窒素へと酸化する (anammox) 新しい微生物も発見された。これらの生物の存在は熱力学的考察から予測されていたが、いくつかの海洋堆積物中での窒素生産に重要に貢献していることが示された。既知の生物のいくつかも予想していない代謝を行う。例えば、脱窒を行う硝化細菌や、メタンを生成する鉄還元細菌である。鉄還元は本来無機的なプロセスであると考えられてきたが、現在では多くの淡水環境において重要な嫌氣的炭素代謝であることが示されている。微生物は中性 pH 条件での Fe(II) 酸化に大きく貢献する。有機分子や安定同位体のテクニックの進歩により微生物群集の詳細な記載が可能になった。その様なテクニックは嫌氣的なメタン酸化が古細菌と真正細菌の共生関係で行われていることを強く示唆する。これらの新しい生物や代謝経路の重要性はその場で決定されていないが、炭素・窒素・Mn・Fe・イオウの元素収支やサイクルに関わるメカニズムを大きく修正することに繋がる。鉄還元により呼吸するバクテリアの発見により、海洋堆積物中での好氣的炭素代謝速度は最近引き下げられた。同様に、地球化学は、嫌氣的メタン酸化細菌やアンモニア酸化細菌の発見を通じて、環境微生物学に大きく貢献した。より多くの興味深い発見がこれから期待できるだろう。

3. 先カンブリア紀の堆積物と微生物

3.1. 分子遺伝学的方法の限界

地球外生命の存在の可能性が繰り返し示唆されているが、現時点でそれを証拠付ける事実は観察されていない。したがって、「生命の起原」という科学の究極的命題に対し、私たちは地球上の試料からアプローチするしかない。1953年の「ミラーの実験」以来、科学者は実験的に生命を合成することを試みてきた。しかし、無機物から生命を作る無数の実験は、いくつかの材料物質を合成するに至ったが、生命の増殖と進化をつかさどるDNAの合成にすら成功していないのである。DNAやリボソームなど必須の機能分子を合わせ持つ物体としての生命の合成は、魅力的な研究テーマではあるが、おそらく、人類の寿命に匹敵する長期間の時間が必要である。

ゲノム解読の進歩により、多数の微生物の完全なゲノムが解読されている。この膨大なデータにより、生命の起源が理解出来るという熱狂的なムードがあったが、3つの前提が必要である。まず、進化の速度はその情報が地質学的記録に失われないほど十分に遅い事。何らかの突然変異が過去の情報を隠し、また突然変異が数億年間の長い地質時間の中でランダムに発生したとすれば、数10億年前の記録に遡る事は望めない。これについての議論では、Benner et al. (2002) が、真核生物の遺伝子の入れ替え速度を考慮すると、記録を遡れるのは約6億年前であると結論付けている。2番目に、進化速度が一定であること。これは、特に原核生物を扱う場合に困難な問題である。これらの成長速度は極めて多様であるためだ。最後に、水平（側方）遺伝子伝達（HGTもしくはLGT）が遺伝子情報の中でまれであるか、容易に認識されるかである。

Doolittle と彼の同僚は極めてゆっくりと進化するタンパク質を用いて、生命史の重要なイベントを見積もった。例えば、真核生物の重要なグループは同じ先祖から約20億年前に分化したと示唆した。この見積りは、酸素呼吸が進化し、ミトコンドリアが真核生物の細胞に住み着いた時期よりかなり新しい、という点で興味深い。しかし、より代謝に関連性の高い遺伝子について解析すると、結果の解釈はより困難になる。DeLong (1998) が「分子シーケンスの認識は便利だが、その比較は系統の詳細を提供しない」と言う様に、**高い突然変異による遺伝子置換速度と水平遺伝子伝達のために、分子データで過去の代謝の進化を特定するのは不可能である。**これは非常に重要な見解であり、現在の細菌に認められる表現型とその古さについての結論を関連付ける。

たとえば、鉄還元細菌は「微生物学的証拠」をもとに古い特徴であるとされている (Vargas et al. 1998)。これは表面的には合理的な見積りだが、遺伝子のデータからそう宣言するのは危険である。現在研究されている生物の全ては、その始まりの表現型から大きく変化しており、ある機能が古いと定義するためには注意が必要である。Vargas et al. (1998) は実験室において好熱菌の鉄還元を測定し、鉄還元が呼吸の最初のタイプであると述べている。この結論には多くの疑問が残る。「好熱菌は古い」という彼らの重要な前提は論争的になっている。この見積りには厳密な生化学的・生理的な保証がない。彼らの *Archeoglobus fulgidus* の鉄還元酵素についてのその後の研究 (Vadas et al. 1999) はそれがキレート化した鉄のみに作用し、他の鉄還元酵素と同様に LGT により獲得されたものである事を示した。水環境では、鉄のキレート化は酸化的環境でのみ起こりえる、すなわちこの条件は酸素発生型光合成が進化し、地球が酸化的になった時に成立する。

LGT は従来予想されていたよりも重要なプロセスであることが解ってきた。Doolittle (2002) はこれを「分子のレゴ」と名付け「原核生物のゲノムは多くの先祖から受け継いだ断片の集合体である」と述べている。少なくとも現段階では、**分子遺伝学の方法が生命の起原を解決するには重大な限界がある事**を示す。この限界に挑んだ Benner et al. (2002) は遺伝子重合が起こった重大なイベントを分子記録から検討した。彼らはイーストの中に発達したエタノール合成の遺伝子を追跡し、その発生は顕花植物の進化や、乳酸合成と対比できるとした。大抵、その様な結論は地質学や古生物学的イベントの時間と比較されるのは困難だ。しかし、それは可能であり、将来有望な研究分野である。しかし、彼らが指摘している様に、原核生物遺伝子の入れ

替え速度により、この方法は約6億年前までしか適用できない。

現段階では、16S rRNA の様な保守的なアプローチを用いて、原核生物のどのグループの発年代を見積もるのは、不可能ではないが困難だ。また、このアプローチを用いて過去の生物の決定的な系統を作るのも同様に困難である。これは悲観的な見方だが、ゲノム研究法の向上により、進展があるかもしれない。

「生命の起原」に挑むより現実的な研究手法は、化石・分子の痕跡・地球化学的痕跡・同位体分別などの地球科学的なものである。これらはすべて先カンブリア紀の岩石に残されている。

3.2. 弱い若い太陽のパラドックス

初期の地球は私たちにとって異様である。生命にとって基本的な制約、特に酸化的状態について全く異なっている。冥王代や始生代の空はおそらく緑で、弱い太陽光を反射した全ての物体は異様な色を示すだろう。地震探査をすれば、地球内部はゆっくりと波が伝わる粘性の低い物質で構成され、おそらく海洋は今日の上部マントルの様なマグマティックオーシャンであった (Drake and Right, 2002; Nisbet and Walker, 1982)。また、核は現在より小さかっただろう。巨大に突出したハワイの様な火山が発達し、膨大なコマチャイト溶岩を噴出し、隕石は雨の様に地上に落下していたに違いない。

先カンブリア紀の気候の基本的問題として「弱く若い太陽のパラドックス(FYS 問題)」がある。太陽定数の標準的モデルは、地球が誕生した 46 億年前の太陽が 30%も弱かったことを示唆し (図 19)、それ以降、Gough (1981) の式 40 で示される様に、増加してきた。

$$S = S_0 / (1 + 0.4t/t_0) \quad (40; S_0 = 1370W/m^2, t_0 = 4.6, t = Ga \text{ 年代})$$

太陽定数の増加は太陽核内での水素→ヘリウムの漸進的核融合の結果である。これはコア密度を増加し、加熱により核融合反応を急速にする。もし星の進化に関する我々の物理的理論が正しければ、「弱く若い太陽の問題」から脱出する天文学的方法は、初期の太陽が現在よりも大きかった可能性である。主要恒星系列では、星の光はその質量 M の 4 乗に比例して増加する。一方、惑星の軌道半径は $1/M$ に比例し、そこに照射される恒星からのエネルギーは距離の 2 乗に反比例する。すなわち、地球が受け取る太陽のエネルギーは M^6 に比例する。多くの天文学者は太陽は形成時にはより重く、強い太陽風により質量を失ったと示唆している。しかし、近年になって Wood et al. (2002) はいくつかの若い恒星の質量減少速度を、 $Ly \alpha$ 吸収 (恒星風が周囲の星間物質と融合する場所での衝撃で水素により吸収される放射) に基づいて見積もった。彼らの分析が正しければ、太陽は 20%ほど明るかったと考えられる。しかし、急速な質量減少の期間は短く、2 億年程度であったと思われ、太陽光は 44 億年前には標準的な値へと減少したと考えられる。この時期は生命の進化に影響するには早すぎるし、地球にはこの時代の痕跡が残されていない。

もう一つの天文学による部分的な解決方法が最近提唱された。Shaviv (2003) は若い太陽からの強い太陽風は地球の大気に照射する宇宙線を減少させるとした。これにより、雲を凝集させる核が減少し、雲の量が減少したと考えられる。その結果、地球のアルベドは低下し、気候は暖かくなったというものだ。しかし、この仮説はありそうにない。30%も低い太陽定数を補完するためにはアルベドを 0.3 から 0.0 まで低下させなければならないからだ。したがって、温室効果による温暖化を考える必要がある。

20 年以上も前に、Walker et al. (1981) は大気中の二酸化炭素が FYS 問題の最もありそうな解決方法であると示唆した。Kasting and Ackerman (1986) の計算結果は、45 億年前の太陽定数が現在の 70%であったとしても、二酸化炭素が 10 気圧あれば、気温は 80°C になるとしている。Veizer et al. (1999) や Shields and Veizer (2002) により示された酸素同位体比のデータも暖かい初期地球を支持する。始生代、原生代、

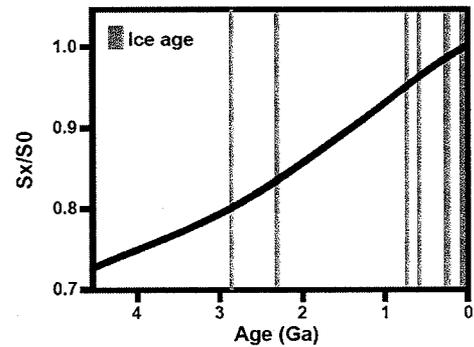


図19. 地球史を通じた太陽定数と氷河期の時代分布. S_x =過去の太陽定数, S_0 =現在の太陽定数

そして初期顕生代の炭酸塩岩は酸素同位体比が 6-10%ほど低く、同様の傾向がチャートからも示されている (Knauth and Lowe 2003; Knauth 2005)。もし、酸素同位体比のデータをそのまま換算するならば 33 億年前の海水温度は 55-85°Cになってしまう (Knauth and Lowe 2003)。

初期地球のいくつかのモデル (Walker 1985) はこの程度の二酸化炭素分圧を支持するが、他のモデル (Sleep and Zahnle 2001) ではかなり低い二酸化炭素を想定する。長い時間スケールで考えると、大気中の二酸化炭素は炭酸塩-珪酸塩サイクルにより制御されている。二酸化炭素は珪酸塩の風化と海洋での炭酸塩の堆積により大気-海洋システムから取り除かれる。冷たい地球では、珪酸塩風化は阻害され、連続的な火山活動により大気中の二酸化炭素が増加する。その結果、気温低下から温室効果が増大し、負のフィードバックが出来る。全球凍結の様な極端なケースでは、珪酸塩風化はほぼ完全に停止し、氷を融解するまで二酸化炭素が蓄積する。このイベントのシーケンスは新原生代のみならず、23 億年前にも起っていたと考えられている (Evans et al., 1997; Pavlov et al., 2000)。

過去 10 年間で、FYS 問題を解決する高い二酸化炭素に反論する 2 つの研究がなされた。一つは実証的である。Rye et al. (1995) は 22-28 億年前の古土壌を研究し、この時期の大気二酸化炭素分圧の上限値を設定した (図 20)。この上限は温度に依存しており、地表気温が現在と同様であれば、 10^{-2} 気圧のレベルである。これは、28 億年前の 25% も低い太陽定数を補填する二酸化炭素分圧よりも約 20 倍も低い。彼らはシデライト (FeCO_2) が無い事にも言及している。シデライトは還元的な鉱物であり、現在の土壌では急速に酸化されるが、土壌層の二酸化炭素レベルが高ければ存在できる。これは後期始生代~古原生代の二酸化炭素が気候を温暖にするほど十分高くなかった事を示唆する。23 億年前以前には氷期を示す明確な証拠は無い、つまり、後期始生代は現在よりも暖かかった。

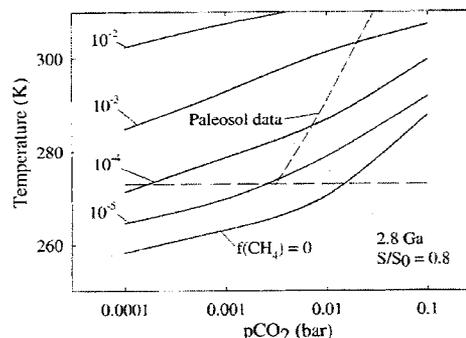


図 20. 地球の表面温度と pCO_2 とメタン混合比の関係。2.8Ga の太陽定数が現在の 8 割と仮定する。破線は古土壌のデータから見積もられた pCO_2 の上限。

2 つめの反論は理論的なものである (Sleep and Zahnle, 2001; Zahnle and Sleep, 2002)。それによると、始生代大気からの二酸化炭素の除去は大陸風化よりも海底の炭酸塩化によるものである。もしそうであれば、大気二酸化炭素と気候の間で起る負のフィードバックは効果的に起らず、始生代の気候はかなり寒冷であった。私が思うに、彼らはこの効果を過大評価している。なぜなら、彼らのモデルは、海洋がいったん凍結すると、大気-海洋間の二酸化炭素輸送が妨げられるという事実を考慮していない (全球凍結は全ての緯度で少なくとも厚さ 1km の氷を作り出す)。地表温度が十分に低ければ火山の二酸化炭素は大気に蓄積するのである。モデルは温度が全球凍結点よりもわずかに高かったならば成立するが、それを支持する氷河形成の証拠は無い。Sleep と Zahnle の基本的な考えは良いが、さらなる温室効果を考える必要がある。

3.3. 始生代におけるメタン温室効果と反温室効果

他の温室効果ガス、特にメタンは酸素濃度が低い始生代の大気に豊富であった。始生代の大気は本質的に嫌氣的であるという多くの証拠がイオウ同位体比の非質量依存分別から示されている (Farquhar et al., 2000, 2001; Kasting, 2001; Pavlov and Kasting, 2002; Mojzsis et al., 2003; Farquhar and Wing, 2003; Ono et al., 2003)。現在の酸素濃度では、メタンの大気中での寿命は 10-12 年程度であるが、酸素の乏しい大気中では 1000-10,000 年保たれる。また、始生代にはメタンが生物により大量に発生したので、その大気中での濃度は比較的高かったと思われる。

図 20 の実線は異なる二酸化炭素分圧とメタン混合比における平均表面気温である。短い破線は古土壌のデータから見積もられた二酸化炭素分圧の上限であり、長い破線は水の凍結温度である。これらの計算は、二酸化炭素濃度が現在のレベル (370ppmv) でも、大気中のメタン混合比が 100-1000ppm 程度で凍結から

免れることを示す。逆にメタン濃度が 10ppmv 以下になると、この規制を満足出来ない。

今日、メタンはメタン生成菌により水素やアセテートから作られる。生物学者はメタン生成菌が進化的に始原的であると予想した。それは、メタン生成菌が古細菌ドメインの最下位を占めているからである。しかし、この事がメタン生成菌が最も古い生物であることを意味しない。実際、古細菌の 1 グループである *Euryarchaeota* はそれほど古くなく、House et al. (2003) は元素イオウ代謝の方がより古いと指摘する。いずれにせよ、メタン生成は古く、生命誕生の証拠が提示された 39 億年前には存在していたらう。

気候の計算のためにさらに考慮すべきことがある。「メタン生成菌は高い温度下で急速に成長できる」ということだ。より正確には、好熱メタン生成菌は中温菌よりも急速に増殖する (Cooney, 1975)。これは、気候の正のフィードバックを作り上げる。温度増加がメタン生成を促し、温室効果を増加させる。ただし、このサイクルには限界がある。光化学モデルは大気の $\text{CH}_4:\text{CO}_2$ 比が 1 以上になると、メタンは高分子化し、炭化水素ヘーゼを作ると予測する。これは図 20 の左上部分に現れる。高い温度は二酸化炭素の濃度を下げて、メタン生成を活性化する。ヘーゼがいったん出来ると成層圏の中で日光を吸収し、宇宙空間へ再放射し、逆温室効果を生み出す。似た様な現象が木星の衛星であるタイタンで起っている (図 21; McKay et al., 1991)。それにより、メタン気候システムはメタン濃度を制御する負のフィードバックシステムを持つ事になる (図 22)。高いメタン濃度は温室効果により地表の温度を上昇し、メタン生成菌は暖かい温度を好むので、メタン生産はさらに加速される。温度が上昇すると大陸での珪酸塩鉱物の風化が加速され、二酸化炭素の濃度が下降する (Walker et al., 1981)。これら 2 つの効果により、大気の CH_4/CO_2 比は有機物ヘーゼが起きるまで増加する。しかし、このヘーゼは厚くなると、表面の気温は下降し、メタン生成細菌が死滅する (Pavlov et al., 2001)。

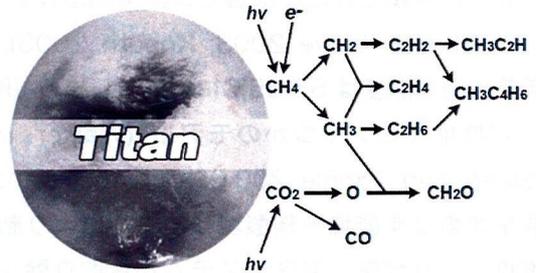


図 21. 土星最大の衛星タイタンの大気中で起っている光化学反応。大気中に多量に含まれるメタンと二酸化炭素の分解により有機物のエアロゾル (炭化水素ヘーゼとも呼ばれる) が発生する。

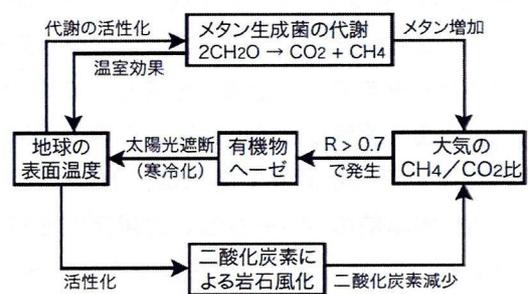


図 22. 酸素発生型光合成が進化する以前の地球の表面温度を制御した可能性がある負のフィードバック機構 (Pavlov et al., 2001)。

3.4. 初期地球の酸素濃度とイオウの非質量依存分別

次に、過去の酸素について考えてみよう。Walker によると、生物進化以前の大気は主に窒素からなり、無視出来る量の酸素と、現在より多い二酸化炭素と、少量の H_2 の様な還元的气体を含んでいた。より以前の研究は、非生物的なアミノ酸の合成のために、初期の大気がメタンや水素の様な還元的成分を主としていたと考えたが、大気は現在の火山ガスよりずっと還元的な成分を保持できないだろう。現在の典型的な火山ガスは、80-90%の水蒸気、6-12%の二酸化炭素、3%のイオウ成分のガス (H_2S か S_2O)、0.6-1.5%の水素、0.4%以下の一酸化炭素である (Holland 1978)。

光合成が進化する以前の非生物的酸素フラックスは、水蒸気や二酸化炭素の光分解を起源としており、水素の発生をとまなう。大気中の水素濃度は脱ガスと宇宙への放出のバランスで決まる。大気上層にある水素原子は宇宙へと放出され、その速度は理論上、水素を成分として含むガスの混合比で決まる ($f_{\text{total}} = f\text{H}_2\text{O} + f\text{H}_2 + 2f\text{CH}_4 + \dots$)。放出速度は

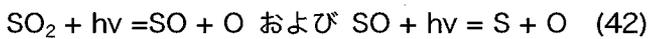
$$\phi_{\text{escape}} = 2.5 \times 10^{13} f_{\text{total}} \text{ (41; } \text{H}_2 \text{ 分子 } \text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}\text{)}$$

現在の放出速度は 4.8 Tmol/year ($= 1.8 \times 10^{10} \text{ H}_2 \text{ 分子 } \text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$)であり、初期の地球ではこの数倍はあった

と思われる。

光分解による酸素の生成は水素を宇宙へと放出するが、分解成分が再結合するので、水蒸気や二酸化炭素の光分解がそのまま酸素ソースにはならない。水蒸気の光分解と水素の放出による酸素の生産速度は 0.01 Tmol/year 程度だろう。すなわち、火山からの水素の放出量が酸素生産量の約 100 倍に相当するので、酸素濃度は 10^{-13} 気圧程度になってしまう。

始生代の低い酸素濃度の最も重要な証拠はイオウの非質量依存分別 (MIF) である。本来、同位体分別は質量の違いに応じて起きるものであるが、非質量依存分別は光分解により起こりうる。現在の大气では、火山成のイオウ揮発成分 (SO_2) は硫酸へと酸化され、降水を通じて海洋へと流入する。しかし、嫌気的大気では 2つの相違点が生じる。まず、成層圏におけるオゾンが無いために、短波長紫外線が対流圏まで注入し、光分解により非質量依存性を作る。



もし酸素分圧が 10^{-5} 気圧以下であれば、イオウ化合物は大气に留まり、非質量依存分別が堆積物に保存される (Farquhar and Wing, 2003)。この現象は 27~24 億年前の堆積物には顕著だが、24 億年前以降には記録されていない (図 23)。

MIF は $\Delta^{33}\text{S}$ の絶対値で表わされる。 $\Delta^{33}\text{S}$ は、 $\delta^{33}\text{S}$ の実測値と、 ^{32}S と ^{34}S から想定される $\delta^{33}\text{S}$ の差である。高い MIF 値は 220nm 以下の波長による SO_2 の光分解が原因である (Farquhar et al. 2000, 2001)。このシグナルが保存されるためには、イオウは 1つ以上の化学種で大气に残り、海洋に再混合されてはいけない、そうでなければ MIF のシグナルは保存されない (Pavlov and Kasting 2002)。低い MIF 値は、1) SO_2 が短波長紫外線から保護されるか、2) 全ての脱ガスした SO_2 が他のイオウと関連する間もなく硫酸に酸化されるときに起る。現在の大气では、両方の条件が揃っており、酸素とオゾンは紫外線を遮断し、 SO_2 は効果的に硫酸へと酸化される。岩石の記録は、20 億年前以前の MIF がほぼ 0 付近であることを示し、2つの条件のうち少なくとも 1つは満たされている。しかし、20-23 億年前と 28-32 億年前にも MIF の値は ± 0.5 以内にある。これらのわずかなばらつきは、MIF=0 のイオウとより古い高 MIF イオウが混合したためであると考えられる。これら 2つの時期の MIF の低下について以下の 4つの説明が可能である。

1) 酸素発生型光合成の進化により 32 億年前に大气中の酸素濃度が増加し、27-28 億年前に何らかの原因により低下した (Ohmoto et al. 2005)。高い酸素濃度は MIF の発達を妨げ、メタンの減少によって氷河活動が起った。このメカニズムは前期原生代の氷河期と同じである。このメカニズムは 2つの問題がある。A) なぜいったん増加した酸素濃度が 3 億年間も低下していたのか? B) この時期の碎屑性ウラン鉱床の存在が自由酸素の存在と整合的ではない。ただし、これが本当に碎屑性であるかは議論がある (Holland 1984)。

2) 大气の酸素濃度は、硫酸還元細菌による H_2 の使用により、少なくとも 32 億年前にゆっくりと増加した (Kasting and Ono 2006)。このモデルでは、酸素の生産は光合成ではなく、光化学的に起こり、酸素濃度は現在の 1/1000 程度の低さであり、碎屑性鉱物の酸化は起らなかった。このメカニズムは有為であるが、モデル計算で検証する必要がある。

3) 28-32 億年前の太陽の紫外線フラックスは小さかったため、水素が宇宙空間に放出されず、大气の水素濃度は高かった。この過剰な水素は SO_2 を硫化水素に変え、MIF のシグナルが消えてしまった。この考えは、Tian et al. (2005) の小さい水素の放出速度にヒントを得た物だが、モデル計算の必要がある。

4) MIF のシグナルはメタンの光分解による有機物へーゼの形成による。このモデルでは、初期始生代の地

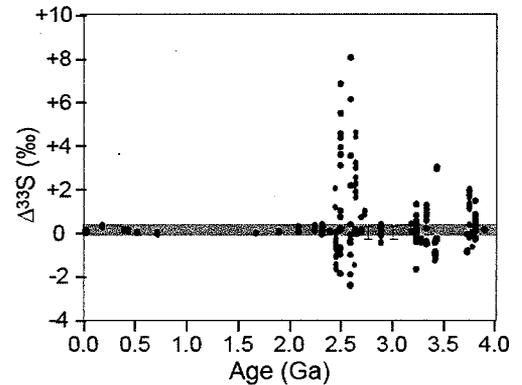


図 23. 地球史を通じた ^{33}S の同位体異常 (Kasting and Howard, 2006)。酸素やオゾン濃度が低いと、火山起源の SO_2 が酸化されずに短波長紫外線による光分解を受け、異常値が生じると考えられている。酸素分圧が 10^{-5} 気圧以下の時に起る。

球は二酸化炭素と水蒸気の温室効果により暖かく、32億年前にメタン菌が進化したことで、CH₄/CO₂比が高くなったと想定する。この比が約0.6になると有機物へーぜが形成される (Pavlov et al. 2001)。へーぜはSO₂の光分解を阻害し、MIF シグナルが無くなったと思われる。また有機物へーぜにより地球は氷河に覆われるようになった。この最後の仮説はモデル計算によりテストされ、定量的に整合的である。これは24-27億年前と32億年前以前の高いMIFを説明する。このモデルでは、氷期と低いMIFは28億年前の酸素発生型光合成の進化で終了する。

風化の証拠は24億年前以前の酸素レベルがかなり低かったことを示唆する。保存の良い古土壌は鉄やREEの組成から酸素分圧の見積りを可能にする (Rye and Holland, 1998)。還元的な雨が降っていた頃、鉄は2価のイオンとして土壌から流出したが、酸化になると、3価のイオンとして移動しなくなる。セリウムにも同様の事が言える。24億年前以前の河川成堆積物は還元的な鉄を含んでおり、パイライト・ウラニナイト・シセライトはそれぞれ始生代の酸素分圧を、0.1, 0.01, 0.001気圧以下であると規定する。これに対して、原生代の赤色層は、風成もしくは河川に運搬された粒子からなり、赤い鉄酸化物（主に赤鉄鉱）でコーティングされたものであり、高い酸素濃度を示している。

縞状鉄鉱層 (BIF) は地質記録の最初から現れ、古原生代には減少し、18億年前には消滅する。BIFは鉄に富む層と乏しい層（主にシリカ）の互層からなる海の堆積物である。BIFはFe²⁺イオンの熱水起源のフラックスを示しており、それは還元的な始生代の深海では溶解していただろう。鉄イオンは浅海の大陸棚へと運搬され、そこで酸化され、3価の鉄として沈澱した。ただし、BIFは酸素濃度の増加後5億年間も継続しており、深海環境は18億年前まで酸化的是ではなかったと考えられている。Canfield (1998)は深海は新原生代まで還元的であり、Fe²⁺は硫酸還元細菌によりパイライトとして取り除かれたと示唆している。

炭素・イオウ・鉄同位体比はすべて古原生代の海洋での大きな変化を示している。光合成は¹²Cを有機物に取り込み、炭酸塩の同位体比を高くした。35億年前から、有機炭素の同位体比は約30%ほど炭酸塩の値（約0‰）よりも小さい。これは生物による分別で生じた、火山活動・

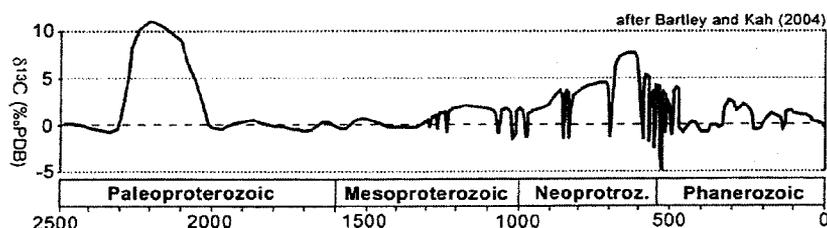


図 24. 古原生代以降の炭酸塩炭素同位体比の変動 (Bartley and Kah, 2004)。中生代中期から増加し、かつ変動幅が大きくなる。

変成作用・風化作用による地殻から海洋へ流入する炭素の同位体比は約-6‰である。炭素の海洋での滞留時間である10万年間以上の期間に、流入する炭素の同位体比 ($\delta^{13}C_{in}$) が一定であれば、

$$\delta^{13}C_{in} = f_{carb} \delta^{13}C_{carb} + f_{org} \delta^{13}C_{org} \quad (43)$$

と書ける。上記の値を代入すると、 f_{org} は0.2と計算される。古原生代における極めて高い炭素同位体比 (図24) は有機物埋没が強まった結果生じたものであろう。

イオウ同位体比は、硫酸濃度が始生代で0.2mM以下であり、原生代に増加したことを示す。硫酸濃度が0.05-0.2mM以上になると、硫酸還元細菌により生産される硫化物は³²Sに富む様になり、分別が顕著になる (Habicht et al., 2002)。硫化物が³²Sに富む様になるのは23億年前以降であり、それは酸素とともに増加した硫酸濃度を示している。

3.5. 光合成の進化

生命は非生物的酸化還元コントラストが利用可能な限られた場所に生きていたが、光合成は生命に酸化還元力のソースを与え、その生息場を広げた。光のエネルギーを摂取可能でなければ、生命はおそらくバイオフィームの中や湧昇流付近の様な場所に限定されていたであろう。

光合成は複雑なイベントの鎖からなり、各々のイベントは始生代に起源を持っていた。鎖を構成するユニ

ットは、光合成の進化史を説明するパズルのようだ。光はクロロフィル（真核生物とシアノバクテリアによる酸素発生型光合成の場合）やバクテリオクロロフィル（シアノバクテリア以外のバクテリア）の様な色素や、蛍光蛋白（シアノバクテリアや藻類などにある水溶性の蛍光色素）により捕獲される。光は約 300 個のクロロフィルの列から構成されるアンテナ細胞で受容される。この列は吸着した陽子のエネルギーを、光合成反応センターに到達するまで、分子から分子へと伝達する。紅色バクテリアでは、光合成反応センターは他の分子や中央の鉄(III)イオンと結合した特別なバクテリアクロロフィル分子から構成される。紅色バクテリアの全体的なプロセスでは、2つの陽子が反応センターに到達することで、4つの H⁺を細胞質から外部溶媒へと移動する。

シアノバクテリアと植物の葉緑体で起る酸素発生型光合成では、2つの反応センターが結合している。1つは光システム II (PSII) であり紅色バクテリアのものと似ている。PSII ではマンガン酸化物を含む複合体が2つの水分子を4つの H⁺と1つの O₂に引き裂く。もう1つの反応センターは PSI であり、PSII で作られた H⁺と電氣的に連結し、さらに2つの電子が NADPH (ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン産) を作る。これに加えて、膜状で ADP 合成が起こる。すなわち、光による生産物は NADPH と ATP である。次の生合成反応では、NADPH と ATP が周囲から炭素を捕獲するために使われる。3つの ATP, 2つの NADPH, 2つの H⁺が水と二酸化炭素を結合させ炭水化物をつくる。合計すると光エネルギーの 12 個の量子が1つの二酸化炭素分子を取り込むために必要になる。このプロセスはルビスコ (リブローズ 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ) により触媒される。この酵素は、酵素が接している微環境の O₂:CO₂ 比に応じて、大気からの二酸化炭素の摂取と、大気への二酸化炭素の放出の両方を効果的に進める。

光合成は地質学的記録の中の鉱脈である。ルビスコの明らかな同位体的指紋は酸素発生型光合成に先立ち、最も明瞭なターゲットである。それは炭素原子を極めて選択的に摂取し、¹³C に乏しい有機分子を作る。ルビスコには2つのタイプがある。ルビスコ I は酸素発生型光合成に用いられ、酸化的環境あるいは微環境で働き、嫌氣的条件では働かない。ルビスコ II は二酸化炭素を嫌氣的に固定する生物に特徴的であり、現在は深海生物に見つかっている (Elsaied and Naganuma, 2001)。

光合成の同位体シグナルは非生物的堆積物にも保存されるだろう。ルビスコは環境中の ¹²C を希釈し、非生物的炭酸塩の ¹³C を濃縮する。マントル起源の二酸化炭素の δ¹³C は -5~-7% である。その約 1/4~1/5 がルビスコにより δ¹³C の低い炭素として捕獲される。ルビスコ I による有機物は -28~-30% であり、ルビスコ II による有機物は -11% 程度である (Guy et al., 1993; Robinson et al., 1998)。残りの 3/4~4/5 は約 0% の炭酸塩として沈殿する。すなわち、δ¹³C = 0% の炭酸塩の存在はルビスコ I が酸化的環境で汎地球的に炭素を摂取した指紋なのである。

呼吸はおそらく光合成の前に進化し (Xiong and Bauer, 2002)、代謝の鎖の各々のステップは長く複雑な進化史を持っているはずである。これはダーウィンのパズルと同じである；目の半分はどう役に立つのか？光合成の半分は意味があるのか？「鎖の半分が役に立たないとき、どの様に完全な鎖が進化したか」という問題については Blankenship (2001) が議論している。地質学者への挑戦は、前適応の利点を持つ小さなステップの認定と年代決定、それに個々のステップの関連を説明することである。

光合成の起源については多くの議論があるが、ほとんど合意が無い。多くの仮説の中で、Nisbet et al. (1995) は光合成が熱のソースを探査するために使われる赤外線熱走性を利用する能力により前適応した生物から始まったと示唆した。この仮説では、小さなステップのセットを提示し、各々のステップは利点を持つ偶然の前適応に依存し、光合成に見られる極めて高度な電子マネージメントを作った。ステップは表面に色素を持つ細胞での偶然の赤外線走行性から開始する。深海熱水口は 350-400°C であり赤外線を放射する。放射の検知は運動能力を持つ生物にとって便利であり、生き残りのために有利なソースへの移動を可能にする。これらの細胞は次第に赤外線に対して敏感に同調するようになる。次のステップでは、生命はより浅い噴出口へ移動し、太陽の赤外線をエネルギーソースとして使用する様になる。最終的にはよりエネルギーの

高い可視光線を用いるようになる。この仮説は赤外線熱走性を頼りにしており、細胞は嫌気的環境で働くバクテリオクロロフィルを用いていただろう。

しかし、他の仮説では酸素発生型光合成が先に来ており、クロロフィルからバクテリオクロロフィルが進化した。バクテリオクロロフィルは赤外線を吸収する。クロロフィル a は緑色をしているので、赤～青色の光を吸収し、緑を反射する。もしクロロフィルが最初に進化したのであれば、赤外線熱走性仮説は棄却されるだろう。

ではどちらが先に進化したのだろう。多くの議論は古くからある Granick (1965) の仮説を中心に行われている。クロロフィル合成のためのステップは単純であり、直感的に最初に進化したと思えるというものだ。最近の研究はバクテリオクロロフィルが先であるという考えを支持し (Xiong et al., 2001), Granick の仮説を否定し、Nisbet の仮説を有効にした。

クロロフィルとバクテリオクロロフィルは、中心に、4つの窒素元素に囲まれた1つのマンガンを含むポルフィリン環がある点で共通する。同様のポルフィリン環はヘム (ヘモグロビンの一部) やチトクロームにも見られる。これらの酵素の多くはかなり古く、原始的な光合成の進化に参加し、その過程で呼吸プロセスの進化にも関連しただろう。Xiong and Bauer (2002) はタイプ II 光合成の反応センターの祖先がチトクローム b であったと結論付けている。非生物的には、金属と窒素の結合は極めて高い pH で起る。

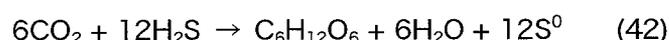
3.5.1. 非酸素発生型光合成

非酸素発生型光合成は幅広くバクテリアに認められる。主なグループは *Chlorobium* の様な緑色イオウ細菌 (これらはルビスコを用いない), *Chloroflexus* の様な非イオウ緑色細菌, *Thiospirillum* の様な紅色イオウ細菌, *Rhodobacter* の様な非イオウ紫色細菌である。紫色細菌は 16S rRNA の研究ではいくつかの主要な進化グループに分類される (Woese, 1987)。緑色イオウ細菌は硫化水素・水素・イオウを用いた完全な嫌気性細菌であり光を必要とし、暗所では呼吸が出来ない。いくつかの種は気嚢を持ち浮力を使って、酸化還元境界へと上下動が可能だ。非イオウ緑色細菌は好熱菌であり、*Chloroflexus* は温泉微生物マットにいる典型的な種類である。紅色イオウ細菌は完全な嫌気性であり、硫化水素をイオウや硫酸へと酸化する。これらの典型的な生息場は深く嫌気的であり、赤外線が透過可能な湖の透光帯などにも認められる。非イオウ紫色細菌は光栄養 (phototrophic) でないものもあり、柔軟な生活様式が可能である。嫌気的光合成細菌は普通に有機分子を電子受容体や炭素ソースとして用い、いくつかはイオウを硫酸へと酸化する。暗所では、大部分の非イオウ紅色バクテリアは酸化的な環境や微環境で成長が可能である。

これらのグループに共通する特徴はバクテリアクロロフィルを用いることであり、光合成反応センター I (紫色バクテリア) もしくは II (緑色イオウ細菌) を含んでいる。この光合成のプロセスは H_2 , H_2S , S, 有機物を電子ドナーとして用いるため、酸素を廃棄物として発生しない。多くの緑色・紅色細菌は H_2 を単一の電子ドナーとして用い、ヒドロジナーゼを用いて二酸化炭素を還元して炭素のソースとする。

光合成の遺伝子シーケンスの研究結果は、緑色イオウ細菌と非イオウ緑色細菌が最も近いグループであると結論付けている (Xiong et al., 2000)。紅色光合成細菌はカルビンサイクルとルビスコを用い、炭素を強く分別する。一方、緑色細菌は同じ様な同位体シグナルを残さない、*Chlorobium* は反転したクエン酸サイクルを用い、*Chloroflexus* はヒドロキシプロパンの経路を用いる。

光合成でイオウ化合物を酸化する細菌が最初に出現したとき、完全なイオウ代謝系の発達が可能である。硫酸還元菌は外部環境から硫酸を摂取し、硫化水素を作る。そこで、光合成酸化菌は以下のステップでイオウを体外 (緑色バクテリア) もしくは体内 (大部分の紅色バクテリア) に堆積させる。



確定的ではないが、Shen et al. (2001) の同位体の証拠は完全なイオウサイクルとは整合的ではない。Glirassineau et al. (2002) による 27 億年前の広い分別は完全なイオウサイクルの成立を示唆している。彼

らはまた、ルビスコの印としてのケロジェンの軽い炭素同位体比の証拠も示した。このような証拠は、シアノバクテリアの存在もしくは非酸素発生型光合成細菌の存在を示している。

非酸素発生型光合成が進化すると、地球は広く生息可能になり、生物生産性が高まる。潮間帯～浅海環境はすぐに生命に満ちあふれた。イオウ代謝系は海洋火山性の硫酸からイオウサイクルを作り、微生物マット中ではより上部の酸化的層と下部の硫化水素に富む層との間で複雑な微生物の生息域が出来た。

現在のプランクトンは、古細菌・真正細菌・真核生物を含む多様なものである。非酸素発生型光合成細菌はおそらくプランクトンとして急速に広がったであろう。その拡散を妨げるのは還元化学種の有用度だけであった。微生物生物圏は非酸素発生型光合成に依存し、表層数 10m には酸化したイオウや窒素化学種に満ちた海水が、嫌氣的な海洋の上に発達した。この段階では、海洋のバイオームは紅色／緑色の非酸素発生型光合成細菌に加えプラクトミセスにより層状化していたと考えられる (Fuerst, 1995)。

複雑な汎地球的窒素サイクルもこの時期に発達したであろう。プラクトミセスがもし古いものであれば、 NH_3 と NO_2 の反応から N_2 を放出できた。逆方向の反応は、主に火山や稲妻により非生物的に起っていたと思われるが、これらのソースは限定的なものであった。現在の窒素サイクルはバクテリアが担っている。*Pseudomonas* の様なバクテリアは N_2 を放出し、多く紅色／緑色細菌は Fe-Mo ニトロゲナーゼを使って窒素を固定する。窒素サイクルは極めて初期に成立した可能性がある。いくつかの種は窒素を放出し、別の種は窒素を大気海洋系から摂取していた。窒素固定は水素の放出と密接に関係する。 N_2 が NH_3 に還元される過程では、8つの電子が消費される(6つは 2NH_3 を作るため、2つは H_2 をつくるため)。おそらく、ニトロゲナーゼは H_2 を使用するメタン生成と密接に関連し、アンモニアを作るために進化したと考えられる。嫌氣的バクテリアの進化で、地球的スケールでの生物圏は豊富になった。バクテリアはイオウ・炭素・窒素を循環し、その地球的なフラックスは火山の様な非生物的なものよりはるかに大きかったと思われる。

3.5.2. 酸素発生型光合成

酸素発生型光合成の発達今日の生物圏を作った。水・二酸化炭素・光というありふれた材料の利用は地球全体を居住可能にする最終的な代謝ステップであった。代謝廃棄物は単純に蓄積する。シアノバクテリアがまき散らす二次生成物はその隣人にとって毒素であった。シアノバクテリアは副成分のシステムを獲得していた。おそらく、酸素発生型光合成は紅色細菌の光合成システム II や緑色細菌の光合成システム I の後で進化した (Nisbet and Fowler, 1999)。

酸素発生型光合成の進化については多くの議論がある (Blankenship, 2001; Nisbet and Fowler, 1999)。全ての光合成は似た様なものであり、共通の起源を持っているに違いない。熱帯の土壤に住む非酸素発生型光合成細菌であるヘリオバクテリアはシアノバクテリアのクロロフィル a に類似したバクテリオクロロフィル g を用いる。ヘリオバクテリアはシアノバクテリアの祖先に最も近い光合成遺伝子を持った細菌である (Xiong et al., 2000)。おそらく、両者の先祖は、*Chloroflexus* の様な緑色細菌の光合成反応システムであろう。光合成プロセスは別として、何が宿主細胞になったのだろうか？ 1つの可能性は、シアノバクテリアの細胞が、周囲に住んでいたバクテリアと紅色あるいはヘリオバクテリアの間で起った遺伝子交換により作られたキメラであったという考えだ。この事は、紅色バクテリアがシアノバクテリアの先に進化していたことを意味する。おそらく原始的な反応システムが最初に進化し、その後の突然変異により緑色イオウ細菌やヘリオバクテリアの祖先が進化した (Dismukes et al., 2001)。さらに想像すると、2つの異なる細菌が酸化還元境界を超えて共生パートナーになり、PSI と PSII の遺伝子が合同した。もう1つの可能性は、紅色細菌の中で光合成が発達した後で、Mg テトラピロール遺伝子がシアノバクテリアの先祖へと転移し、遺伝子複製と関連してシアノバクテリア反応中心 II が出来たというものである (Xiong and Bauer, 2002)。

シアノバクテリアの進化は生命の日光利用能力を向上し、大気へと廃棄された酸化力から還元的な化学種を隔離した。これらの細胞は最も普通にある材料（水・光・空気）を用いて光合成し、窒素を固定し、必要であれば嫌気的条件下でも成長する。窒素の供給は生産性を制限する鍵であり、シアノバクテリアは窒素を固定する。このプロセスは異質細胞中での低い酸素張力を必要とするが、シアノバクテリアは酸素を発生する化合物を用いて、酸素を廃棄することが可能である。アンモニアからの窒素固定は酸素分子を必要とし (Falkowski, 1997), このプロセスは酸素発生型光合成の後に進化したと考えるのは合理的だ。しかし、逆に、生命が利用可能な窒素の供給が無い限り、酸素発生型光合成は汎世界的に広がることは出来ない。シアノバクテリアは現在も熱帯海洋に広く生息し、植物中の葉緑体もシアノバクテリアを同じ効果をもたらしている。

現在の呼吸がミトコンドリアにより行われていることを考えると、同じ効果を持つプロテロバクテリアの進化により、現在と同様の生命サイクルが始まったと言える。

酸素発生型光合成は普遍的に存在する水から水素を取り除き、生命を還元的ガスへの依存から解放した。そのため、生産性は還元剤により制限されず、代わりにリン酸の様な栄養塩に制御されるようになる。最近のデータは酸素発生型光合成が、大気の酸素濃度が増加した 24-23 億年前に先立つ事をしめす。27 億年前の地層からは、 2α メチルホパンが酸素発生型のシアノバクテリアの証拠として提示されている。また、37 億年前の炭素同位体比も光合成の存在を示唆するが、それは非酸素型光合成でも可能だろう。

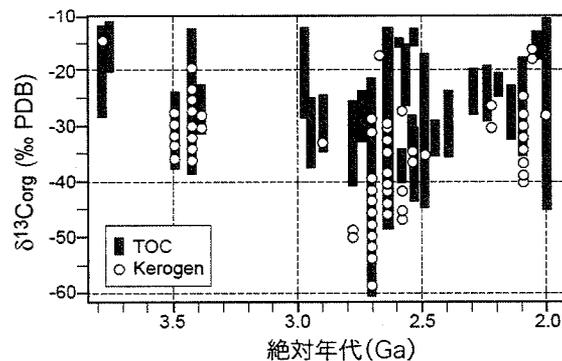


図 25. 38~20 億年前の有機炭素の炭素同位体比 (Pavlo et al., 2001 に加筆). 35 億年前の試料にも十分な分別の痕跡が認められる。27 億年前の値が極端に低くなっていることに注目

3.6. ストロマトライト

ストロマトライトは Kalkowsky (1908) によって作られた言葉。研究者の中には、ドーム状・柱状の外形を持つものに限定する人もいるが、Riding (2000) はこの言葉を平坦なラミナを持つ堆積物に対して用いても良いとしている。ストロマトライトは炭酸塩である必要はなく、珪質でも蒸発岩でも良い。炭酸塩-珪酸塩によるドームも存在している (Martin et al., 1993)。デンドライトやスロンボライトとは異なり、多くのストロマトライトは石灰化したサヤを欠いている。

古くから広く使われている言葉だが、ストロマトライトには一般的に受け入れられた定義が無い。Kalkowsky (1908) は縞状で微生物的であることを意味したが、明確な定義を行わなかった。1970 年以降、堆積学的研究は、1) 全ての微生物堆積物が縞状ではなく、2) 過去の堆積物について生物関与を提示することは困難であることが示された。これら 2 つの複雑さから、新たな定義は、研究目的とは違う主旨でされている。Awramik and Margulis (1974) の定義は「微細組織を持つ全ての微生物堆積物」というものであるが、Semikhatov et al. (1979) は「生物起源の有無を問わず全ての縞状堆積物」と定義した。

1970 年代にはストロマトライトについてのセミナーの成果が公表された (Walter, 1976) が、ここでの定義は巨視的組織により微生物堆積物を区別していなかった。微視的に斑状組織を持つ堆積物に与えられたスロンボライトという定義 (Aitken, 1967) も受け入れられ、Awramik and Margulis (1974) の定義をやや変更し、微生物による縞状堆積物という定義が採用された。しかし、この定義は、微生物起源という前提の上に、縞状組織という限定を入れるものであり、「組織」と「起源」を両立させ、あまりに混乱している。そのため、Burne and Moore (1987) は Awramik and Margulis (1974) の見解を受け入れる形で、より広い言葉であるマイクロバイライトを提案した。これは、ストロマトライト (縞状) のみでなく、デンドライトやスロンボライトをも包括する言葉である。

多様性—ストロマトライトは極めて多くの起源と組成を持ち、多様な縞の性質を示す。時折付加する現象が

縞状組織を作り、それは季節的な成長でもありうる。ラミナはストロマトライトの鍵となる特徴であり、大部分の先カンブリア紀のストロマトライトは明瞭で連続的なラミナで特徴付けられる (Walter 1972)。

骨格性ストロマトライト (skeletal stromatolite)—生物がその形成に関連するストロマトライトは石灰化した化石として保存される (Riding, 1977; または Monty 1981 の porostromate stromatolite)。微生物化石に骨格という言葉を用いるのは抵抗があるが (Golubic and Campbell 1981)、主にシアノバクテリアである石灰化された微生物の明瞭さと強固さを示している。骨格オンコイドは古生代～中生代の海洋環境の他に、現世の石灰岩地帯の河川にも認められる。骨格ストロマトライトはあまり一般的ではない、それは直立したフィラメントが樹枝状組織を作り、ラミネーションの発達を妨害するためである。

付着型ストロマトライト (agglutinated stromatolite)—粒子状堆積物のトラップとバインドにより作られたもの (Riding 1991b)。これらはミクライトから小石サイズの堆積物を含むが、最も多いのはシルトかより粗粒のサイズである。粒径が大きくなると、層は不明瞭になり、ドームや柱状堆積物中で部分的にスロンボライト様の組織になる。この傾向は、有名なシャーク湾やリーストッキング島の例にも見られる。過去の粗粒ドームの例は極めて稀である (Braga et al., 1995)。

細粒ストロマトライト—細粒ストロマトライトの解釈は挑戦である。これらは付着したものか沈澱したものか (Fairchild, 1991)、あるいは微生物が関与しているか不明である (Riding and Sharma, 1998)。この疑問は原生代の試料で重要である、それらは大きく突出した円錐体を作り、現世のアナログが無い。ただし、細粒ストロマトライトは現世の熱帯の様々な環境、アンドロス島の湿った海岸から蒸発性のサブカに発達する。新第三紀のサンゴ礁堆積物にも大きな細粒ストロマトライトが発達する。

トゥファストロマトライト—淡水河川のトゥファは部分的にオンコイドや厚い縞状のクラストを作り、その中にはシアノバクテリアの被覆されたサヤが認められる。従って、これらのトゥファストロマトライトは主に微生物上での沈澱により形成される。この点で、微生物（のサヤ）内に沈澱する骨格性ストロマトライトとは区別される。ただし、沈澱のサイトやラミナの性質は環境や生物に関係し、受胎したサヤ（サヤ内での沈澱）は湖水環境で一般的なる。トゥファは *Cladophora*, *Gongrosira*, *Oocardium*, *Vaucharia* などの層類を含み (Wallner, 1934; Golubic 1976)、組織が粗くなる。緑藻類に被覆された大きなトゥファは局所的にストロマトライト様クラストを作る。ニューヨークのグリーン湖に見られる様に、湖でのトゥファクラストは微生物に富み、複雑なメートルスケールのドーム状マウンドを作る。

3.6.1. ストロマトライトの時間的トレンド

微生物や他の生物の進化や地球環境の変化に応じて、35 億年間に微生物炭酸塩は変化してきた。微生物炭酸塩はストロマトライトの形として広く豊富に存在するという古典的な見方は先カンブリア紀にはあてはまるが、顕生代における後生動物や他の真核生物との競争は、微生物炭酸塩を高塩分濃度のシャーク湾の様な環境へ追いやった。この考えはどれほど真実なのか？ ここでは微生物炭酸塩の時間的空間的分布を支配する要因について考える。

グリーンランド・イスアの炭素同位体比は 38 億年前に微生物が存在したことを証明したが、現時点で知られている、最も古い化石は 34.5 億年前のシアノバクテリアに似たフィラメント状の有機物である。ストロマトライトはこれと同じ岩石ユニットに存在し (Lowe, 1980)、微生物と微生物炭酸塩が共存していると言える。ただし、これを含む 32 億年前以前のストロマトライトが生物起源であるという事に対して疑問が投げかけられている (Lowe, 1994)。

始生代のストロマトライトの報告例は過去 20 年間で、11 (Walter, 1983) から 32 (Hofmann 2000) に増加した。最も古い例はドーム・円錐・層状の珪化した石灰岩/苦灰岩である。その典型的な堆積場は小さなクラトンの中に発達した蒸発性盆地であり、活発な火山活動が少なさの原因であると示唆されている (Walter, 1994)。同様に 28 億年前でのストロマトライトの頻度とサイズの増加 (Walter, 1994; Hofmann,

2000) はクラトンの大きさの増加とより安定した(火山活動が少ない)条件を反映している可能性がある。

後期始生代からは 20 以上のストロマトライトの形態タイプが報告されている (Hofmann, 2000). 28 億年前から中生代の終わりである 10 億年前はストロマトライトの黄金期である (図 26). 形態は多様であり, 潮汐平底の層状で小さい突起を持つタイプ, 浅い潮下帯で発達したドームや枝分かれした柱状のもの, 深海での円錐体などがある. 明瞭な放射繊維質 (radial fibrous; セメント沈澱形態の一つ) を持つ微少突起型形態は 27 億年前に豊富になる (Hofmann, 2000).

これらは種として *Asperia* とか *Pseudogymnosolen* と命名され (Liang et al., 1985), 潮汐平底トゥファ (tidal flat tufa) と呼ばれており (Grotzinger and Read, 1983), 微生物に関連している (Grey and Thorne, 1985), か無関係 (Hofmann and Jackson, 1987)の結論が出ていない。

ストロマトライトが長期間栄えたという見方に対して, ストロマトライトが結局は減少したという事も言える. いずれにせよ, ストロマトライトは 28-10 億年前の最盛期から減少した. これはローマ帝国の衰退に似ており, 衰退が始まると急速である. これに関連して, 初期の研究者 (Fischer, 1965; Cloud and Semikhatov, 1969) はストロマトライトの衰退は中期オールドビス紀以降であると記述している。

原生代でのストロマトライトの衰退はストロマトライトの分類学的データから最初に示された. 先カンブリア紀のストロマトライトは生層序の目的で北ウラルとシベリアで研究され (Cloud and Semikhatov, 1969; Semikhatov, 1980), 広く適用されてきたが, 多くの疑問が浮かんできた. ストロマトライトの分類群は統合的に定義できるのか? ストロマトライトの形態は, 生物, 環境, 無機的な付加のパターンのいずれか, あるいは全てを反映しているのか? 巨視的構造, 微視的構造, 外形のどれが最も重要か? 生層序が成立は, 微生物の時間的進化あるいは, 環境の変化を反映しているのか? ストロマトライトの外形は主に環境に支配されると Semikhatov and Raaben (1999) は示唆したが, これらの疑問は解決していない。

あいまいな点が残るものの, 多くの半リンネ的種属は膨大なデータセットを示す. ストロマトライトのタクサの年代的プロットは, 最後期原生代, 後生動物の進化とほぼ一致する約 6.75 億年前に劇的な減少を示す. データの再検討は, 衰退がより以前の 10 億年前から開始し, その後の新原生代で激減したとも示している (Walter and Heys, 1985). しかし, その後の検討では 20 億年前に減少が始まったという意見もある (Grotzinger, 1990; Grotzinger and Knoll, 1999), すなわち, ストロマトライトの減少は 20, 10, 6.75 億年前のいずれかの時期に開始したということになる。

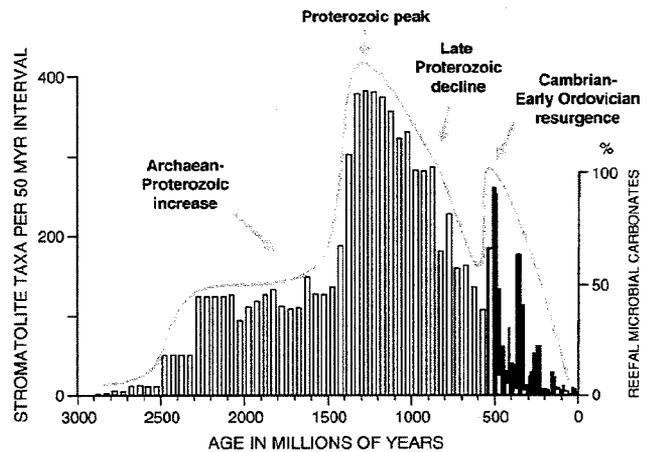


図 25. 過去 30 億年間のストロマトライトの多様度の変化. 5 千万年間の種数を示す. Awramik and Sprinkle (1999) を改変.

4. 研究方法

4.1. 多様な研究手法の適用

温泉堆積物は多様な微生物地球化学的プロセスの結果として生じたものであり、その理解のためには多様な研究手法を用いなければならない。研究代表者のグループに属する Takashima (2008MS) の研究では図 27 に示す多様な研究手法が応用された。研究の専門性が進む昨今では、研究者個人が特殊化した分析・解析手法のみを扱う傾向があるが、研究代表者はこの風潮は、総合的な視野を持つ研究者の育成という観点において好ましくないと考える。

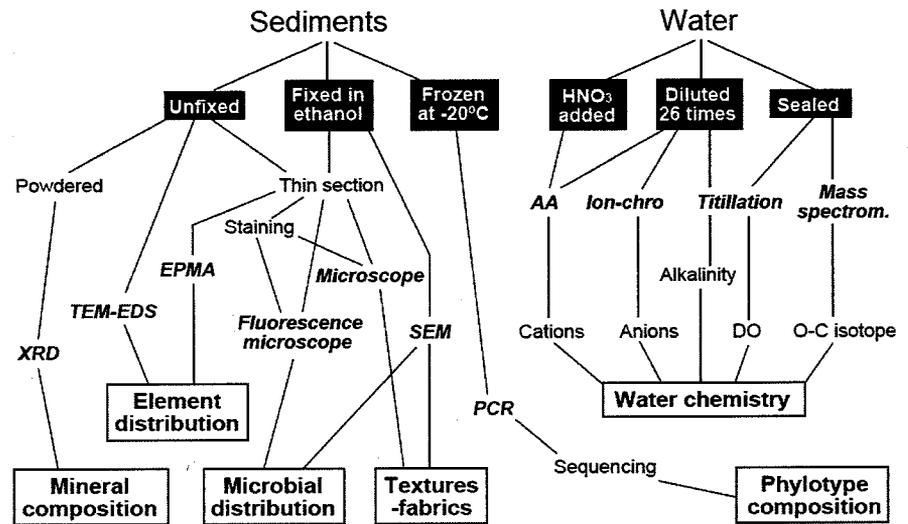


図 27. Takashima (2008MS) が温泉堆積物に適用した研究方法。

研究代表者はこれまでの研究で地球化学的な研究手法を習得し、それを別の報告書でとりまとめている（狩野, 2005）。そこで、この章では、本研究を実施するにあたり研究代表者が修得した「微生物学的研究方法」に絞って、まとめることとする。

4.2. 微生物の染色

バイオフィームや微生物マット内の細胞や細胞外ポリマーはコントラストが弱いので、通常の光学顕微鏡では観察が困難である。そこで、染色法が用いられる。染料は、脂質などの微生物成分と、イオン、共有、水素結合したり、微生物成分の中に溶解する。酸性染料はプラスに電荷した acidophilic 有機成分と結合する。アスパラ酸やグルタミン酸に富むものを除く、大部分のタンパク質は中性 pH 下で acidphilic である。塩基性染料はプラスの電荷を持つので、マイナスに電荷した basophilic 有機成分に結合する。カルボキシル基や硫酸基を持つ多糖類、アスパラ酸やグルタミン酸に富むタンパク質、リン酸基を含む拡散は basophilic である。脂質のような無極性成分は、凍結セクションに Sudan III や IV のような油に可溶性染料で染められる。これらの染料は脂質に溶解する。オスミウム 4 酸化物は細胞膜などの脂質に電荷を与え、透過型電子顕微鏡での観察を容易にする。この染料は不飽和脂肪酸鎖の 2 重結合と反応するとともに、DNA のチミンと非可逆結合する。これらに加えて、最近では多くの便利な蛍光染料が開発されている。例えば、SYPRO タンパク質ゲルはバイオフィームのパラフィンセクションに広く応用され、高い感度でのタンパク質の分布の観察が可能になった。

4.2.1. 試料の固定

バイオフィームは微生物マットは試料採集直後に透過型顕微鏡や環境走査型電子顕微鏡により観察が可能である。最新のレーザー顕微鏡は断面観察に用いることができるが、レーザーの透過震度には限界があり、試料の z 軸方向の観察には、薄片の作成が必要である。これは、微生物試料の深度断面での群集組成の違いや石灰化などの現象を検討する際に特に有用である。しかし、そのためには、試料の腐敗などを防止するために、固定処理を行う必要がある。以下の 4 つの異なる固定法を共用するのが望ましい。

電子顕微鏡用のサンプル：現地の水をカコジル酸 (cacodylic acid) でバッファーしたものに4%のグルタルジアルデヒド (glutardialdehyde; GDA) を加えた溶液に浸す。あるいは、GDA のみではなく、GDA (0.5-2%) とホルマリン (2-3.5%) の溶液でも良い。GDA はタンパク質のアミノグループと反応し、微細組織を明瞭に引き立たせる。次に、オスミウム4酸化物を添加し、TEM 観察でのコントラストを上げる。カコジル酸やオスミウム4酸化物は極めて毒性が強く、高価である。したがって、サンプルは最大でも直径1cm に留めて、試験管内で固定すると良い。

LR-White を用いた封入用サンプル：まず、リン酸でバッファーした現地の水に4%ホルマリンを加えたもので固定する。このサンプルは一塊で染色が可能で、それを行った後で、LR White 樹脂に封入する。これにより光学・蛍光顕微鏡での観察や、電子顕微鏡のバックスキャッターや鉍物認定が可能になる。

Technovit を用いた封入用サンプル：同様に、リン酸でバッファーした現地の水に4%ホルマリンを加えたもので固定する。その後、Technovit 樹脂に埋包し、薄片を作成して、通常染料や遺伝子蛍光プローブ法での観察を行う。ただし、埋包時には脱水などの影響による問題が生じ、鉍物の表面までが染色されてしまうことがある。

パラフィン切片用のサンプル：同様に、リン酸でバッファーした現地の水に4%ホルマリンを加えたもので固定する。次に、鉍物成分を除去して、試料をパラフィンに埋包し、切片を作成する。この方法は通常染料や遺伝子蛍光プローブで染色するために適している。

4.2.2. TEM 観察用プロトコル

[準備するもの]

カコジル酸バッファー：現地の水 1170mL に対して、25-100g の $C_2H_6AsO_2Na \cdot 3H_2O$ (カコジル酸ナトリウム水和物) を添加する。25g の添加で pH は 7.4 に、100g の添加で pH は 8.3 になる。

固定液：現地の水 981mL に対して、25-100g の $C_2H_6AsO_2Na \cdot 3H_2O$ (カコジル酸ナトリウム水和物) と 187mL の 25%GDA を添加する。25g の添加で pH は 7.4 に、100g の添加で pH は 8.3 になる。

オスミウム溶液：細口褐色ガラス瓶の中で、水 25mL に 1g の OsO_4 を溶解する。この溶液1に対し、上記のカコジル酸バッファーを3加える。

その他：5%フッ化水素 (珪酸鉍物の溶解) と 0.1 モル $Na_2 \cdot EDTA \cdot 2H_2O$ (炭酸塩の溶解)

[手順]

温度 4°C (氷の上もしくは冷蔵庫の中) で、試験管の中でサンプルを固定液に2時間浸す。

カコジル酸バッファーで洗浄する (ここまではフィールドで)。冷暗所に移し、実験室に輸送する。

温度 4°C で、サンプルをオスミウム溶液に1~2時間浸す。

カコジル酸バッファーで3回洗浄する

4.2.3. 光学顕微鏡観察用プロトコル

[準備するもの]

リン酸バッファー：リン酸二水素カリウム (KH_2PO_4) 13.61g を現地水 1000mL に溶解したものを [液 A]、リン酸水素ナトリウム (Na_2HPO_4) 17.8g を現地水 1000mL に溶解したものを [液 B] とし、現地の pH に合わせて、液 A と液 B の比率を変える。A:B = 4:6 の時は pH = 6.98, A:B = 2:8 の時は pH = 7.38, A:B = 1:19 の時は pH = 8.04 である。現地の水がアルカリ性の場合は、炭酸バッファーを用いる。

ホルマリン固定液：リン酸バッファー900mL に 37%ホルマリンを 100mL 添加する。

[手順]

温度 4°C (氷の上もしくは冷蔵庫の中) で、サンプルをホルマリン固定液に4~8時間浸す。

リン酸バッファーで洗浄する (ここまではフィールドで)。冷暗所に移し、実験室に輸送する。

脱水操作を行った後に、適切な樹脂やパラフィンに埋包する。脱水方法は埋包剤によって異なる。

[LR White medium grade (London Resin Company) を用いた埋包]

脱水：15%，30%，50%，70%エタノールに順次 30 分づつ浸し，90%，99%エタノールに1時間浸した後に，99%エタノールに最低12時間浸す。

埋包：冷蔵庫の中で，LR White：エタノール=1：2および1：1の樹脂溶液にそれぞれ18時間浸した後，LR White のみのものに18時間浸す（これらの樹脂溶液は使い回しが可能）。次に，室温でLR White に最低1時間浸し，40℃で1時間，60℃で24時間放置し固化させる。この時，酸素に触れると気泡が生じるので，密閉した容器の中で作業を行う。

[Technovit 7100 (Heraeus Kulzer) を用いた埋包]

脱水：脱水：15%，30%，50%エタノールに順次 30 分づつ浸し，真空デシケーターの中で70%，90%エタノールに1時間，99%エタノールに2時間浸透を2回繰り返す。

埋包：冷蔵庫の中で，Technovit：エタノール=1：1の樹脂溶液に2時間浸した後，4℃の条件で，真空デシケーターの中でTechnovit に凝固剤Ⅰを加えたものに一晚浸す。最後に，室温でTechnovit に凝固剤Ⅰと凝固剤Ⅱを加えたものに1時間，30℃で1～2時間で固化させる。これも，酸素が入らない様に行うこと。

[パラフィンを用いた埋包]

脱水：15%，30%，50%エタノールに順次 30 分づつ浸し，70%，90%，99%エタノールに1時間浸した後に，キシレンに最低1時間浸す。

埋包：融解したパラフィンにサンプルを1時間埋包する。特に，FISH で用いるサンプルについては1時間以上は埋包しない。次に，気泡を追い出すために，60℃で真空デシケータの中に入れる。埋包を完全にするために，裏側からもパラフィンを注入する。最後に，これをマイクロトームで切片を作る。

染色のための前処理：染色やFISHの観察をするためには，パラフィンを取り除いた方が良く，キシレンに10分，キシレンに2分を2回，99%エタノールに2分を2回浸す。トルイジンブルーのようなエタノールに溶解する染料の場合，染色はそのまま行える。しかし，水溶性の染料を用いるときは，試料を再加水しなければならない。これは，90%，70%，50%エタノールに2分づつ浸し，最終的に脱イオン水に浸す。

4.3.4. 染色方法と染料の詳細

パラフィンの試料は様々な染料に良く染まる。Technovit の試料は通常染料で良く染まる。この樹脂のメチルメタクリレートポリマーのメッシュが大きいからである。LR White の試料はエタノールに可溶性染料でしか染まらない。

[トルイジンブルーO/塩基性フクシン]

30%エタノール溶液に0.73gのトルイジンブルーOと0.23gの塩基性フクシンを溶解させる。pHは6-7に調整し，これを染色液とする。原核生物の細胞と真核生物の核はトルイジンブルーで強く染まる。真核生物の細胞質は弱い青で染色されるのに対し，細胞外ポリマーは弱い赤かピンク色に染まる。

手順：厚さ20-200ミクロンのセクションであれば，1-5分で染色が可能される。

試料を水洗した後に，99%エタノールでバックグラウンドになるトルイジンブルーを取り除く。

プレパラートを作る。この手順はLR Whiteで作成したプレパラートにも適用できる。

[アルシアンブルー/nuclear fast red]

アルシアンブルーは陽イオン的で水溶性の染料であり，酸性のムコ多糖類などを染色する。これは電気的な力で負に帯電したカルボキシル基・リン酸基・硫酸ムコ成分に結合する。pHの調整や塩化マグネシウムの添加により，カルボキシルとムコ成分を区別して染めることも可能。Nuclear fast redは核酸を赤く染める。

溶液：Nuclear fast red/硫酸アルミニウム溶液：100mLの水に硫酸アルミニウムを1.5溶解し，nuclear fast redを0.1g沸騰させ，冷却後にフィルターをかける。

アルシアンブルー-8GX (pH 2.5) 溶液：3%氷酢酸の 100mL の水にアルシアンブルー-8GX を 1.0 溶解する。

手順：脱ロウしたパラフィンセクションを水になじませる。

3%氷酢酸溶液に 3 分間浸す

アルシアンブルー溶液に 30 分間浸し、

蒸留水で洗浄する。

Nuclear fast red 溶液に 3-5 分間浸し、蒸留水で洗浄する。

70%、90%、99%エタノールで各 1 分間脱水し、キシレンで洗浄し、プレパラートを作成する。

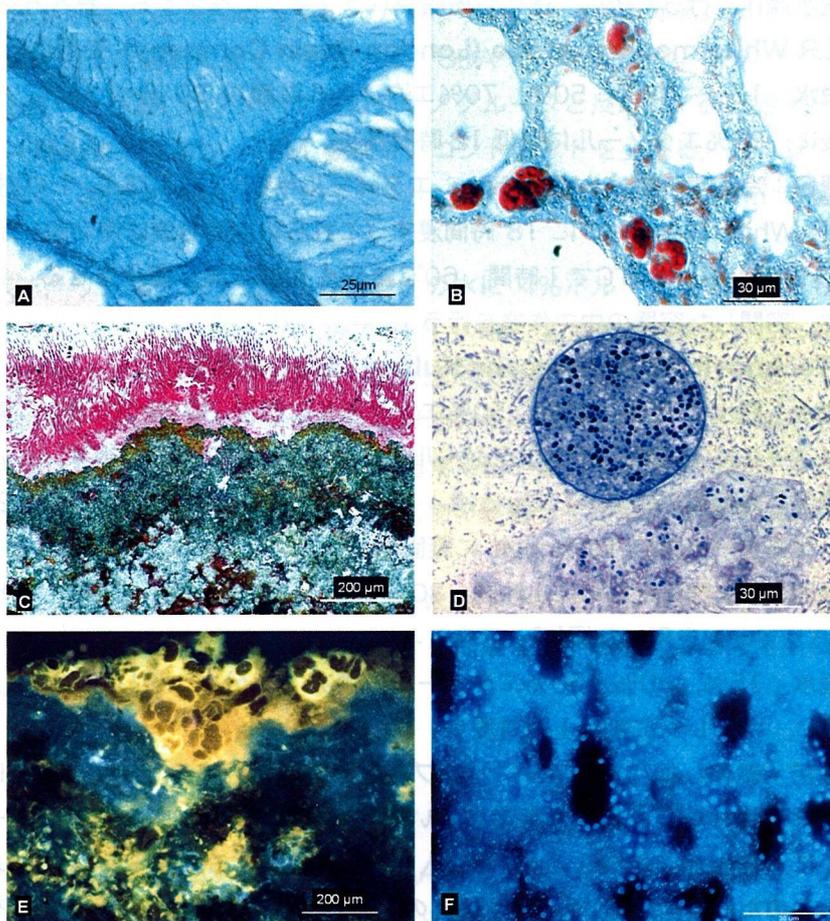


図 28. 染色による微生物組織の例。(A) 黒海のメタン湧水から採集した微生物マットのパラフィンセクションをアルシアンブルーで染色したもの。大部分が多糖類で構成される細胞外高分子物質は酸性であるために弱い青色で染められている。(B) 海綿動物 *Vaceletia* のパラフィンセクションをアルシアンブルーと nuclear fast red で染色したもの。高い多糖類含有量により間充ゲル (mesohyl) に富む細菌が青く染まっており、海綿の細胞核は赤く染まり、細胞室はピンクに染まっている。(C) ネバダ州ウォーカー湖のストロマトライトの LR White で固定した試料をマイクロトームで切断したもの。表面のシアノバクテリアのバイオフィームは塩基性フクシンで染色しており、細胞は濃いピンク色で染められている。写真下部のストロマトライト中の空隙にある分解された有機物は赤褐色に染められている。(D) LR White で固定した黒海の微生物マットの薄片試料。原核生物の細胞はトルイジンブルー-O により青く染められている。長い棒状の細胞は ANME1 タイプ、球形の細胞は ANME2 タイプの細胞であり、どちらも嫌氣的メタン酸化の古細菌である。(E) 西オーストラリアのテイス湖のストロマトライトを LR White で固定したもの。黄色い傾向はカルセインにより染色されたココイドシアノバクテリアの細胞外物質である。(F) 典型的な細菌スポンジである *Geodia macandrewii* の DAPI で染色した LR White 切片。海綿の 60% は細菌で構成されている。

4.4. 遺伝子蛍光プローブ法 (Fluorescence in situ hybridization; FISH) 法

FISH 法とは蛍光物質や酵素でラベリングされたオリゴヌクレオチドプローブを用い、特定の遺伝子とハイブリダイズさせ、蛍光顕微鏡で観察することで、微生物の存在を種・属単位で確認することができる方法である。近年、生命地球科学の分野で応用されつつあり、微生物の単離・培養・遺伝子解析というステップを踏まずに微生物の群集解析ができ、さらにその空間分布の情報も得ることができる。FISH の応用については、Amann et al. (1990) や Manz et al. (1992) が提供している。酵素でラベリングされたプローブやシグナルの増幅については Perthaler et al. (2004) が記載している。パラフィンや Technovit により固定されたセクションへの FISH の応用については Manz et al. (2000) が記載している。

ここでは、この分野で最先端の研究を行っているドイツのゲッティンゲン大学地球化学センター地球生物学部門で、指導学生の奥村知世が 2007 年 12 月に実習してきた内容を紹介する。この研究室では、従来、医療の分野で用いられていた FISH 法や組織学的染色を、微生物が関与してできたトラバーチンやトゥファに適用させた研究を行っており、サンプルの前処理・FISH 法に用いる薬品や機器、観察に用いる二光子励起レーザー走査型顕微鏡 (2P-LSM)・共焦点レーザー走査型顕微鏡 (CLSM) といった設備が整っている。実習はゲッティンゲン大学の Dr. Gernot Arp 氏と白石史人氏の全面的なご協力のもと行なわれた。奥村さんは、2007

年 8 月 30 日にアメリカのユタ州グリーンリバーのクリスタルガイザーで採集したトラバーチンと、11 月 19 ~20 日に大分県長湯温泉で採集したトラバーチンの計 8 試料について観察を行った。

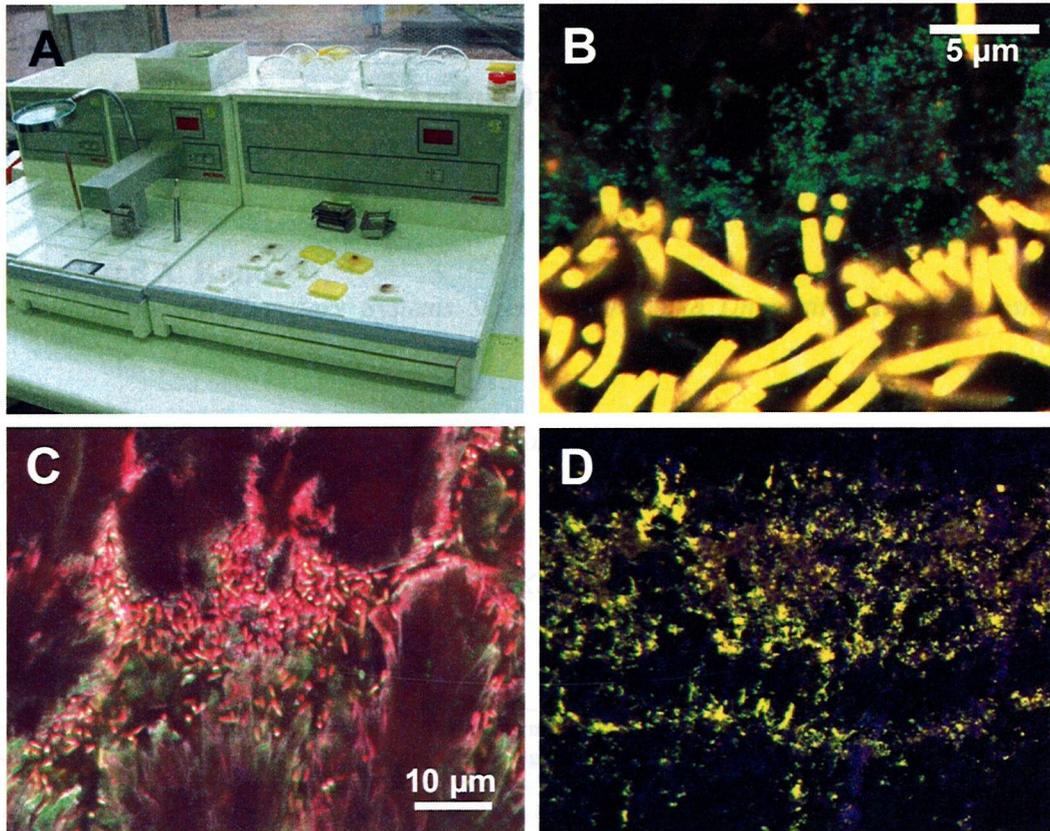


図 29. (A) パラフィン作成装置。(B)ながの湯のトラバーチン試料表面の FISH 画像。緑色は β -プロテオバクテリア。黄色はシアノバクテリアである。(C) 郷の湯のトラバーチンををカルセインで染めた薄片写真。淡い紫色の物体は β -プロテオバクテリアだと思われる。薄い緑色はアラゴナイトの針状結晶。(D) ながの湯トラバーチンの FISH 画像。黄色は β -プロテオバクテリアであり、層状に分布している。これらは昼間にトラバーチン表面で光合成を行っていたと考えられる。

Selected references

- Amann, R.L., Krumholz, L. & Stahl, D.A. (1990) Fluorescent-oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology. *Journal of Bacteriology* **172**(2): 762-770.
- Catling, D.C., Zahnke, K.J. & McKay, C.P. (2001) Biogenic methane, hydrogen escape, and the irreversible oxidation of early Earth. *Science*, **293**, 839-843.
- Holland, H.D. & Turekian, K.K. (2005) Biogeochemistry. Treatise on Geochemistry vol. 8, 702pp. Elsevier.
- Manz, W., Amann, R., Ludwig, W., Wagner, M. & Schleifer, K.H. (1992) Phylogenetic oligodeoxynucleotide probes for the major subclasses of Proteobacteria: Problems and solutions. *Systematic and Applied Microbiology* **15**: 593-600.
- Manz, W., Arp, G., Schumann-Kindel, G., Szewzyk, U. & Reitner, J. (2000) Widefield deconvolution epifluorescence microscopy combined with fluorescence in situ hybridization reveals the spatial arrangement of bacteria in sponge tissue. *Journal of Microbiological Methods* **40**: 125-134.
- Pavlov, A.A., Kasting, J.F., Eigenbrode, J.L. & Freeman, K.H. (2001) Origin haze in Earth 1 s early atmosphere: Source of low- ^{13}C Archean kerogens? *Geology*, **29**, 1003-1006.
- Pernthaler, A., Pernthaler J. & Amann R. (2004) Sensitive multi-color in situ hybridization for the identification of environmental microorganisms. - In: Kowalchuk, G. et al. (eds.) *Molecular Microbial Ecology Manual*, 2nd Edn., 3.11: 711-726. Dordrecht (Kluwer Academic Publishers).
- Riding, R. (2000) Microbial carbonates: the geological record of calcified bacterial-algal mats and biofilms. *Sedimentology*, **47**, 179-214.
- Roden E.E., Sobolev D., Glazer B., & Luther G.W. (2002) New insights into the biogeochemical cycling of iron in circumneutral sedimentary environments: Potential for a rapid microscale bacterial Fe redox cycle at the aerobic-anaerobic interface. In: *Iron in the Natural Environment: Biogeochemistry, Microbial Diversity, and Bioremediation* (ed. J. D. Coates and C. Zhang). Kluwer Academic Publisher.
- Shen, Y., Buick, R. & Canfield, D.E. (2001) Isotopic evidence for microbial sulphate reduction in the early Archean era. *Nature*, **410**, 77-80.
- Takashima, C. (2008MS) Biogeochemical Processes Forming Laminated Travertines: Analogy to Ancient Marine Environments. Dr. Thesis of Graduate School of Science, Hiroshima University. 94pp.

Laminated Iron Texture by Iron-Oxidizing Bacteria in a Calcite Travertine

C. Takashima and A. Kano

Department of Earth and Planetary Systems Science, Hiroshima University, Higashi-hiroshima 739-8526, Japan

T. Naganuma

Department of Environmental Dynamics and Management, Hiroshima University, Higashi-hiroshima 739-8528, Japan

K. Tazaki

Department of Earth Science, Kanazawa University, Kanazawa 920-1192, Japan

Accepted by *Geomicrobiology Journal*

An iron-rich travertine at Shionoha hot-spring in western Japan, displays a sub-millimetre order lamination consisting of microbially-induced ferrihydrite and calcite-matrix. The ferrihydrite occurs as 5- to 10- μm thick filaments that extend and apparently branch upwards. A sheathed morphotype having a meshwork of a rod-like organic substance and phylogenetically identified species of genus *Siderooxidans* were responsible for precipitation of the ferrihydrite. The iron oxidizers are microaerophilic and thrive on Fe(II) and a redox gradient, that are available at the study site near the vent. Bacterial activity enhanced ferrihydrite deposition at rate of $\sim 10\mu\text{m/day}$, and formed the laminated texture. The bacteria increased their density upward in each lamina and suddenly decreased the density at the top of the lamina. This change may have resulted from a deficiency of metabolic substances at the sediment-water interface when the iron-oxidizers became very dense or when other chemoautotrophs, such as methanotrophs, consumed oxygen on the surface. The metabolism of the microaerophilic iron-oxidizing bacteria that grow at neutral pH site contributes significantly to precipitation of iron deposits. Because the laminated textures observed in this study have a great preservation potential, they help to identify the contributions of iron-oxidizers to ancient BIFs and provide the criteria for pO_2 and pH of the ancient ocean.

Keywords iron-oxidizing bacteria, ferrihydrites, travertine, lamination, banded iron formation

INTRODUCTION

The role of bacteria in Fe(II) oxidation and precipitation of iron minerals has been widely recognized in redox interfaces of various marine and freshwater environments (Widdel et al., 1993; Konhauser, 1998; Kennedy et al., 2003; Kappler and Newman, 2004). Bacteria accelerate iron circulation in natural environments. At neutral pH, iron-oxidizing bacteria have been shown to precipitate iron minerals at rates up to four orders of magnitude higher than the inorganic precipitation rate (Kasama and Murakami, 2001). These bacteria thrive in a redox gradient where Fe(II) is present. A hot spring vent is one such environment, because the water contains sufficient Fe(II) which provides metabolic opportunities for iron-oxidizing bacteria and because the steep redox gradient that develops in the water immediately adjacent to the vent is also ideal.

Iron-oxidizing bacteria might be geologically significant in iron cycling at the Earth's surface. Some previous studies have examined their contribution to the formation of Archean-Proterozoic banded iron formations (BIFs; Holm, 1989; Chaudhuri et al., 2001; Konhauser et al., 2002). Moreover, considering the very low pO_2 of the ancient atmosphere, Holm (1989) suggested that microaerophilic species (e.g., *Gallionella*) were the organisms responsible for the deposition of these formations.

However, BIF formation is still being debated, and other

bacterial groups may have played roles in oxidizing iron. A traditional model for Precambrian BIFs is that iron oxidization was induced by cyanobacterial photosynthesis (Cloud, 1973). A supportive result for this model is reported from iron deposits from Chocolate Pots Hot Springs in Yellowstone National Park, in which the filamentous cyanobacteria bind the iron minerals (Pierson and Parenteau, 2000). The oldest molecular fossil indicating cyanobacteria (2.7Ga; Summons et al., 1999; Blocks et al., 2003) shows that cyanobacteria existed during the period of maximum BIFs deposition between 2.7 and 1.8 Ga (Goldich, 1973).

However, BIFs is also known in older strata, such as the 3.8 Ga Isua Supergroup in Western Greenland (Goldich, 1973). Another potential process is anaerobic photosynthesis that directly oxidizes Fe(II) as the electron donor under anoxic conditions (Widdel et al., 1993) and may have deposited in the early oxygen deficient ocean (Heising et al., 1999; Kappler et al., 2005). Present-day analogues to such organisms include the so-called purple and green bacteria (Heising and Schink, 1998).

The main objective of this study was to investigate microbial contributions to the fabric of an iron-rich deposit at Shionoha hot spring, a calcareous hydrothermal vent site where calcite travertines are being deposited (Takashima and Kano, 2005). The fabric of the deposits is noteworthy

in that it displays sub-millimetre lamination. We characterized the depositional and microbial properties of the deposits by using a wide range of analyses and investigated the evident contribution of iron-oxidizing bacteria to the formation of the “banded” texture of the iron-rich travertine.

Study site

Shionoha hot spring (34°15′, 136°02′; Fig. 1) is near the Yoshino River in Kawakami village, Nara prefecture. It is at the intersection of two major faults, an E-W-trending strike-slip fault (Butsuzo Tectonic Line) and a N-S-trending strike-slip fault (Shionoha fault). Both faults occur in Jurassic-Cretaceous accretionary complexes (Takashima and Kano, 2005).

The 38-°C water discharges naturally at a flow rate of 500 L/min from a 150-m-long borehole drilled in 1984. Half of the water is used in a public bath and the other half flows 70 m along a valley before discharging into the Yoshino River (Fig. 1). Travertines of various compositions and textures are deposited along the water passage. Near the borehole, water precipitates red ferrihydrite-rich deposits, and the iron content of the deposits decreases downcurrent. Ten to twenty metres downcurrent, the deposits become dominated by calcitic travertines, which form a 5-m-high dome with a steep slope of >30° (at site 4; Fig. 1). Thereafter, the water flows along the gently sloping (~10°) valley floor and joins the water drained from the public bath.

METHODS

Water samples were collected at six sites along the valley (Fig. 1) after measuring temperature and pH. DO (dissolved oxygen) was measured by using Winkler-method on six observation days; 22 August 2002, 19 April 2003, 22 September 2003, 19 April 2004, and 14 March 2005. Two different water sampling methods were applied to prevent changes in concentration of dissolved chemical components before the measurement: 1) with addition of 1M HNO₃ (containing 1%-La and 0.5%-Ce) of 10% volume of the water sample for cation (Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, K⁺, Fe²⁺) measurement with atomic absorption (Shimadzu AA-646), and 2) diluted 26 times with pure water for anion (Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻) measurement with ion-chromatography (JASCO Gulliver) and for alkalinity titration by titration with 0.05N H₂SO₄ (Bromocresol Green-Methyl Red method). Si (molybdenum yellow method) was measured with a spectrophotometer (Hitachi U-2810). DO, alkalinity and Si were measured within 3h in order to minimize the effects of mineral precipitation in the bottles. Pco₂ and

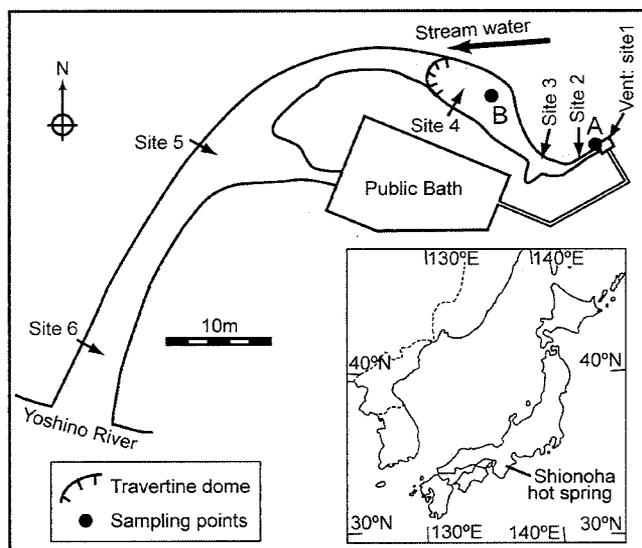


Fig. 1. Map of the travertine-bearing valley at Shionoha hot spring, showing locations of the sampled travertines (A, B) and water (sites 1-6).

saturation index for calcite (SIc) were calculated using the equations of Plummer and Bosenberg (1982).

Iron-rich deposits developed near the vent (sampling point A, Fig. 1) were collected for petrological, mineralogical, and microbial analyses in September 2003. Thin sections were made from samples dried at room temperature and hardened with ethanol-diluted epoxy resin. They were observed under an optical microscope, and elemental compositions of the observed fabrics were measured by electron probe microanalysis (EPMA; JEOL JXA-8200; accelerating voltage 15 kv, probe current 10 nA, probe diameter 10 μm).

For observation under a scanning electron microscope (SEM; JEOL JXA-8200), the specimens were etched in ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) solution and in warmed citric acid solution. The EDTA solution dissolves the calcite fraction of the specimen, whereas the citric acid dissolves both calcite and iron minerals without significant damage to the microbial texture. Elemental mapping by energy-dispersive x-ray spectroscopy with transmission electron microscopy (TEM-EDS; JEOL JSM-2010FEF) was performed. Moreover, X-ray diffraction (XRD) was performed using Mac Science M18XHF with CuK α radiation and a graphite monochromator for mineralogical analysis. Operating power in this study was 40.0 KV and 100.0 mA. To estimate the growth rate of the iron minerals, we embedded a stainless-steel nail at a site near the vent in September 2003 and recovered it in April 2004.

For the genomic analysis, a well-lithified sample was collected near the vent (point A) and immediately frozen at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. The surface of the sample was burnt with an acetylene torch to remove potentially contaminated or altered microflora. Bulk DNAs were extracted with an Ultra Clean Mega Prep Soil DNA Kit (MoBio Laboratories, Solana Beach, CA, USA) from approximately 45 g of the inner part of the sample crushed with a BeadBeater (Dojka et al., 2000). The purity of the prepared DNA solution was checked by the ratio of UV absorbance at wavelengths of 260 nm and 280 nm, and then the DNA was used as the template for PCR amplification. Near-full-length sequences (~ 1400 bp) of 16S rDNA gene were amplified by PCR with the bacteria-specific 27F forward primer (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') and the universal 1492R reversal primer (5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3') (DeLong, 1992).

The amplified 16S rDNA gene sequences were cloned into the TOPO TA plasmid to transform TOP10 *Escherichia coli* cells (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA, USA). Plasmids bearing the target inserts were extracted from randomly selected clones by using the alkaline

miniprep method (Sambrook and Russel, 2001). The target inserts were then sequenced by using a Dye Terminator Cycle Sequencing FS Kit (Perkin-Elmer, Wellesley, MA, USA) with an ABI model 373 automated DNA sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). The ClustalW program (Thompson et al., 1994) was used for multiple alignment of the 16S rDNA gene sequences, which were grouped into operational taxonomic units (phylotypes) on the basis of a nucleotide similarity of $>97\%$. No chimeric 16S rDNA gene sequences were detected by the program Chimera Check at the Ribosomal Database Project II and Bellerophon Server (Hugenholtz and Huber, 2003). The 16S rDNA gene sequences of the phylotypes were registered in the DDBJ.

RESULTS

Water chemistry

The vent emits calcareous sodium-chloride type water with high concentrations of Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^{+} , SiO_2 , and dissolved inorganic carbon. No dissolved oxygen was detected. Because of the non-equilibrium conditions between the water and the atmosphere with respect to O_2 and CO_2 , the discharged water quickly degasses CO_2 and absorbs O_2 (Fig. 2A), and the concentrations of dissolved components change downcurrent as a result of mineral precipitation. The water is clear near the vent, but it soon becomes cloudy because of the presence of suspended mineral particles.

Fig. 3 shows averaged values of chemical properties of water collected on 5 observation days. The downcurrent changes in the chemical composition of the water, measured at six sites, are consistent with the occurrence and composition of the deposits. Absorption of atmospheric oxygen quickly oxidizes dissolved Fe(II), which is precipitated as iron minerals. DO was undetected in water at site 1 and increased drastically to site 4 (6.2 mg/L). The concentration of the Fe(II) was 12.1 mg/L at the vent, and quickly declined to 7.4 mg/L between site 1 to site 3 (Fig. 2A) where iron-rich deposit develops. It further decreased to 0.9 mg/L at site 6, the most downcurrent measurement site (Fig. 2B). Deposits along the water passage became dominated by calcite downstream, but iron precipitation could still be recognized in the travertine dome (sampling point B, Fig. 1).

On the other hand, the equilibrated partial pressure of carbon dioxide (pCO_2) decreased from a high value at the vent (~ 1000 matm) to around 50 matm at downcurrent sites (Fig. 2A). This CO_2 degassing increased the saturation index for calcite, which reached the maximum of 1.34 at site 4 (Fig. 2C), where the travertine dome is

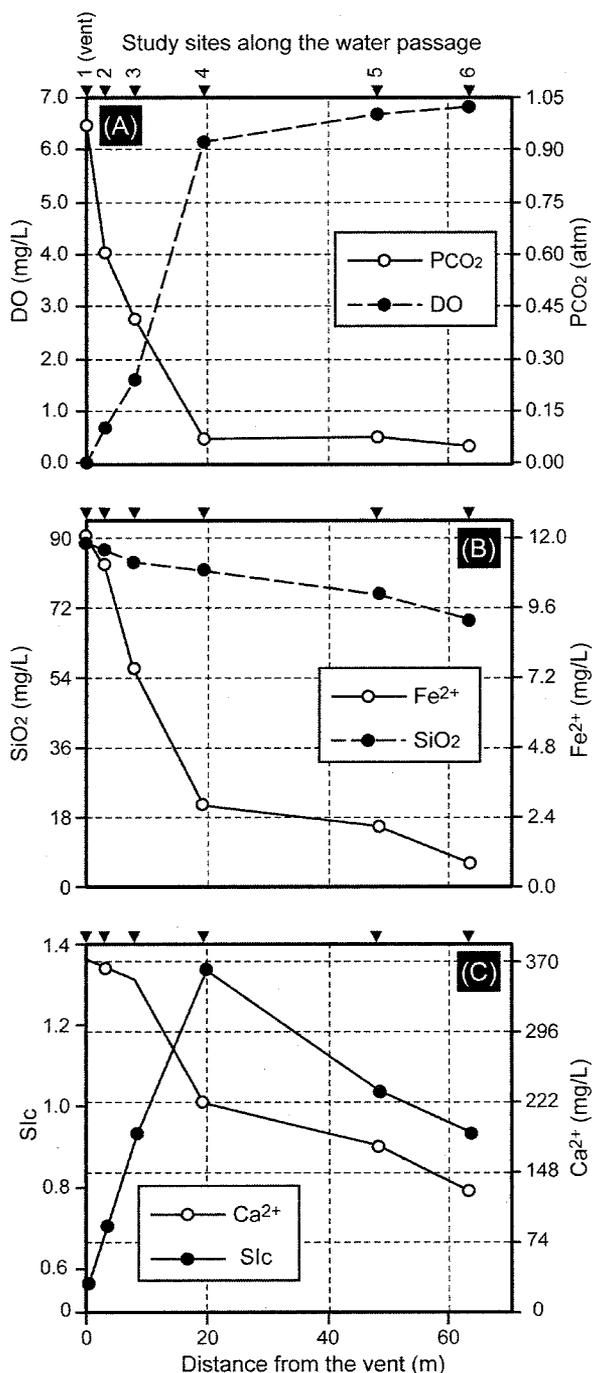


Fig. 2. Down-valley changes in the chemical composition of water. (A) Partial pressure of CO₂ and dissolved oxygen; (B) Fe²⁺ and SiO₂; (C) Ca²⁺ and SiC. Averaged values of 5 observation days are shown.

developed. The amount of the dissolved CaCO₃ remained high (Ca²⁺, 371 mg/L; alkalinity, 32.8 mM) to site 3, decreased sharply between sites 3 and 4, and then decreased gently from sites 4 to 6 (Fig. 2C).

Among other components, dissolved SiO₂ also showed an obvious decreasing trend downstream (Fig. 2B), whereas components such as Mg²⁺, Na⁺, K⁺, and Cl⁻ showed only a slight decrease, which can be attributed to the mixing of freshwater from the stream with the water drained from the public bath. The nitrate and sulphate concentration in the water was undetectable (Takashima and Kano, 2005).

Structures of the iron-rich deposits

The iron-rich precipitates develop as knob-like shapes ~10 cm in diameter in a water pool beside the vent (Fig. 3A), or as thin (<5 cm) crusts along the watercourse between the vent and site 2. Dissolved oxygen and pH at the sampling point A (Fig. 1) on 19 April 2004 were measured as 0.57 mg/L and 6.47, respectively.

A vertical section through a knob-shaped deposit shows a laminated texture (Fig. 3B). Each lamina ranges its thickness from 100 to 300 μm and consists of reddish brown and lighter colored parts. In magnified view, reddish brown filamentous structures can be identified in the deposit, with higher density in the reddish brown parts (Fig. 3C). The filaments often show dark-tinted axes, likely consisting of organic substances, and are encased in crystalline calcite (Fig. 3D). The filaments are 5–10 μm thick and extend and apparently branch upwards, forming a shrub-like or tree-like fabric that expands over a distance corresponding to the thickness of lamina. The shrub-like fabric stops at the level corresponding with the lamina boundary, where the filaments often occupy the whole space, and then restarts immediately above that level (Figs. 3C-E). Thus, the lighter colored parts are abundant in calcite that develop in space where filaments is poor, and the reddish brown parts are iron-rich parts where the filaments are highly branched. Because of upward branching filaments, the lower part of each lamina exhibit lighter color and the upper part are darker. These textural characteristics appear the lamination. In a part of the knob-like shaped precipitates, the reddish brown part can be developed massive, with thicknesses up to 5 mm (Fig. 3E).

Precipitates with a similar dendritic structure became encrusted on the nail at point A (Figs. 3F and G), although this structure showed neither lamination nor calcite encrustation. The thickness of the encrustation, which developed over a period of 7 months (from September 2003 to April 2004) was approximately 2 mm (Fig. 3G).

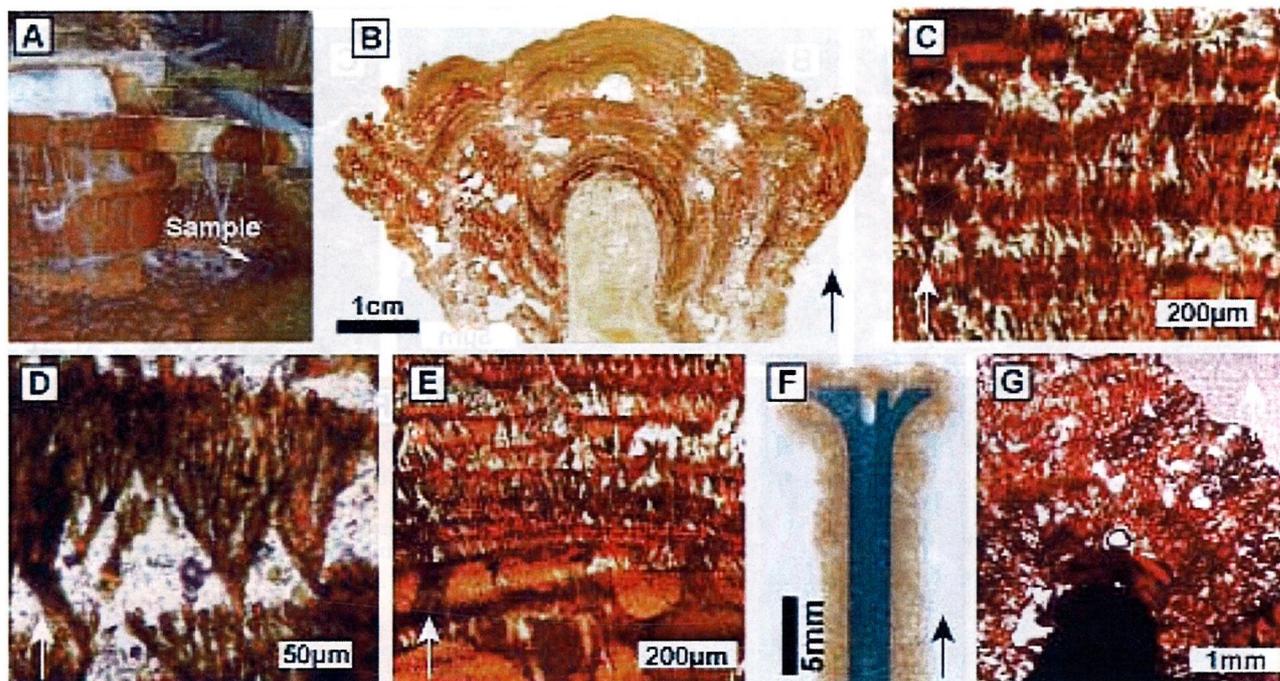


Fig. 3. Textures of the iron-rich travertine developed near the vent of Shionoha hot spring, SE Japan. (A) Photograph of the vent discharging water degassing CO₂. The travertine samples were collected from a small pool below the vent (point A; Fig. 1). (B) Thin section of a knob-shaped iron-rich deposit at point A. (C) Magnified view of the lamination, showing reddish brown laterally aligned shrub-like structures extending and branching upwards. (D) Reddish brown shrub-like structures consisting of filaments with black centres. The filaments are covered by calcite. (E) Stacked reddish brown shrub-like structures overlying a massive reddish brown layer. (F) Thin section of a nail recovered from point A and encrusted by iron precipitates ~2 mm thick, which formed over 7 months. (G) A magnified photograph of the tip of the nail, showing reddish brown shrub-like structures. The arrows in (B)–(G) show upward.

The SEM image of a sample etched in the EDTA solution showed a dendritic fabric of 5- μ m-thick filaments. The appearance of the surface indicated that the filaments consisted of spherical precipitates, ~1 μ m in diameter or smaller (Fig. 4A). A sample etched in citric acid showed a distinct bacterial structure (Figs. 4B, C). The spongy meshwork is composed of rod-like organic substances and the diameter of each rod was several hundred nanometres.

TEM observation of the powdered iron-rich travertine showed two types of organic texture. One was a unicellular bacterium shaped like a bent rod 100 nm wide and 300 nm long (Fig. 4D). The dark fringe on the cell is consistent with tiny mineral grains precipitated on or adsorbed to the cell wall.

The other texture was a curved fibrous substance 100 nm in diameter, with branched axes (Fig. 4E). Rhombic calcite crystals and spherical mineral aggregates 50 to 200

nm in diameter adhered to this structure. This fibrous organic substance may correspond to the sheath-like structures shown in Figs. 4B and C.

The sample collected from travertine dome (sampling point B, Fig. 1) encloses a leaf, which fell onto the travertine surface and then was covered by subsequent calcite precipitation. Precipitated iron can be seen below the leaf, but not in the first 3 mm above the leaf (Fig. 4F).

Elemental and mineral compositions

The XRD pattern of a powdered sample dissolved in the EDTA solution showed distinct peaks corresponding to quartz (black arrows in Fig. 5), and the background with two broad peaks at 35° and 62° in 2 θ (gray band in Fig. 5). These broad peaks correspond to poorly ordered two-line ferrihydrite (Vempati and Leoppert, 1986).

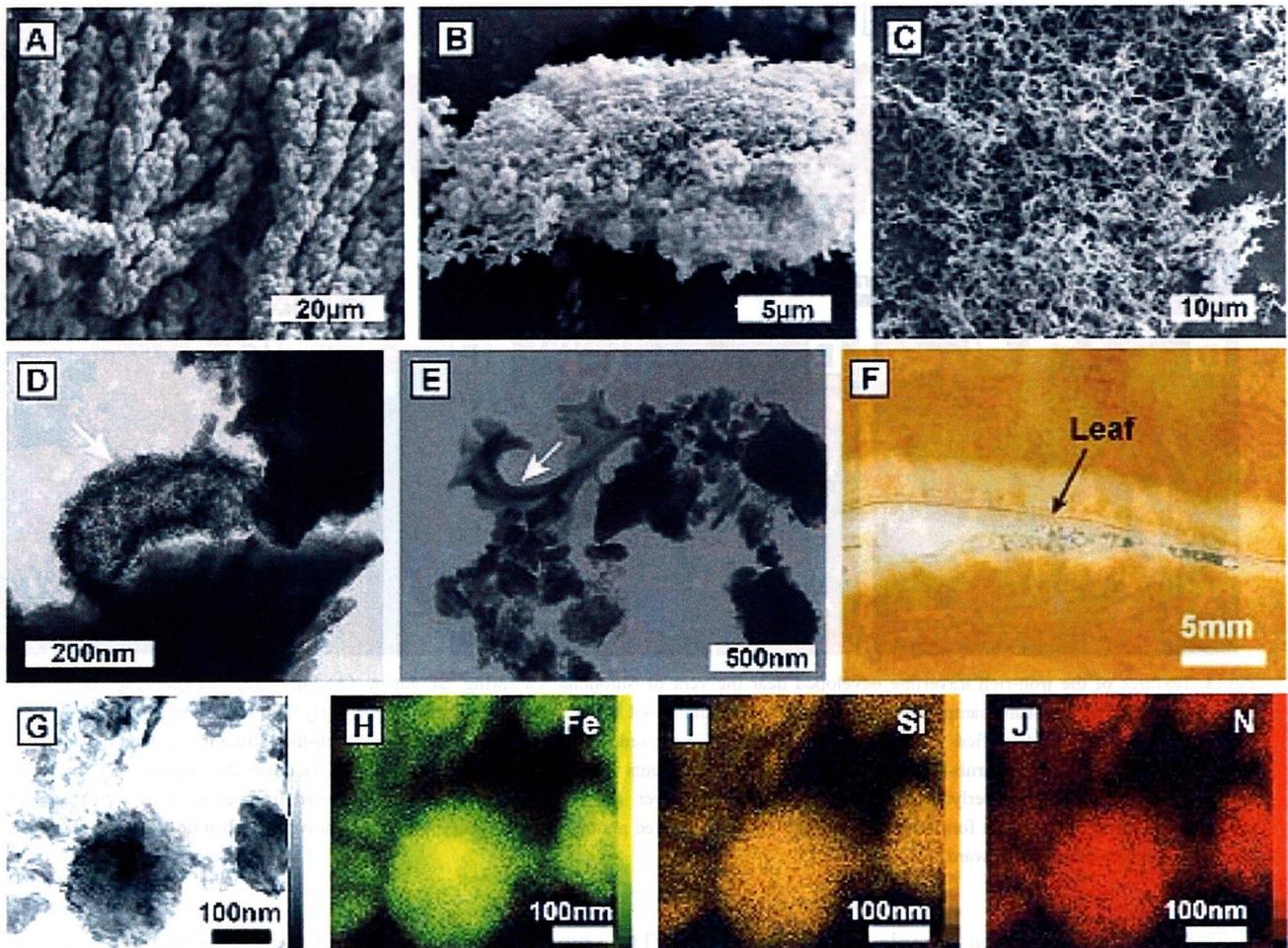


Fig. 4. Textures and elemental distribution of the iron-rich deposits. (A) SEM image of the filaments, showing that they are composed of spherical precipitates. (B) SEM image of the filaments etched by citric acid solution, showing a spongy meshwork of thin rod-like organic substances. (C) SEM image of the sheath-like material obtained from a specimen etched by citric acid solution. (D) TEM image of a cell of a possible iron-oxidizing bacterium (white arrow). (E) TEM image of the sheath-like material (white arrow) to which precipitated minerals are adhering. (F) A specimen from the deposit at point B (Fig. 1) containing a leaf. No red-staining Fe-rich material occurs in a 3-mm-thick band above the leaf. (G)-(J) Backscattered TEM image and element mappings (Fe, Si and N) of an iron spheroid.

Results of the EPMA analysis showed that the reddish brown filaments consisted of an iron mineral as the major component and SiO_2 and CaCO_3 as subcomponents (Table 1). The sum of the amounts of FeO , SiO_2 , and CaO was much less than 100% of the initial weight. The weight loss from the analysis could not be explained by the loss of CO_2 from the calcite but rather by conversion of the iron mineral. Results of calculations assuming two candidate iron minerals (goethite and ferrihydrite) showed that

ferrihydrite, $\text{Fe}(\text{OH})_3$, resulted in a better approximation of 100% of the initial weight (Table 1). On the other hand, matrix is mostly composed of calcium carbonate, and contains SiO_2 and iron mineral as sub-constituent (Table 1). TEM-EDS mapping of the spherical precipitate (Fig. 4G) also indicated that the major elements were Fe and Si (Figs. 4H, I). In addition to these two elements, a detectable signal was obtained for nitrogen (Fig. 4J).

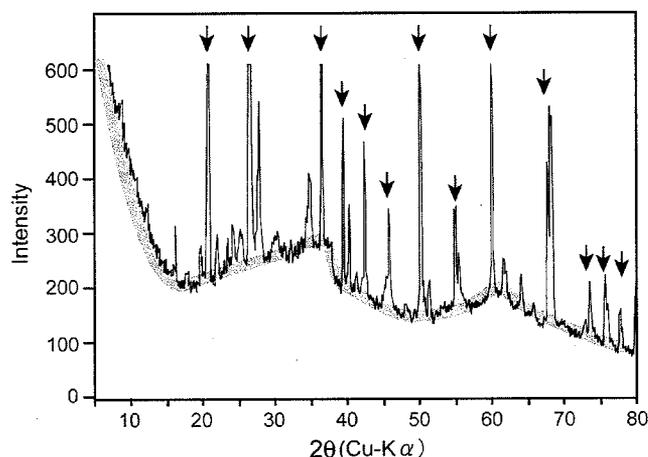


Fig. 5. XRD pattern of the Fe-rich deposit at point A treated with EDTA solution. The background (gray thick line) shows two broad peaks at around 35° and 62° in 2 θ , which are typical signatures of amorphous two-line ferrihydrite. Sharp peaks correspond mostly to SiO₂ (black arrow).

Table 1. Results of EPMA analysis of the Fe-rich deposit shown in Fig. 3B. A total close to 100% was obtained when it was assumed that the iron mineral was ferrihydrite [Fe(OH)₃].

Analyzed spot	Filament	Matrix
Number of measurements	6	3
SiO ₂	11.1	0.6
TiO ₂	0.1	0.0
FeO	46.9	2.2
MgO	0.2	0.2
CaO	11.5	53.3
Na ₂ O	0.2	0.0
K ₂ O	0.1	0.0
P ₂ O ₅	0.3	0.0
Total	70.3	56.3
GoethiteTotal	90.4	98.6
FerrihydriteTotal	102.2	99.1
Main Mineral	Ferrihydrite	calcite

Phylotype analysis of the bacteria

A total of 35 sequences from the point A specimen were grouped into 21 phylotypes, and among these, six phylotypes were related to known species similarity more than 92% (Table 2). The two phylotypes were related to the microaerophilic iron-oxidizing genus *Siderooxidans*;

clone FD01 belonged to *S. lithoautotrophicus* (similarity = 95.7%), and FD13 to *S. paludicola* (similarity = 92.9%). *Siderooxidans lithoautotrophicus* is a motile unicellular species with a bent rod-shaped cell about 1 μ m long (strain ES-1; Emerson and Moyer, 1997). Other identified close relatives are a methanotroph (FD09, 97.2% similarity with *Methylococcus capsulatus*), a methylotroph (FD07, 95.0% similarity with *Methylobacillus flagellatus*), a sulphur-oxidizing bacterium (FD15, 98.7% similarity with *Thiobacillus sajanensis*), and a nitrite oxidizer (FD19, 94.1% similarity with *Nitrospira moscoviensis*; Table 2). No cyanobacterial phylotypes were retrieved, although the calcite travertine in the downstream sites was colonized by cyanobacteria (Takashima and Kano, 2005).

DISCUSSION

Morphotype and phylotype of the iron-oxidizing bacteria

A microbial contribution to the Fe-mineral precipitate was clearly indicated by (1) the upward-branching fabric of the reddish brown filaments (Fig. 3D), (2) the sheath-like substances in the filaments (Fig. 4B), (3) the presence of nitrogen, indicated by TEM-EDS mapping (Fig. 4J), and (4) phylogenetically identified relatives to iron oxidizing bacteria (Table 2). The mineral is ferrihydrite, which has precipitated as minute spheroids encrusting the bacterial sheaths. Ferrihydrite precipitated under the influence of microbial activity is known to contain SiO₂ (Cornell and Schwertmann, 2003).

The iron-oxidizing bacteria that formed the dendritic iron precipitates are sheathed filamentous forms (Figs. 4B, C, E), with morphotypes resembled the sheath of the iron-oxidizing bacterium *Leptothrix*, described by previous studies (Emerson and Revsbech, 1994; Boyd and Scott, 2001; Kennedy et al., 2003; Chan et al., 2004) and rod-shape unicellular forms that likely belonging to genus *Siderooxidans*.

Leptothrix is responsible for depositing ferrihydrite in various environments (Ghiorse, 1984) by passive sorption of the minerals (Emerson and Weiss, 2004). Like other iron-oxidizing bacteria such as *Gallionella ferruginea*, these sheathed species normally inhabit microaerophilic and neutral pH environments (Ehrlich, 1990; Hanert, 1992). The water at the study site satisfies these conditions and is therefore suitable for these iron-oxidizing bacteria. In addition, the rate of Fe(II) oxidation is stimulated to a value at which it can be affected by the metabolic activity of bacteria under such conditions (Emerson and Moyer, 2002).

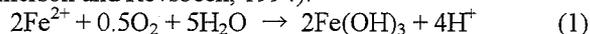
Table 2. Relatives having similarity higher than 92% with the 16s rDNA sequences obtained from the iron-rich travertine from Shionoha hot spring.

Clones (number) and accession No.	Nearest GenBank relative	Similarity (%)	
		(average)	(highest)
FD09 (6) AB354618	<i>Methylococcus capsulatus</i> (Methanotroph)	97.2	97.6
FD01 (5) AB354610	<i>Siderooxidans lithoautotrophicus</i> (Iron oxidizing bac.)	95.7	96.4
FD13 (2) AB354622	<i>Sideoxidans paludicola</i> (Iron oxidizing bac.)	92.9	93.1
FD07 (2) AB354616	<i>Methylobacillus flagellatus</i> (Methylotroph)	95.0	95.1
FD15 (1) AB354624	<i>Thiobacillus sajanensis</i> (Sulfur oxidizing bac.)	98.7	-
FD19 (1) AB354629	<i>Nitrospira moscoviensis</i> (Nitrite oxidizing bac.)	94.1	-

On the other hand, we found no phylotypes (16S rDNA gene sequences) related to *Leptothrix* despite microscopic observation of *Leptothrix*-like morphotypes. The extracted phylotypes indicated the presence of iron-oxidizing *Siderooxidans lithoautotrophicus*. This species was first reported from Fe(II)-containing (3 to 12 μ M) groundwater of 10°C and neutral pH (7.1) from a basement tile drain in East Lansing, Michigan, United States (ES-1; Emerson and Moyer, 1997), and is metabolically similar to other neutral pH iron oxidizers. Because this species is unicellular and unsheathed, it could not be responsible for the dendritic iron precipitates encrusting sheath-like substances (Fig. 4A). However, this unicellular species might have contributed to the formation of the massive iron precipitates (shown in lower part of Fig. 3E) patchily distributed in the iron-rich travertine. The cell fringed by tiny mineral grains (Fig. 4D) is possibly *S. lithoautotrophicus* or related iron oxidizers, although it is clearly larger than the *S. lithoautotrophicus* cells described by Emerson and Moyer (1997) (typically 0.3 μ m to 1 μ m long).

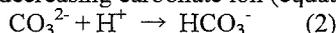
Mineralization of ferrihydrites and bacterial metabolism

As a result of the metabolism of iron-oxidizing bacteria, ferrihydrites are precipitated as sub-micrometre spheroids that form a filamentous encrustation on the bacterial sheaths. The sheath, which is composed of layers of polysaccharides, is important as a surface reactive site that can bind or nucleate Fe minerals (Fortin and Langley, 2005). Mineral absorption by the sheath prevents the living cell from becoming encrusted, because encrustation likely acts as a barrier to the transport of metabolic materials through the cell membrane (Hallbeck and Pedersen, 1995; Hallberg and Ferris, 2004). Another advantage of the sheath, proposed by Chan et al. (2004), is that mineral precipitation on the extracellular sheath increases the energy-generating potential which pH gradient across the cell membrane induced by releasing proton. The oxidation of Fe^{2+} at neutral pH is described as the following equation (Emerson and Revsbech, 1994):



Precipitation of iron hydroxide catalyzed on the polysaccharide layers can release protons, which decrease the pH outside the cell membrane and provide proton motive force to ATPase (Chan et al., 2004).

Calcite encrustation on the ferrihydrite filaments indicates that the iron precipitation was limited to the microenvironment around the sheaths. Dominance of ferrihydrite in the filaments (Table 1) indicates that precipitation of calcite was inhibited in close proximity to the sheaths, although calcite could be precipitated from the bulk water. Iron oxidizing metabolism might have interfered precipitation of calcite in the microenvironment around the bacterial sheaths. Proton released by the iron mineral precipitation (equation 1) caused undersaturation for calcite by decreasing carbonate ion (equation 2).

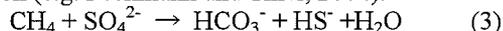


The presence of the bacteria certainly activated the precipitation of ferrihydrite. This was also demonstrated in the travertine collected at point B (Fig. 1), which enclosed a fallen leaf, because iron minerals were absent in a 3-mm interval above the leaf (Fig. 4F). The iron-oxidizing bacteria were covered by the leaf, and the bacterially induced precipitation stopped until bacteria transported by the current above the leaf settled onto the travertine surface.

The ferrihydrites are principally metabolic by-products of sheathed iron-oxidizing bacteria, which thrive on a redox gradient in a microaerophilic environment and fix CO_2 (Konhauser, 1998). The hot spring water contains substantial amounts of the major metabolic substances required by iron-oxidizing bacteria (Fe, O_2 and CO_2). Therefore, these bacteria did not require a symbiotic relationship with other bacteria, although our phylotype analysis identified other metabolizers, all of which were chemoautotrophic (Table 2).

The presence of a methanotroph (*Methylococcus capsulatus*) and a methylotroph (*Methylobacillus flagellatus*) indicates that oxidation of methane is an important microbial process in the environments near the study site. Methane is a common dissolved gas in hot spring water (Giggenbach, 1980), although we did not measure the concentration of CH_4 . Methane oxidation releases CO_2 , and may support CO_2 fixation by iron-oxidizing bacteria. However, this effect would be subtle, because the water already contains a substantial amount of dissolved CO_2 .

Under an O_2 deficient condition, the anaerobic oxidation of methane (AOM) can induce carbonate precipitation by increasing alkalinity, as expressed in the following equation (e.g. Peckmann and Thiel, 2004).



AOM can also use with nitrate (Thauer and Shima, 2006). However, the results of chemical measurement indicate that the water of the Shionoha hot spring does not contain

detectable concentration of oxidants for AOM (sulphate and nitrate).

The phylogenetically detected methanotroph, *M. capsulatus*, is known as an aerobic methane oxidizer, and its metabolism results in the following reaction (Valentine et al., 2001).



This reaction releases CO_2 and decreases pH. Proton formed in equation (4) decreases concentration of carbonate ion (equation 2) and also decreases saturation state for calcite. Therefore, carbonate precipitation in the Shionoha hot spring was unlikely induced by aerobic methane oxidizing bacteria, but rather by inorganic degassing of CO_2 . Moreover, $\delta^{13}\text{C}$ values of dissolved inorganic carbon and calcite at point A were -3.54‰ (vs. VPDB; Takashima and Kano, 2005) and -0.25‰ (unpublished data), respectively. There was no ^{13}C -depleted signal in the calcite, which was expected if methane-originated carbon contributed to calcite precipitation.

An influx of molecular oxygen from the atmosphere is essential for methanotrophs and methylotrophs, and also provides a metabolic opportunity for the other detected bacteria, such as sulphur-oxidizing (*Thiobacillus sajanensis*) and nitrite-oxidizing (*Nitrospira moscoviensis*; Table 2) species.

Origin and geological significance of the iron-rich laminated travertine

The most distinct mesoscopic structure was the sub-millimetre lamination (Figs. 3B, C). The regular rhythm of the lamination might reflect daily changes, as has been recognized in the sub-millimetre lamination of some calcite travertines (Folk et al., 1985; Pentecost, 1994). For instance, photosynthesis may trigger calcite deposition because the uptake of CO_2 increases the calcite supersaturation. However, in this case, the rate of the filaments formation was too fast for the lamination to be daily. Based upon the assumption that the 2-mm thick encrustation on the nail (Fig. 3F) developed continuously for 7 months (210 days), we estimated the rate to be about $10 \mu\text{m/day}$ and this is an order of magnitude smaller than the actual thickness of a set of laminae (Fig. 3C). Moreover, our phylotype analysis identified no phototrophs. Thus, it is unlikely that a daily photosynthetic cycle contributed to form the laminated structure.

Annual rhythm is also unlikely because the rate of the filament formation is too fast. Assuming the annual lamination is also contradicts to the fact that the Shionoha hot spring was bored 24 years ago. The specimen for iron-

rich travertine (Fig. 3B) includes more than 70 laminae.

The reddish brown filaments stopped simultaneously at a certain level, apparently corresponding to the top of each lamina (Figs. 3C, D). Beneath this level, the filaments were often highly branched and became very dense. A possible interpretation is that a deficiency of substances essential for the bacteria, such as Fe(II), dissolved oxygen, or nutrients, occurred when the filaments distributed very dense. Because the laminated deposits developed in a pool, diffusion of the dissolved chemical components at the sediment–water interface might have become limited. Consumption by bacteria could cause such a deficiency, which would have led to interruption of bacterial metabolism when the surface became largely occupied. Moreover, if other chemoautotrophs, such as methanotrophs, also flourished at the travertine surface, they consumed O₂ at the sediment–water interface as well, thus possibly inhibiting the activity of the iron-oxidizing bacteria.

During the interruption of iron precipitation, calcite precipitation dominated, resulting in the formation of a calcite-rich part. After a while, however, the concentrations of essential substances at the sediment–water interface would have recovered, allowing the iron-oxidizing bacteria to restart their metabolic activity. Thus, the cycle of the laminated deposit might be due to the bacterial activity itself.

Another distinct feature of the Shionoha iron deposits is the well-preserved erect dendritic fabric. This is unlike other described ferrihydrite deposits precipitated by sheathed or stalked iron oxidizers, which normally form loosely consolidated sediments without any distinct textural relation between the bacterial filaments and the precipitates. The erect filaments are encased and preserved in calcite. Ferrihydrite and calcite were thus differently localized by the microbial activity, and the competitive precipitation of these minerals produced the well-lithified deposits.

The geological significance of the iron deposits of the Shionoha hot spring is that they show the long-term preservation potential of bacterial fabrics, such as branched mineralized filaments and sub-millimetre lamination. Such fabrics have not been reported from banded iron formations, and the Shionoha deposit is a rare case that developed under low pO₂ and high supersaturation of CaCO₃.

However, the laminated iron deposit with dendritic microfabric described in this study provides criteria for paleoenvironments if future study will find similar textures in ancient marine deposits. It is potentially useful to

consider oceanic chemical conditions during the period of BIF formation. Oceanic pH and pCO₂ in late Archean–Paleoproterozoic are still in debate; whether high pCO₂ conditions (> 10⁻² atm) with a neutral ocean (Grovinger and Kasting, 1993) or low pCO₂ with an alkaline soda ocean (Kempe and Dagens, 1985; Kempe and Kazmierczak, 1994). Responsible microbes of the Shionoha iron-rich travertine, sheathed iron-oxidizing bacteria, grow at neutral pH and therefore prefer the former setting.

Unlike other two candidates for the BIF-forming bacterial groups (cyanobacteria and anaerobic phototrophs), the iron-oxidizing bacteria do not require light and can grow in deep environments (e.g. Kennedy et al., 2003). The Shionoha travertine indicates that the laminated iron deposits could be formed without photosynthesis and on a deep seafloor. The Fe-rich fluids for BIF formation are either of direct volcanic origin (Lydon, 1984) or deep circulating waters enriched by water-rock reactions (Kimberley, 1994; Chown et al., 2000). Therefore, the first opportunity to consume Fe(II) from such fluids was likely given to the iron-oxidizing bacteria. Such BIFs could be formed *in situ* on biofilms consisting of iron-oxidizing bacteria, and exhibit domical shapes as seen in the Shionoha iron-travertine. The origins of BIFs remain controversial. A wide range of approaches including sedimentary structures and microfabrics would determine the depositional settings and microbial processes of BIFs.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to Yoshihiro Shibata for the EPMA analysis and Hayami Ishisako for preparing the thin sections. Kazuhiro Sato and Yoshihiro Nishikawa helped us with laboratory work. Various kinds of support were kindly given by the owner of Yamabato-yu and his family. This study was supported by a Grant-in-Aid to AK from the Japanese Ministry of Education and Science.

REFERENCES

- Brocks JJ, Buick R, Summons RE, Logan G. 2003. A reconstruction of Archean biological diversity based on molecular fossils from the 2.78 to 2.45 billion-year-old Mount Bruce Supergroup Hamersley Basin, Western Australia. *Geochemica et Cosmochimica Acta* 67: 4321–4335.
- Boyd TD, Scott SD. 2001. Microbial and hydrothermal aspects of ferric oxyhydroxides and ferrosic hydroxides: the example of Franklin Seamount, Western Woodlark Basin, Papua New Guinea. *Geochemical Transactions* 2:45–56.
- Chan CS, Gelsomina De Stasio G, Welch SA, Girasole M, Frazer BH, Nesterova MV, Fakra S, Banfield JF. 2004. Microbial polysaccharides

- template assembly of nanocrystal fibers. *Science* 303:1656-1658.
- Chaudhuri S, Lack JG, Coates JD. 2001. Biogenic magnetite formation through anaerobic biooxidation of Fe(II). *Applied Environmental Microbiology* 67:2844-2848.
- Chown EH, N'dah E, Mueller WU. 2000. The relation between iron-formation and low temperature hydrothermal alteration in an Archean volcanic environment. *Precambrian Research* 101: 263-275.
- Cloud P. 1973. Paleocological significance of the banded iron-formation. *Economic Geology* 68: 1135-1143.
- Cornell RM, Schwertmann U. 2003. *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*. Weinheim: Wiley-VCH. 664 p.
- DeLong EF. 1992. Archaea in coastal marine environments. *Proceedings of National Academy of Science USA* 89:5685-5689.
- Dojka MA, Harris JK, Pace NR. 2000. Expanding the known diversity and environmental distribution of an uncultured phylogenetic division of bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 66:1617-1621.
- Ehrlich HL. 1990. *Geomicrobiology*, 2 ed., New York: Marcel Dekker. 664p.
- Emerson D, Moyer C. 1997. Isolation and characterization of novel iron-oxidizing bacteria that grow at circumneutral pH. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 4784-4792.
- Emerson D, Moyer CL. 2002. Neutrophilic Fe-oxidizing bacteria are abundant at the Loihi Seamount hydrothermal vents and play a major role in Fe oxide deposition. *Applied and Environmental Microbiology* 68:3085-3093.
- Emerson D, Revsbech NP. 1994. Investigation of an iron oxidizing microbial mat community located near Aarhus, Denmark: field studies. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 4020-4031.
- Emerson D, Weiss JV. 2004. Bacterial iron oxidation in circumneutral freshwater habitats: findings from the field and the laboratory. *Geomicrobiology Journal* 21:405-414.
- Folk RL, Chafetz HS, Tiezzi PA. 1985. Bizarre forms of depositional and diagenetic calcite in hot-spring travertines, central Italy. In: Scheidman N, and Harris PM, editors. *Carbonate Cements*. SEPM Special Publication no.36 Tulsa: Society for Sedimentary geology. P 349-369.
- Fortin D, Langley S. 2005. Formation and occurrence of biogenic iron-rich minerals. *Earth-Science Reviews* 72:1-19.
- Ghiorse WC. 1984. Biology of iron- and manganese-depositing bacteria. *Annual Review of Microbiology* 38:515-550.
- Giggenbach WF. 1980. Geothermal gas equilibria. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 44:2021-2032.
- Goldich SS. 1973. Ages of Precambrian Banded Iron-Formations. *Economic geology* 68: 1126-1134.
- Grotzinger JP, Kasting JF. 1993. New constraints on Precambrian ocean composition. *The Journal of Geology*. 101: 235-243.
- Hallbeck L, Pedersen K. 1995. Benefits associated with the stalk of *Gallionella ferruginea*, evaluated by comparison of a stalk forming and non-stalk-forming strain and biofilm studies in situ. *Microbial Ecology* 30: 257-268.
- Hallberg R, Ferris FG. 2004. Biomineralization by *Gallionella*. *Geomicrobiology Journal* 21:325-330.
- Hanert HH. 1992. The genus *Gallionella*. In: Balows A, editor. *The prokaryotes* Volume 4. Berlin: Springer-Verlag. P 4082-4088.
- Heising S, Schink B. 1998. Phototrophic oxidation of ferrous iron by a *Rhodospirillum rubrum* strain. *Microbiology* 144: 2263-2269.
- Heising S, Richter L, Ludwig W, Schink B. 1999. *Chlorobium ferrooxidans* sp. nov., a phototrophic green sulphur bacterium that oxidizes ferrous iron in coculture with a "*Geospirillum*" sp. *Strain*. *Archives of Microbiology* 172: 116-124.
- Holm NG. 1989. The $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of siderite and organic matter of a modern metalliferous hydrothermal sediment and their implications for banded iron formations. *Chemical Geology* 77:41-45.
- Hugenholtz P, Huber T. 2003. Chimeric 16S rDNA sequences of diverse origin are accumulating in the public databases. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology* 53:289-293.
- Kappler A, Newman DK. 2004. Formation of Fe(III)-minerals by Fe(II)-oxidizing photoautotrophic bacteria. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 68:1217-1226.
- Kappler A, Pasquero C, Konhauser KO, Newman DK. 2005. Deposition of banded iron formations by anoxygenic phototrophic Fe(II)-oxidizing bacteria. *Geology* 33: 865-868.
- Kasama T, Murakami T. 2001. The effect of microorganisms on Fe precipitation rate at neutral pH. *Chemical Geology* 180:117-128.
- Kempe S, Degens ET. 1985. An early soda ocean?. *Chemical Geology* 53: 95-108.
- Kempe S, Kazmierczak J. 1994. The role of alkalinity in the evolution of ocean chemistry, organization of living systems, and biocalcification processes. In: Doumenge F, editor. *Past and Present Biomineralization Processes. Considerations about the Carbonate Cycle*. Bull. Inst. Oceanogr, Monaco Special Publication no.13: P 61-117.
- Kennedy CB, Scott D, Ferris FG. 2003. Characterization of bacteriogenic iron oxide deposits from Axial Volcano, Juan de Fuca Ridge, northeast Pacific Ocean. *Geomicrobiology Journal* 20:199-214.
- Kimberley MM. 1994. Debate about ironstone: has solute supply been surficial weathering, hydrothermal convection or exhalation of deep fluids? *Terra Nova* 6: 116-132.
- Konhauser KO. 1998. Diversity of bacterial iron mineralization. *Earth-Science Reviews* 43:91-121.
- Konhauser KO, Hamade T, Raiswell R, Morris RC, Ferris FG, Southam G, Canfield DE. 2002. Could bacteria have formed the Precambrian banded iron formation? *Geology* 30:1079-1082.
- Lydon JW. 1984. Volcanogenic massive sulphide deposits. 1. A descriptive model. In: Roberts RG, Sheahan, PA, editors. *Ore Deposit Models*, vol. 3. Geoscience Canada Reprint Series, p. 145-153.
- Packmann J, Thiel V. 2004. Carbon cycling at ancient methane-seeps. *Chemical geology* 205: 443-467.
- Pentecost A. 1994. Formation of laminated travertines at Bagno Vignone, Italy. *Geomicrobiology Journal* 12:239-251.
- Pierson BK, Parenteau MN. 2000. Phototrophs in high iron microbial mats : microstructure of mats in iron-depositing hot springs. *FEMS Microbiology Ecology* 32: 181-196.
- Plummer LN, Bosenberg E. 1982. The solubilities of calcite, aragonite and vaterite in $\text{CO}_2\text{-H}_2\text{O}$ solutions between 0 and 90°C, and an evaluation of the aqueous model for the system $\text{CaCO}_3\text{-CO}_2\text{-H}_2\text{O}$. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 46:1011-1040.
- Sambrook J, Russel DW. 2001. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual* 3ed Volume 1., New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. P 1.32-1.34.

- Summons RE, Jahnke LL, Hope JM, Logan GA. 1999. 2-Methylhopanoids as biomarkers for cyanobacterial oxygenic photosynthesis. *Nature* 400: 554–557.
- Takashima C, Kano A. 2005. Depositional processes of travertine developed at Shionoha hot spring, Nara Prefecture, Japan. *Journal of Geological Society, Japan* 111:751-764.
- Thauer RK, Shima S. 2006. Methane and microbes. *Nature* 440: 878-879.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TG. 1994. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignments through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22:4673-4680.
- Valentine DL, Blanton DC, Reeburgh WS, Kastner M. 2001. Water column methane oxidation adjacent to an area of active hydrate dissociation, Eel River Basin. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 65: 2633-2640.
- Vempati RK, Loeppert RH. 1986. Synthetic ferrihydrite as a potential Fe amendment in calcareous soils. *Journal of plant nutrition* 9:1039-1052.
- Widdel F, Schnell S, Heising S, Ehrenreich A, Assmus B, Schink B. 1993. Ferrous iron oxidation by anoxygenic phototrophic bacteria. *Nature* 362:834-836.



ELSEVIER

Chemical Geology 244 (2007) 708–714

**CHEMICAL
GEOLOGY**

INCLUDING
ISOTOPE GEOSCIENCE

www.elsevier.com/locate/chemgeo

Isotopic chemostratigraphy of the microbialite-bearing Permian–Triassic boundary section in the Zagros Mountains, Iran

Wei Wang^{a,d,*}, Akihiro Kano^b, Tomoyo Okumura^b, Yongsheng Ma^c, Ryo Matsumoto^d, Nilo Matsuda^d, Katsumi Ueno^e, Xiaozheng Chen^a, Yoshitaka Kakuwa^d, Mohammad Hosein Mahmudy Gharai^d, Mahmud Rahmati Ilkhchi^f

^a Nanjing Institute of Geology and Palaeontology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China

^b Department of Earth and Planetary Systems Science, Hiroshima University, Higashi-hiroshima 739-8526, Japan

^c Southern Exploration and Production Company, Kunming, 650200, China

^d Department of Earth and Planetary Sciences, the University of Tokyo, Tokyo 113-0033, Japan

^e Department of Earth System Sciences, Fukuoka University, Fukuoka 814-0180, Japan

^f Geology Survey of Iran, Tehran, Iran

Received 8 January 2007; received in revised form 16 July 2007; accepted 22 July 2007

Editor: S.L. Goldstein

Abstract

Carbon isotopic chemostratigraphy and a Sr-isotope datum provide age-constraints to the uppermost Permian–lowermost Triassic section in central Zagros Mountains, Iran. The 77-m-thick carbonate-dominated section contains two microbialite beds that consist of abiotic carbonate crystals and possible calcimicrobes. The textures resemble those reported from the lowermost Triassic elsewhere, which were likely developed under unusual environmental and ecological conditions after the end-Permian extinction. Our results show that the lower section up to the lower microbialite bed has high $\delta^{13}\text{C}$ values of +3 to +4‰, which are typical values for the latest Permian. From 3 m above the base of the lower microbialite, the values abruptly decrease to -0.3‰ . In the upper section, the $\delta^{13}\text{C}$ curve records another negative excursion and gradual increase to +2.0‰. The curve coincides with the global trend from other Permian–Triassic boundary sections, and places the chemostratigraphic boundary within the lower microbialite. The $\delta^{13}\text{C}$ negative excursion postdates geochemical and/or ecological changes that triggered the microbialite development. If the trigger was increased alkalinity by a vast carbon flux, the source carbon should not have significantly light value of $\delta^{13}\text{C}$.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Permian–Triassic boundary; Carbon isotope; Chemostratigraphy; Microbialites; Stromatolites; Zagros; Iran

1. Introduction

The Permo-Triassic transition is one of the most well-studied bioevents, and has been the focus of many $\delta^{13}\text{C}$

isotopic studies (Hsu et al., 1985; Holser et al., 1989; Kump, 1991; Jin et al., 2000; Baud et al., 1989). The interval spanning the Permian–Triassic boundary (PTB) witnessed a mass extinction during a period of enhanced continental weathering (Jin et al., 2000, Cao et al., 2002). Previous studies have recognized that drastic ^{13}C -depletion close to the PTB is a global phenomenon, and used it to correlate the PTB sections (Baud et al.,

* Corresponding author. Nanjing Institute of Geology and Palaeontology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China.

E-mail address: weiwang@nigpas.ac.cn (W. Wang).

1989; Wignall et al., 1998; Jin et al., 2000; Wang et al., 2004).

The PTB section studied in this paper is exposed in the Zagros Mountains, Iran, located in the Alpine–Himalayan Orogenic System that records collision between the Iranian (or Persian) and Arabian plates (Kashfi, 1976). The Zagros Mountains are considered as a paleogeographic corridor connecting the eastern and western parts of the Tethys during the Paleozoic–early Mesozoic interval (Alavi, 1980), and therefore is an important region for understanding the depositional regime of the Tethys. Although these carbonate-dominated sections have the potential to provide geochemical data relevant to the geographic extent of the PTB event, they only have a preliminary biostratigraphy (Stöcklin and Setudehnia, 1991).

The Zagros PTB section is significant also in terms of the occurrence of organosedimentary crusts that have been reported from the other PTB sections elsewhere (Sano and Nakashima, 1997; Lehrmann, 1999; Kershaw et al., 1999, 2002; Wignall and Twitchett, 2002; Ezaki et al., 2003; Hips and Haas, 2006; Pruss et al., 2006). These have been generally described as microbialites that were deposits formed by a result of a benthic microbial community (Brune and Moore, 1987). The microbialites exhibit unique textures that are rarely found post-Cambrian, and may have resulted from the distinct ecological and geochemical background of the PTB event. This study presents an isotopic stratigraphy

of the microbialite-bearing section including the PTB interval, located in the central Zagros Mountains. Based on the chemostratigraphic data, the exact horizon of the PTB is located, and the section is compared to other PTB sections from around the globe. Discussion will be extended to find the significance of the microbialites that provides an insight to paleo-oceanographic background during the greatest crisis in the history of life.

2. Geological setting and lithological sequences

The regional geology of the Zagros Mountains has been described in terms of the stratigraphy, and its sedimentary and tectonic evolution (Kashfi, 1976; Alavi, 1980; Ghavidel-Syooki, 1995). The convergence of the Arabian and Iranian plates started during Early Mesozoic time, resulting in the gradual closure of the Tethys oceanic basin, the subsequent subduction of the Arabian plate, and the formation of the Zagros Mountains.

Before these tectonic events, the Zagros basin maintained a stable carbonate depositional environment in the Permian–Early Triassic (Kashfi, 1976). The rocks of this transition, the Dalan and Khaneh Kat Formations, are mainly distributed in areas immediately south of the Main Zagros Thrust, and well exposed in Kuh-d-Yagma (33°12' N; 49°27' E), 40 km southwest of Aligoodarz (Aligudarz, Lorestan Province) in the central Zagros Mountains (Fig. 1). The Dalan Formation is subdivided into the lower member of dark grey limestone and the

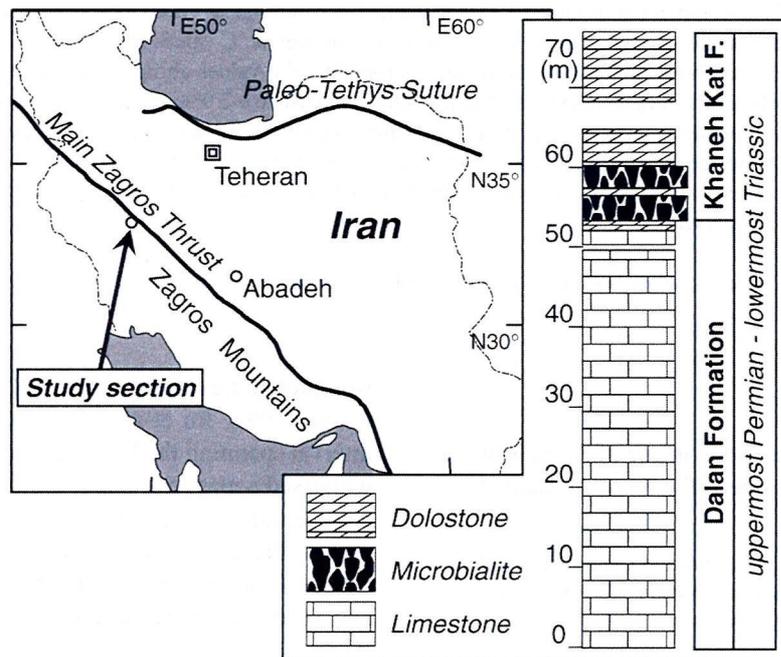


Fig. 1. Locality and stratigraphy of the study section at Kuh-d-Yagma in the central Zagros Mountains, Iran.

upper member of light grey dolomitic limestone, and intercalates with thin beds of dolostone, carbonaceous sandstone, gypsum, and marlstone. The upper member generally exhibits grainstone lithology that yields abundant foraminifers, calcareous algae, corals, crinoids, and brachiopods. The foraminiferal assemblage indicates typical taxa of the latest Permian Changhsingian fauna, including the genera *Palaeofusulina*, *Nanlingella*, *Paradagmarita* and *Paraglobivalvulinoides*. In contrast to the Dalan Formation intercalated with various lithologies, the Khaneh Kat Formation displays a uniform lithology predominated by dolostone that contains rare fossils (Fig. 1). The oldest Triassic age-diagnostic fossil so far found is *Claraia* (Scythian) from 250 m above the base of the formation. The PTB in this area has been placed at the boundary between the Dalan Formation and the Khaneh Kat Formation (Stöcklin and Setudehnia, 1991; Baghbani, 1992).

Two beds of reddish-brown microbialite occur in the lowermost part of the Khaneh Kat Formation. The 3.6-m-thick lower microbialite defines the base of the formation and conformably overlies the Dalan Formation. It is overlain by 0.6-m-thick thin-bedded dolostone and the upper 3.0-m-thick microbialite bed (Fig. 1).

These two microbialite beds show identical facies that mainly consist of columnar-conical crusts 5–10 cm in diameter and 10–30 cm long. The crusts widen upwards and are nearly attached to each other (Fig. 2A). The texture of the crust is faintly laminated, and mainly composed of *Renalcis*-like possible calcimicrobes and calcite crystals forming bundles of radially-expanded rods (Fig. 2B). The texture of the calcite is probably formed by an abiotic precipitation. These characteristics resemble the microbialites described from the PTB sections of Sichuan Province in South China (Lehrmann, 1999; Kershaw et al., 1999; Lehrmann et al., 2003; Ezaki et al., 2003) and Hungary (Hips and Haas, 2006). Fine-grained carbonate sediment containing small gastropods and ostracods fills the space between the crusts. The Permian elements, such as foraminifers and brachiopods found in the Dalan Formation are not present these microbialite beds.

3. Methodology

Carbon isotope chemostratigraphy is used here to improve the biostratigraphically poorly-defined age-constraints of the Zagros PTB section. 16 samples were

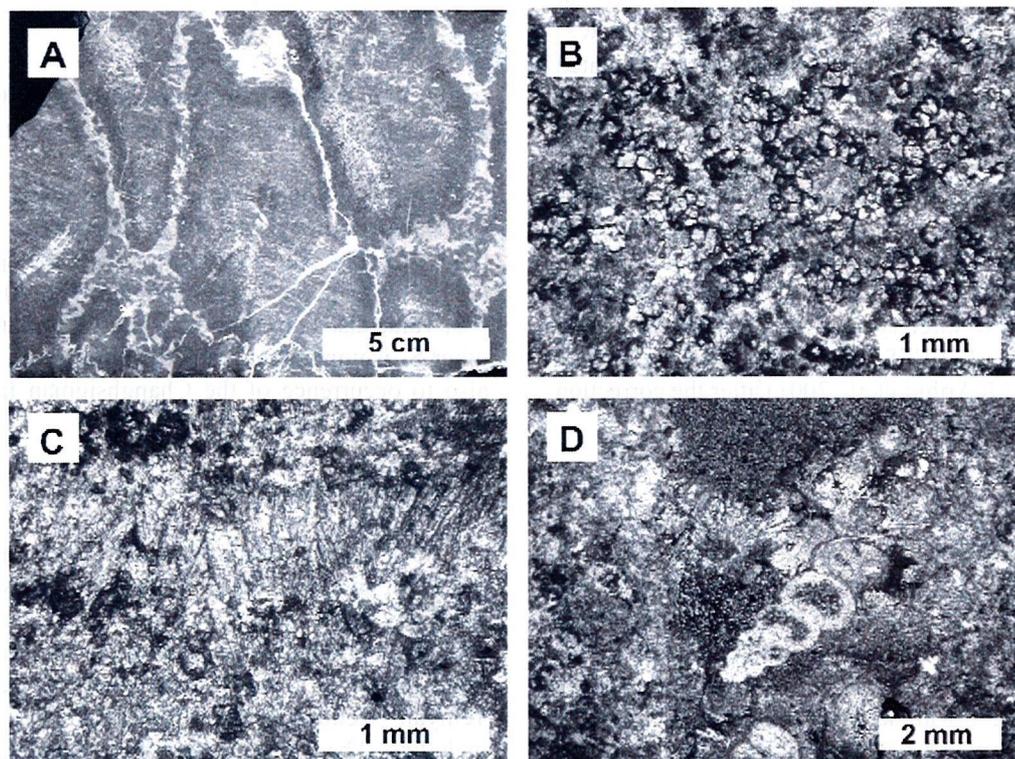


Fig. 2. Microbialite from the PTB section in the Zagros Mountains. A) Polished surface showing upward-expanding columnar crust in the microbialite. B) *Renalcis*-like possible calcimicrobes in the microbialite crust. C) Rod-like calcite crystals in the microbialite crust. D) Inter-crust sediment consisting of fine-grained carbonate, radially-expanding calcite rods, and gastropods.

collected from the 77-m-thick section. Before isotopic measurement, the material was carefully extracted from the centre of each sample to avoid diagenetic veins and weathered parts. The powdered samples were reacted with phosphoric acid and left for one week at 25 °C to gain isotopic equilibrium. The resulting CO₂ was purified and measured in the mass spectrometer (MAT 252) at the University of Tokyo. The measured carbon and oxygen isotopic ratios were calibrated against NBS19 ($\delta^{13}\text{C}=+1.95\text{‰}$, $\delta^{18}\text{O}=-2.20\text{‰}$ vs. VPDB) and typically include analytical errors less than 0.08 ‰ (2 σ). Alteration by meteoric diagenesis of the $\delta^{13}\text{C}$ values is thought to be negligible because of a lack of correlation between $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ values ($r^2=0.04$).

Strontium isotopes were analyzed for one sample from thick-bedded limestone consisting of almost pure carbonate. We used the updated preparation methods of Birck (1986) with an acetic acid–acetic ammonium buffer system in order to minimize contamination by strontium from clay minerals. The sample was washed with 1 M NH₄Cl and then dissolved by 1 M acetic acid–acetic ammonium buffer (pH=4.5) in 60 °C ultrasonic bath for 3 h. Strontium was separated using cation exchange resin, and its isotopic ratio was measured by a thermal ionizing mass spectrometry MAT 262 at Ryukyu University. The measured $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ value was normalized to $^{86}\text{Sr}/^{88}\text{Sr}$ of 0.1194, and was calculated from 140 measurements, each of which obtained by 16 s integration. Fifteen separate analyses of NIST 987 during the period of the measurement gave the average value of 0.710235 ± 0.000012 (2SD). The reproducibility for the carbonate sample measurement (2 SD) was as good as the typical in-run precision of ± 0.000015 (2 SE). The age was assigned by projection of the isotopic values to three (young, mean, and old) regression curves of LOWESS Look-up Table version 4 (revised from McArthur et al., 2001) after the correction to a value of 0.710248 for NIST 987.

4. Results

The results of the $\delta^{13}\text{C}$ measurements are shown in Fig. 3. The values stay in a narrow range from 3‰ to 4‰ within the Dalan Formation (0–53 m horizons) and in the bottom 3 m of the lower microbialite of the Khaneh Kat Formation. $\delta^{13}\text{C}$ values dramatically decrease to -0.36‰ in the top of the lower microbialite, and decrease further to -0.3‰ in the overlying thinly-bedded dolomite. The value recovers to $+1.2\text{‰}$ temporarily in the next sample from the lower part of the upper microbialite, and again decrease to the second negative excursion of -0.4‰ in the upper microbialite

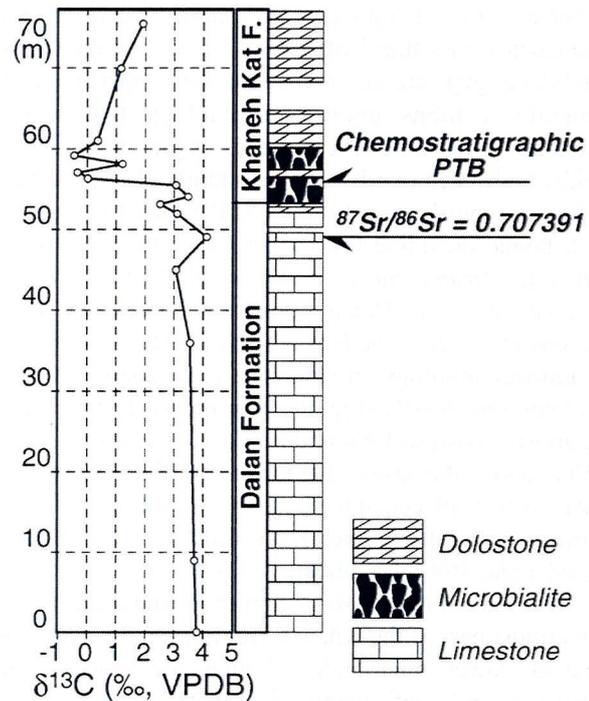


Fig. 3. The carbon-isotope curve and a strontium isotopic datum of the PTB section at Kuh-d-Yagma in the central Zagros Mountains, Iran. The chemostratigraphic PTB is located 3 m above the base of the lower microbialite.

(at the 59 m horizon). From this horizon, $\delta^{13}\text{C}$ gradually increase to around $+2.0\text{‰}$ at the top of the study section (Fig. 3).

$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ of one sample from the upper member of the Dalan Formation (at 49 m horizon) is 0.707391 ± 0.000015 (Fig. 3), and corresponds to the age of 252.1 (251.6–252.7) Ma (Changhsingian; Fig. 4). The $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ value also corresponds to latest Permian age in the other Sr isotopic stratigraphy (Veizer et al., 1999), and also to occurrence of the Changhsingian fauna in the upper Dalan Formation.

5. Chemostratigraphic correlation

The $\delta^{13}\text{C}$ excursion of the study section is typical of the PTB, in terms of 1) a drastic decrease from the relatively high upper Permian values, and 2) the subsequent gradual recoveries as the lowermost Triassic trend. These $\delta^{13}\text{C}$ trends have been reported from the Tethyan sections with well-defined biostratigraphy, including Abadeh in central Iran (Baud et al., 1989; Heydari et al., 2000, 2003), Vedi in Armenian, and Curuk Dag in Turkey (Baud et al., 1989). Microbialite beds in the Abadeh sections are regarded as the basal Triassic based on the $\delta^{13}\text{C}$ curves, in which a typical

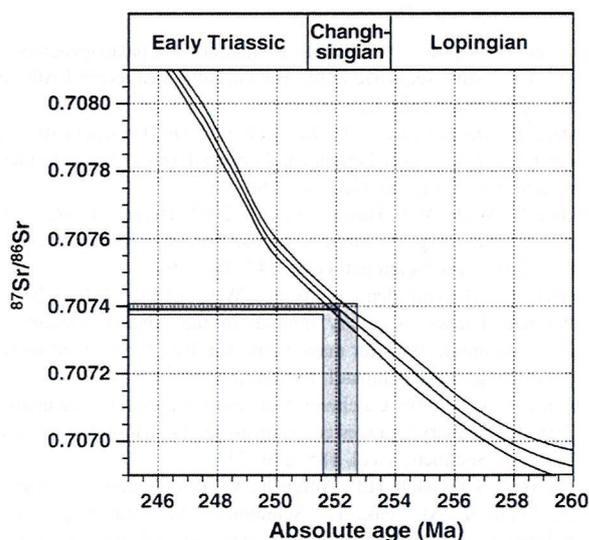


Fig. 4. Age-estimate of the strontium isotopic datum of the upper Dalan Formation by projection to three (young, mean, and old) regression curves of LOWESS Look-up Table version 4 (revised from McArthur et al., 2001).

negative shift from +3 to +5‰ to 0 to ~−1‰ was recognized below the microbialites (Heydari et al., 2001). This chronological relation was also extended to the corresponding sections outside the Iranian Plate (Lehrmann, 1999; Ezaki et al., 2003), and leads interpretation that development of the microbialites is likely to have postdated the mass extinction of marine invertebrates that grazed on microbes (e.g., Riding and Liang, 2005). Microbialite-forming microbes could thrive in such an empty ecosystem after the mass extinction (Riding, 2000).

However, $\delta^{13}\text{C}$ curve of the Zagros section shows a different stratigraphic relationship. The PTB defined by the $\delta^{13}\text{C}$ chemostratigraphy should be located at the top of the lower microbialite or in the overlying dolostone unit. It seems unlikely that the two high (>3‰) $\delta^{13}\text{C}$ values from the lower microbialite are local or diagenetically-altered signals from the initially lower $\delta^{13}\text{C}$ values of the basal Triassic, and this interpretation would fail to explain the lower values recorded in the upper microbialite that consists of identical lithology of the lower one. Thus, the bottom 3 m of the lower microbialite should be assigned to latest Permian.

The results of this study are significant in terms of showing chemostratigraphic evidence that the microbialites do indeed start growing in the latest Permian. A possible interpretation is the diachroneity of the microbialites. However, the age of the microbialites in other sections is often not very well constrained and they too could be of latest Permian age. The extinction of

microbe-grazing taxa was initiated before the chemostratigraphically defined PTB. This is not too surprising because in most parts of the world, the extinction happens in the latest Permian clearly below the PTB.

Absence of latest Permian microbialites in other areas is partly related to incomplete stratigraphic records and/or high growth rate of the microbialites. Due to rapid sea-level change, the Permian–Triassic stratigraphic sections often contain a hiatus or high degree of condensation at the PTB transition, which are not always easily identified. As seen in the Wadi Wasit block section, presence of the hiatus reflects an abrupt negative shift of $\delta^{13}\text{C}$ across the PTB (Krystyn et al., 2003). In such sections, microbialites of the Permian $\delta^{13}\text{C}$ signal were not preserved. This interpretation indicates the possibility that anomalous oceanic conditions and the resultant microbialites could have been widespread in the latest Permian.

6. Significance of the latest Permian microbialites

Besides the extinction of grazing invertebrates, development of microbialites likely resulted from an increased supersaturation of calcium carbonate as a consequence of (1) alkalinity increase via bacterial sulfate reduction in widespread oceanic anoxic conditions (Isozaki, 1997; Newton et al., 2004), or (2) a vast influx of fluid containing high Ca^{2+} and inorganic carbon from the eruption of the Siberian traps (Reichow et al., 2002). However, sulfate reduction is unlikely to have initiated the microbial development, because this process should have been accompanied with decrease in oceanic $\delta^{13}\text{C}$. The chemostratigraphic evidence of this study shows that the oceanic supersaturation clearly predated the PTB negative excursion of $\delta^{13}\text{C}$ (Figs. 3 and 4). The changes would have to be under geochemical circumstances such that the oceanic inorganic carbon remained at the high late Permian $\delta^{13}\text{C}$ value (+3 to +4‰) from the lower section.

On the other hand, the effect of a volcanic source of carbon (ca. −6‰) is insufficient to lower the oceanic $\delta^{13}\text{C}$ values (Berner, 2002). The eruption of the Siberian traps might have accompanied an emission of CO_2 that initially caused acidification of seawater and therefore decreased saturation for calcium carbonate. However, the increased level of CO_2 could have been consumed via continental weathering intensified by elevated $p\text{CO}_2$ and temperature (Wignall, 2001). The weathering induced further alkalinity increase that potentially explains the supersaturation before the $\delta^{13}\text{C}$ excursion. In fact, some of the Ar–Ar datings from the Siberian traps are clearly younger than the PTB (Reichow et al., 2002).

The most significant finding of this study is that the alkalinity increase clearly predated the PTB negative excursion of $\delta^{13}\text{C}$ (Fig. 3). The age-gap between the two important events corresponds to a period during which a 3-m-thick microbialite bed was developed. The timescale for microbialite development could be short, in the order of 10^3 years, as they were likely deposited under conditions of anomalous supersaturation of calcium carbonate. It has been suggested that the Permian–Triassic extinction was brought about by a synergistic combination of causes, and there have been a wide variety of hypotheses for this extinction (Erwin, 1993). Chronological and chemostratigraphic results of the Zagros PTB section provides insight into evaluation of the PTB hypotheses.

Acknowledgments

The authors appreciate geologists from GSI (Geological Survey of Iran) for fieldwork that was supported by JSPS and JNOC of Japan. We are grateful to Paul Wignall and Steven Goldstein who provided constructive comments to the manuscript. Sr-isotopic measurement was performed under helpful instruction by Shigeru Ohde (Ryukyu University). We also thank important suggestions from Trevor Williams (Lamont–Doherty Earth Observatory), Jin Yugan (Nanjing Institute of Geology and Paleontology), Aaron Hunter (University of Tokyo), and Aymon Baud (Geological Museum of Switzerland). This work is supported by National Basic Research Program (2006CB806400) and NSFC (40273005, 40621062).

References

- Alavi, M., 1980. Tectonostratigraphic evolution of the Zagrosides of Iran. *Geology* 8, 144–149.
- Baghbani, D., 1992. The Permian and Triassic boundary in the Zagros Basin (Southwest Iran) 29th Intern. Geol. Cong., Kyoto, Japan, 29, p. 267. Abstracts.
- Baud, A., Holser, W.T., Magaritz, M., 1989. Permian–Triassic of the Tethys: carbon isotope studies. *Geol. Rundsch.* 78, 1–25.
- Berner, R.A., 2002. Examination of hypotheses for the Permo–Triassic boundary extinction by carbon cycle modeling. *PNAS* 99, 4172–4277.
- Birck, J.L., 1986. Precision K–Rb–Sr isotopic analysis: application to Rb–Sr chronology. *Chem. Geol.* 56, 73–83.
- Burne, R.V., Moore, L.S., 1987. Microbialites: organosedimentary deposits of benthic microbial communities. *Palaaios*, 2, 241–254.
- Cao, C.Q., Wang, W., Jin, Y.G., 2002. Carbon isotopic excursions across the Permian–Triassic boundary in the Meishan section, Zhejiang Province, China. *Chinese Sci. Bull.* 47, 1125–1129.
- Erwin, D.H., 1993. *The Great Paleozoic crisis: Life and Death in the Permian*. Columbia University Press, New York. 327 pp.
- Ezaki, Y., Liu, J., Adach, N., 2003. Earliest Triassic microbialite micro- and megastructures in the Huaying area of Sichuan Province, south China: implications for the nature of oceanic conditions after the end-Permian extinction. *Palaaios* 18, 388–402.
- Ghavidel-Syooki, M., 1995. Palynostratigraphy and palaeogeography of a Palaeozoic sequence in the Hassanakdar area, central Alborz Range, northern Iran. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 86, 91–109.
- Heydari, E., Hassanzadeh, J., Wade, W.J., 2000. Geochemistry of central Tethyan Upper Permian and Lower Triassic strata, Abadeh region, Iran. *Sediment. Geol.* 137, 85–99.
- Heydari, E., Wade, W.J., Hassanzadeh, J., 2001. Diagenetic origin of carbon and oxygen isotope compositions of Permian–Triassic boundary strata. *Sediment. Geol.* 143, 191–197.
- Heydari, E., Hassanzadeh, J., Wade, W.J., Ghazi, A.M., 2003. Permian–Triassic boundary interval in the Abadeh section of Iran with implications for mass extinction; Part 1, Sedimentology. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 193, 405–423.
- Hips, K., Haas, J., 2006. Calcimicrobial stromatolites at the Permian–Triassic boundary in a western Tethyan section, Bükk Mountains, Hungary. *Sediment. Geol.* 185, 239–253.
- Holser, W.T., Schönlaub, H.P., Attrep Jr., M., Boeckemann, K., Klein, P., Magaritz, M., Pak, E., Schramm, J.M., Stattgegger, K., Schmöllner, R., 1989. A unique geochemical record at the Permian/Triassic boundary. *Nature* 337, 39–44.
- Hsu, K.J., Oberhänsli, H., Gao, J.Y., Sun, S., Chen, H., Krahenbuhl, U., 1985. ‘Strangelove ocean’ before the Cambrian explosion. *Nature* 316, 819–821.
- Isozaki, Y., 1997. Permo–Triassic boundary superanoxia and stratified superocean; records from lost deep sea. *Science* 276, 235–238.
- Jin, Y.G., Wang, Y., Wang, W., Shang, Q.H., Cao, C.Q., Erwin, D.H., 2000. Pattern of marine mass extinction near the Permian–Triassic boundary in South China. *Science* 289, 432–443.
- Kashfi, M.S., 1976. Plate tectonics and structural evolution of the Zagros Geosyncline, southwestern Iran. *Geol. Soc. Amer. Bull.* 87, 1486–1490.
- Kershaw, S., Zhang, J., Lan, G., 1999. A microbialite carbonate crust at the Permian–Triassic boundary in south China, and its palaeoenvironmental significance. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 146, 1–18.
- Kershaw, S., Guo, L., Swift, A., Fan, J., 2002. Microbialites in the Permian–Triassic boundary interval in central China: structure, age, and distribution. *Facies* 47, 83–90.
- Krystyn, L., Richoz, S., Baud, A., Twitchett, R.J., 2003. A unique Permian–Triassic boundary section from the Neotethyan Hawasina Basin, central Oman Mountains. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 191, 329–344.
- Kump, L.R., 1991. Interpreting carbon-isotope excursions: Strangelove oceans. *Geology* 19, 299–302.
- Lehrmann, D.J., 1999. Early Triassic calcimicrobial mounds and biostromes of the Nanpanjiang Basin, south China. *Geology* 27, 359–362.
- Lehrmann, D.J., Payne, J.L., Felix, S.V., Dillett, P.M., Youyi Yu, H.W., Wei, J., 2003. Permian–Triassic boundary sections from shallow marine carbonate platforms of the Nanpanjiang Basin, south China: implications for oceanic conditions associated with the end-Permian extinction and its aftermath. *Palaaios* 18, 138–152.
- McArthur, J.M., Howarth, R.J., Bailey, T.R., 2001. Strontium isotope stratigraphy: LOWESS version 3: Best fit to the marine Sr-isotope curve for 0–509 Ma and accompanying look-up table for deriving numerical age. *J. Geol.* 109, 155–170.
- Newton, R.J., Pevitt, E.L., Wignall, P.B., Bottrell, S.H., 2004. Large shifts in the isotopic composition of seawater sulphate across the Permo–Triassic boundary in northern Italy. *Earth Planet. Sci. Lett.* 218, 331–345.
- Pruss, S.B., Bottjer, D.J., Corsetti, F.A., Baud, A., 2006. A global marine sedimentary response to the end-Permian mass extinction:

- Examples from southern Turkey and the western United States. *Earth-Sci. Rev.* 78, 193–206.
- Reichow, M.K., Saunders, A.D., White, R.V., Pringle, M.S., Al'Mukhamedov, A.I., Medvedev, A.I., Kirida, N.P., 2002. $^{40}\text{Ar}/^{39}\text{Ar}$ dates from the west Siberia Basin: Siberian flood basalt province doubled. *Science* 296, 1846–1849.
- Riding, R., 2000. Microbial carbonates: the geological record of calcified bacterial–algal mats and biofilms. *Sedimentology* 47, 179–214.
- Riding, R., Liang, L., 2005. Geobiology of microbial carbonates: metazon and seawater saturation state influences on secular trends during the Phanerozoic. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 219, 101–115.
- Sano, H., Nakashima, K., 1997. Lowermost Triassic (Griesbachian) microbial bindstone–cementstone facies, south-west Japan. *Facies* 36, 1–24.
- Stöcklin, J., Setudehnia, A., 1991. Stratigraphic Lexicon of Iran. *Geol. Surv. Iran, Rep.* 18, 1–376.
- Veizer, J., Ala, D., Azmy, K., Bruckschen, P., Buhl, D., Bruhn, F., Carden, G.A.F., Diener, A., Ebner, S., Godderis, Y., Jasper, T., Korte, C., Pawellek, F., Podlaha, O.G., Strauss, H., 1999. $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ evolution of Phanerozoic seawater. *Chem. Geol.* 161, 59–88.
- Wang, W., Cao, C.Q., Wang, Y., 2004. The carbon isotope excursion on GSSP candidate section of Lopingian–Guadalupian boundary. *Earth Planet. Sci. Lett.* 220, 57–67.
- Wignall, P.B., 2001. Large igneous provinces and mass extinctions. *Earth-Sci. Rev.*, 53, 1–33.
- Wignall, P.B., Twitchett, R.J., 2002. Permian–Triassic sedimentology of Jameson Land, East Greenland; incised submarine channels in an anoxic basin. *J. Geol. Soc. Lond* 159, 691–703.
- Wignall, P.B., Morante, R., Newton, R., 1998. The Permo-Triassic transition in Spitsbergen: $\delta^{13}\text{C}$ org. chemostratigraphy, Fe and S geochemistry, facies, fauna and trace fossils. *Geol. Mag.* 133, 47–62.

Microbial fractal structures by iron-oxidizing bacteria in travertines

Chiduru Takashima, Tomoyo Okumura and Akihiro Kano
(Department of Earth and Planetary Systems Science, Hiroshima University)

Iron-rich deposits are commonly developed around vents of hot-springs that precipitate carbonate deposits (travertines). Iron-oxidizing bacteria are responsible for the precipitation by their metabolism that transforms Fe(II) to Fe(III) in a microaerophilic condition.

On the Cover: A red-orange colored dendritic fractal structure by iron-oxidizing bacteria. The iron precipitates are amorphous ferrihydrites and are encased in calcite (Shionoha Hot-spring, Nara Prefecture). Width of the photo is 5 mm

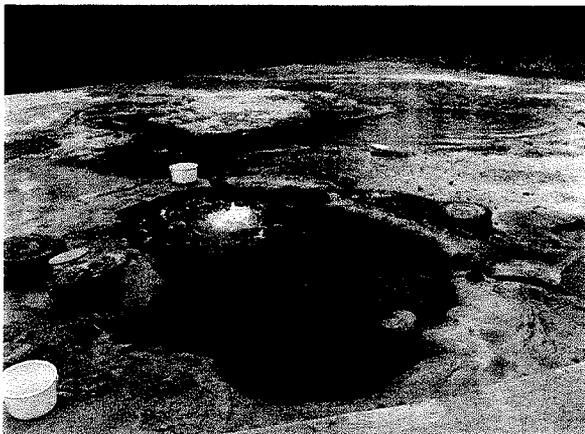


Fig. 1: Oku-hachikurou Hot-spring in Akita Prefecture. The vent discharges CO₂-rich water of 43 °C, which forms iron-rich precipitates around the bath tub. Leaving from the vent, calcite deposits become dominated.

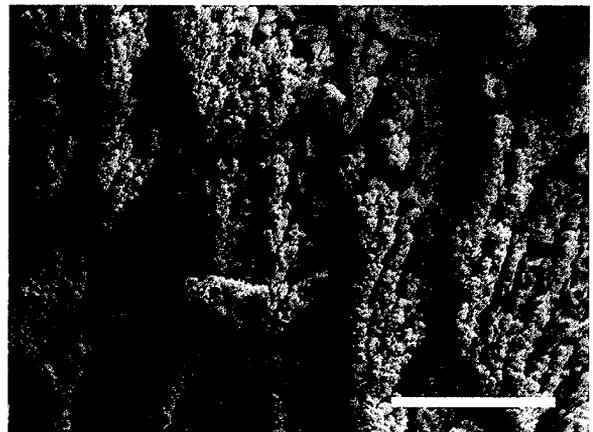


Fig. 2: A SEM view of a specimen etched with acetic acid. The dendritic structure consists of upward-branching filaments of 5 μm thick. The scale bar is 50 μm long.

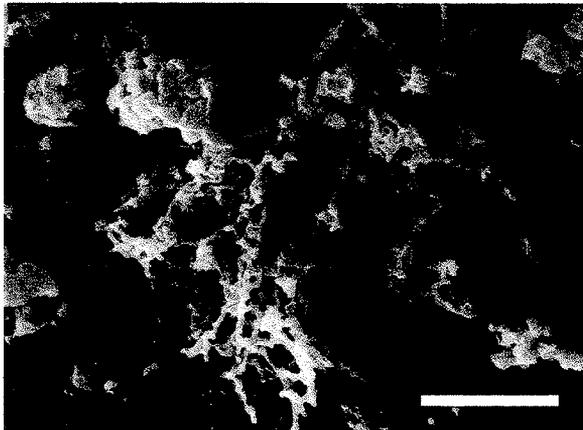


Fig. 3: A SEM view of the dendritic structure dissolved by citric acid showing an organic structure that seems like the sheath of iron-oxidizing bacteria *Leptothrix* sp. The scale bar is 5 μm long.

トラバーチン中の鉄酸化細菌により作られた微生物フラクタル構造

炭酸塩沈殿物（トラバーチン）をともなう温泉の源泉付近には、鉄に富む堆積物が発達する。沈澱プロセスで重要なのは、微好気的条件下で2価の鉄イオンを3価に変えることで生きる鉄酸化細菌の代謝である。表紙：鉄酸化細菌による赤～橙色の樹枝状フラクタル構造（奈良県入之波温泉）。鉄沈殿物は非結晶質の鉄水酸化物であり、周囲は方解石に覆われる。画像の幅は5mm。Fig. 1: 秋田県奥八九郎温泉。源泉からは二酸化炭素を多量に含むお湯（43℃）が湧出し、浴槽の縁に鉄質沈殿物ができる。源泉から離れた場所では、淡黄色の方解石沈殿物が卓越する。Fig. 2: 酢酸でエッチングした試料のSEM画像。太さ5μmの「枝」が上方へと分岐して樹枝状の構造を作る。スケールは50μm。Fig. 3: クエン酸により溶解した樹枝状構造のSEM画像。「枝」の中には鉄酸化細菌 *Leptothrix* のサヤと思われるものが存在していた。スケールは5μm。

(高島千鶴・奥村知世・狩野彰宏, 広島大学理学部地球惑星システム学科)

Hot-springs in eastern Kyushu and their related sedimentation and microbial processes

Akihiro Kano*, Chizuru Takashima* and Sachiko Ohtsuka**

*Department of Earth and Planetary System Science, Hiroshima University,
739-8426 Higashi-Hiroshima, Japan

**Mihara 5th Junior High School, 723-0145 Mihara, Japan

E-mail: kano@geol.sci.hiroshima-u.ac.jp

Introduction

The central part of Kyushu Island is one of the most active geothermal areas in Japan. It is located at the junction of the Southwest Japan Arc and the Ryukyu Arc, where a graben setting (Beppu-Shimabara Graben) is developed by the subduction movement of the Philippine Sea Plate beneath the Eurasian Plate (Kamata and Kodama, 1993). The geothermal activity within the graben is represented by presence of many active or semi-active volcanoes, such as Tsurumidake, Yufudake, Kujuu, Aso and Unzen (Fig. 1), and also by ubiquitous occurrence of

hot-springs.

Among numerous hot-springs (Onsen in Japanese) in central Kyushu, this two-day excursion selects Beppu and Nagaya in Ohita Prefecture, and guides us to various kinds of hot-springs. Excursion stops, especially in Beppu, are locations attractive for tourists as well for scientists. Water and sediments display a wide spectrum in colors (red, yellow, blue, and white) and textures varied with chemical, hydrological and microbial conditions.

We have a long tradition in hot-spring bathing and believe that onsen is good for our physical cure. Onsens are the most popular destinations for spending holidays in Japan, and the number of visitors is growing as our life-style becomes more stressful. The excursion will also prepare occasions to take a bath and to mend the tired body after your long travels. We will stay one night in a hotel in a traditional style (Ryokan), and there we can really relax and enjoy onsen with Japanese food.

Onsens in Beppu

Beppu is certainly one of the largest and oldest spa resorts in Japan. A historical archive in the 8th century (Bungo Fudoki) had already described the presence and public use of hot-springs. In the latter half of the 19th century, when Japan began to modernize, Beppu was significantly developed by hydrothermal exploitation enhancing the discharge of hot water and steam. Today there are over 2300 active wells discharging water warmer than 40°C (Yusa et al., 2000). This number roughly corresponds to 10% of the total number of Japanese onsens, and of course is largest in Japan. These wells together discharge 137×10^6 ton/day that can provide 1 L/day of hot water for each Japanese inhabitant. This amount is also the largest in Japan, and the second in the world next to Yellowstone National Park in the USA.

The hydrothermal system in Beppu is closely associated with its geological settings including volcanisms and fluvial sedimentation. Heat is originated from the late Quaternary Yufu-Tsurumi-Garandake volcanic center, which is located at the eastern end of the Beppu-Shimabara Graben (Fig. 1).

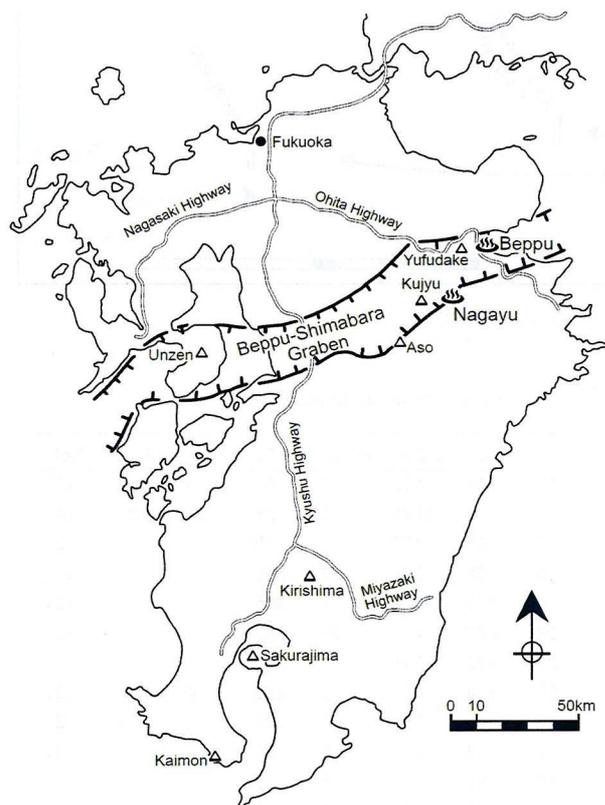


Fig. 1. Map of Kyushu Island showing locations of Beppu and Nagaya. Beppu-Shimabara Graben is one of the major geothermal areas in Japan.

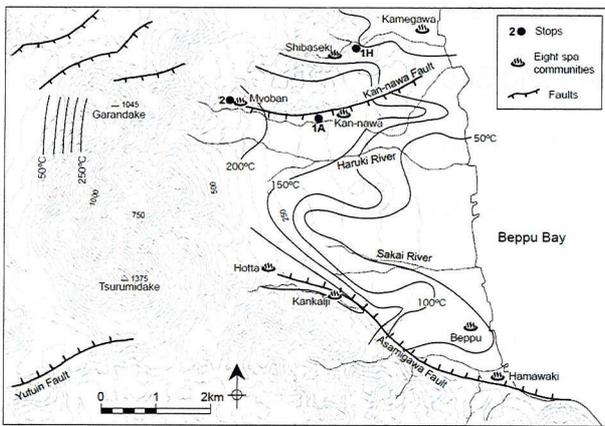


Fig. 2. Map showing eight spa communities of Beppu and excursion stops. Hot-springs are mainly distributed along two faults that border the north and south margins of the Beppu fluvial fan area. Isothermal lines at 100 m below sea-level (after Yusa et al., 2000) are also shown.

Yusa and Oishi (1988) estimated that the total heat output from the 2200 geothermal wells in Beppu between 1985 and 1987 was about 350 MW. The volcanic activity has been preceded contemporaneously with extensional tectonism that began in the mid-Miocene and increased in the Pliocene-Pleistocene age (Kamata, 1989; Kamp and Takemura, 1993), and produced hornblende andesite and dacite (SiO_2 ; 57-63%) lava and volcanoclastics. The most recent explosion happened in 867 AD and erupted volcanic ash from Garandake. Remnants of that activity are still seen in superheated (to about 130°C) fumaroles near the summits of Tsurumidake and Garandake.

Beppu hydrothermal area is a graben region of 5 km (E-W) x 8 km (N-S), and its northern and southern ends are bordered by two normal fault systems; Kan-nawa Fault (in the north) and Asamigawa Fault (in the south; Fig. 2). The latter is an active Holocene fault with a displacement of 35m since 6,300 BP when volcanic ash from Mt. Aso was

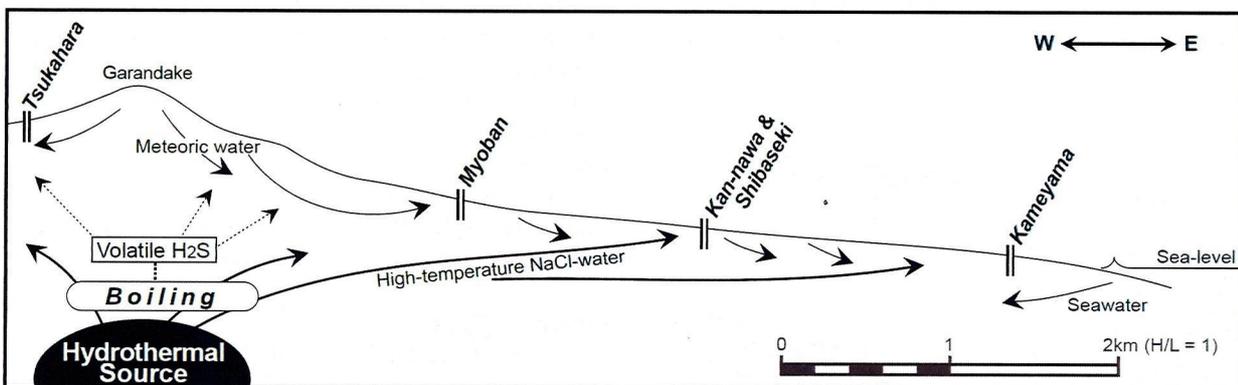


Fig. 3. Hydrothermal model of the northern Beppu region, modified from Oue et al. (2002).

Table 1. Major dissolved components of representative hot-springs in Beppu. Concentrations are in mg/L.

Community	Spring	T (°C)	pH	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ⁻	SiO ₂	Fe ²⁺	Al ³⁺	Ref.
Myoban	Myoban	60.0	3.0	15	3	15	15	308	152	0	64	-	-	(1)
	Yamada-ya	67.0	1.8	94	24	26	11	9	3382	0	128	84	200	(4)
Kan-nawa	Sea Hell	98.0	2.9	383	57	17	22	965	470	0	215	-	-	(2)
	Oven Hell	84.0	3.5	1298	93	2	6	1958	262	0	508	-	-	(1)
	Demon M. Hell	80.8	4.4	1226	171	4	33	1879	315	3	365	-	-	(2)
	White P. Hell	95.0	6.3	450	30	2	26	497	460	55	180	-	-	(2)
Shibaishi	Golden D. Hell	97.5	4.1	1300	215	4	23	1982	349	1	500	-	-	(1)
	Bloody P. Hell	64.0	2.4	814	108	18	53	814	607	0	230	4	2	(3)
	Water-spout Hell	100.0	2.8	613	93	18	13	888	380	0	236	-	-	(2)
Kamegawa	Shibaishi	63.5	3.3	240	51	13	19	308	266	0	192	-	-	(1)
	Hamada	60.1	7.1	298	55	21	46	384	151	198	132	-	-	(1)
Hotta	Hotta	79.2	6.1	72	6	1	18	37	77	102	105	-	-	(1)
Kankaiji	Suginoi Hotel	89.5	8.2	1110	195	2	60	1693	226	105	368	-	-	(1)
Beppu	Kaimonji	57.7	7.0	148	14	23	40	92	54	192	192	-	-	(1)
Wakihama	Shintama Ryokan	46.0	7.9	822	65	126	138	1472	142	117	117	-	-	(1)

1) Ohita Prefecture, 2) Hoshizumi et al. (1988), 3) Oue et al. (2002), 4) This study.

deposited there (Chida, 1995). Much of the hydrothermal wells in Beppu are distributed roughly along the two faults and form eight spa communities; Myoban, Kan-nawa, Shibaseki, and Kamegawa in the north, Hotta, Kankaiji, Beppu, and Hamawaki in the south (Fig. 2). Siliciclastics from the western volcanic highland filled this graven and formed an alluvial fan in the Pleistocene-Holocene age. Downhole temperature measurements (Fig. 2) recognized two main hydrothermal flow paths that are developed along conduits associated with the fault systems and permeate through alluvial gravel and sand (see, Sturchio et al., 1996).

Although the chemical composition of hot-spring waters in Beppu is highly variable (Table 1), three principal types of water were recognized; they are 1) a high-temperature sodium-chloride type, 2) an acidic sulfate type and, 3) a near-neutral bicarbonate type (Allis and Yusa, 1989). Type 1 commonly discharges in wells of the Kan-nawa spa community (e.g., Oven

Hell). Type 2 is represented by Yamada-ya (Table 1) in the Myoban spa community and the Tsukahara Onsen located at the SW foot of Garandake. Variety in chemical composition can be attributed to different mixing ratio of the three types. For instance, Ohsawa and Yusa (1996) found strong correlation between the Na and Cl contents of the waters from the northern Beppu geothermal area and suggested that the H-Na-Cl-SO₄ type of hot-spring waters are performed by the mixing of type 1 and type 2. The subsurface hydrothermal model of Oue et al. (2002) is shown in Fig. 3.

Nagayu Hot-spring

Hot-springs of intermediate temperature (55-43 °C) are distributed in Naori Town (Takeda City) located 25km SW from Beppu (Fig. 1). Wells ranging from 50-250m in depth are approximately aligned along the fault (Oita-Kumamoto Tectonic Line; Fig. 4) that defines the southern border of Beppu-

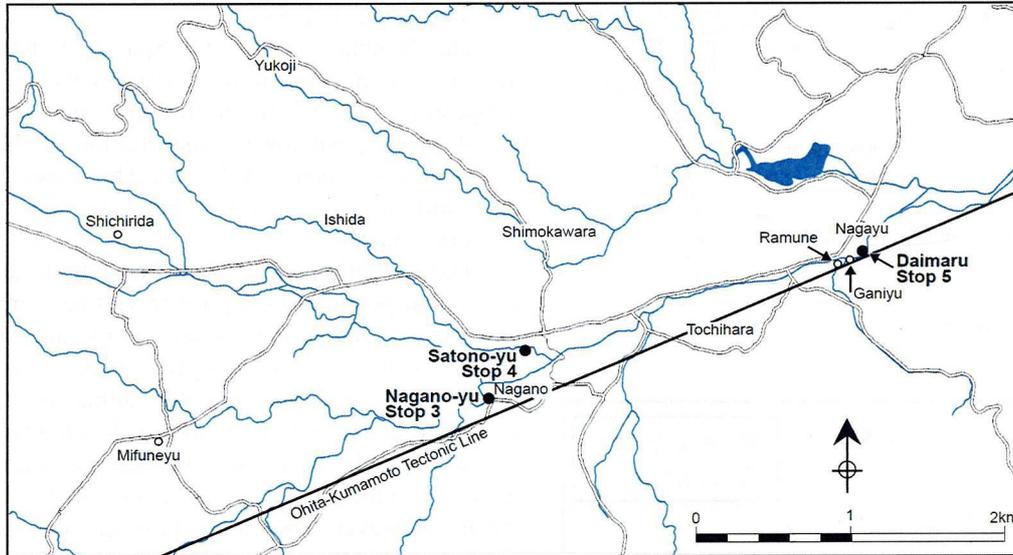


Fig. 4. Map showing the Nagayu Hot-spring area. Solid circles show excursion stops.

Table 2. Chemical and isotopic properties of hot-spring waters in the Nagayu Hot-spring area. Concentrations are in mg/L, PCO₂ in matm.

Locality		T (°C)	pH	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Fe ²⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ⁻	PCO ₂	SIc ¹⁾	δ ¹⁸ O ²⁾	δ ¹³ C ³⁾
Nagan-yu	vent	43.3	6.48	516	85	267	178	2.0	174	524	2411	885	0.51	-10.24	-7.43
	valley	33.2	8.03	513	97	235	156	1.2	173	480	2336	20	1.78	-9.15	-4.86
Satono-yu	vent	51.9	6.86	416	122	325	251	5.3	223	320	2960	513	1.16	-9.55	-6.24
	point 1	31.4	8.04	632	126	302	140	0.5	257	637	2633	22	1.74	-9.41	-4.93
Daimaru	vent	45.8	6.55	471	94	232	160	1.7	186	387	2239	738	0.55	-9.80	-6.60
	point 2	37.2	8.25	443	83	230	71	0.3	158	348	1911	11	1.59	-8.96	-2.91
Shichirida	vent	45.1	6.62	449	70	249	157	1.0	142	562	2078	575	0.58	-9.51	-7.74
Mifune	bath	46.2	7.06	477	83	231	158	0.6	175	566	2141	219	1.03	-9.49	-6.69
Ganiyu	vent	40.2	6.63	466	104	306	198	2.0	176	324	2894	711	0.71	-9.22	-6.13
Ramune	vent	33.2	6.19	215	59	137	76	2.9	89	218	1271	831	-0.39	-	-

1) Saturation index for calcite: $\log(a\text{Ca}^{2+}a\text{CO}_3^{2-}/\text{Sp}(\text{calcite}))$, 2) δ vs. SMOW,

3) Carbon isotope value of DIC, δ vs. PDB, measuring methods refer to Takashima and Kano (2005).

Shimabara Graben.

Nagayu Hot-spring water is neutral pH Na-Mg-HCO₃ type and contains a high concentration of dissolved chemical components (Table 2). Major anions (sulfate, chlorite and bicarbonate) are balanced with Na⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, and K⁺.

Components, such as SO₄²⁻, Cl⁻, Na⁺, and Mg²⁺, are common for higher temperature Beppu Hot-springs, and therefore originated from deeper hydrothermal aquifer. Whereas high dissolved carbonate and calcium contents indicate water-rock reaction in shallower aquifer of intermediate temperature range. Stable isotopic measurements (Iwakura et al., 2000; Yamada et al., 2005) indicate that the carbon dioxide is largely originated from a

magmatic source. However, high equilibrate carbon dioxide pressure at the vents (~1 atm) is not easily achieved by simple cooling of high-temperature magmatic aquifer due to their low solubility in high temperature.

The hydrothermal system of the Nagayu Hot-springs can be explained with a three-layered model (Fig. 5). In a deeper part, there might be high-temperature fluid from the Kujyu volcano, which contains acid (H₂SO₄ and HCl) reacting with rock-forming minerals. Volatile CO₂ degasse by boiling of water rises and is dissolved in the middle water layers of lower temperature.

The hot-springs in Nagayu mostly well out from the middle water layer. It is steam heated meteoric water mixing with the deeper high-temperature water. The major reactant of this layer is carbonate acid that causes raised concentration of calcium by chemical weathering of Ca-feldspar and Ca-mica. This water layer rises along the fault up to 50m below the ground. Decreasing water pressure results to further CO₂-degassing (Fig. 5).

The Ramune (lemonade) Spa is probably the most famous in Nagayu. It is naturally welled lower-temperature (33 °C) water that contains significant dissolved CO₂ but lower concentration of the other chemical components (Table 2). The water is from the third shallowest water layer of the Nagayu hydrothermal system.

The hot-spring water of the Nagayu middle layer has a high potential to deposit travertine (carbonates precipitated hot-spring water; Ford and Pedley, 1996). An important process is CO₂ degassing from the water, which increases the saturation state for carbonate minerals to a significant level. Travertines are developed along the drainage passages from baths, of which we can see many along the Seri River. However, the short passage and periodic cleaning prevent the accumulation of travertine in many localities.

The Nagayu hot-spring development is one of a few aragonitic travertines in Japan. Although there are several aragonite factors controlling carbonate mineralogy, aragonite of the Nagayu case is principally related to the high Mg/Ca ratio of the water, which inhibits calcite crystal growth. Travertine-depositing waters in Japanese Islands generally contain more Ca²⁺ than Mg²⁺, and precipitate calcitic deposits (Fig. 6).

The travertines of the Nagaya area exhibit various textures that change with hydrological conditions and microbial association. In general, tightly calcified texture developed under quickly flowing water, whereas unconsolidated muddy aragonite is deposited in calm water pools. Microbes, such as filamentous algae, cyanobacteria, and heterotrophic bacteria, are commonly associated with

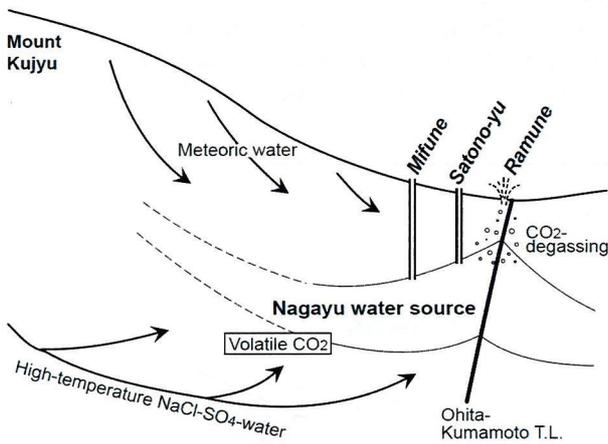


Fig. 5. Hydrothermal model of the Nagayu area.

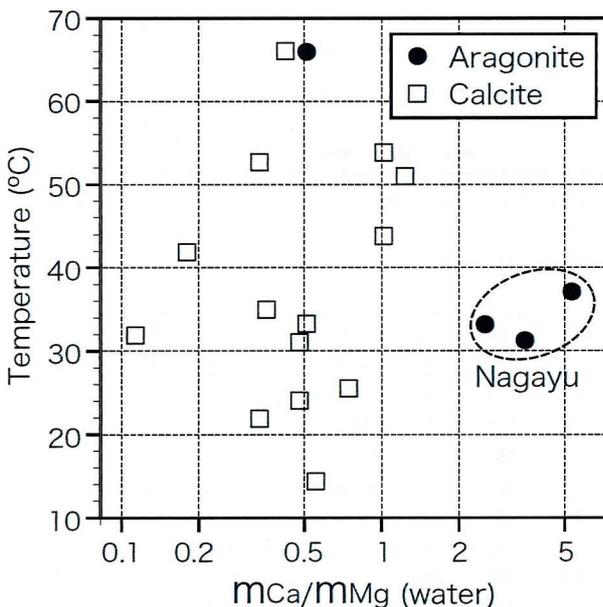


Fig. 6. Ca/Mg ratio vs. temperature of the calcite and aragonite travertine-depositing hot-spring waters in Japan. Data were compiled from Kitano (1963), Takashima and Kano (2005) and this study.

the travertine. Their role in calcification is poorly understood, or they are just passively encased with fast-growing travertine deposits.

We will visit three localities of the Nagayu Hot-springs (Fig. 4; Nagano-yu, Satono-yu and Daimaru Ryokan). If time allows, we will try bathing in a carbonate spa. The water is colored slightly yellow due to contents of aragonite powder. People think that this type of hot-spring provides good cures. CO₂ bubbles activates skin metabolism, and radioactive minor elements (Ra and U) in the aragonite relieves symptoms of arthritis, emphysema, diabetes, and other health problems.

Field stops

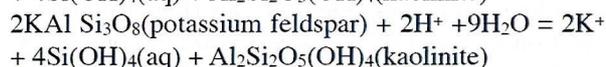
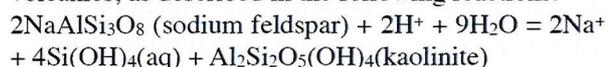
Day 1

Stop 1 – Excursion in “Hells”

Kan-nawa is the most impressive spa community in terms of its active hydrothermal activity. Wells emitting hot vapor are all over the area. Local people call them “Jigoku”, the Japanese word for hell. We will visit nine hells that are open for tourists, and

observe some hydrothermal phenomena. Please, do not touch the water. It is hot enough to feel hell!

1A. Bonze Hell: Typical mud-pods (mud craters; Fig. 7A) appearing as baldheads of bonze (monks). Each pod explodes hot (> 90 °C) muddy fluid and gas at a certain interval to the surface. Mud is mainly clay formed by hydrothermal alteration of the basement volcanics, as described in the following reactions.



1B. Sea Hell: It is considered that this hell was born in 1200 years ago, when Tsurumidake (Fig. 2) was most recently exposed. The vent daily discharges 3,600 m³ of water at 98 °C to a wide pond of 260 m². The water richly contains iron sulfate that exhibits a marine blue color.

1C. Mountain Hell: This hell forms a mud volcano consisting of repeated layers of thick mud accumulation stacked upon one another. Steaming from the ground (as well as various animals) can be seen.

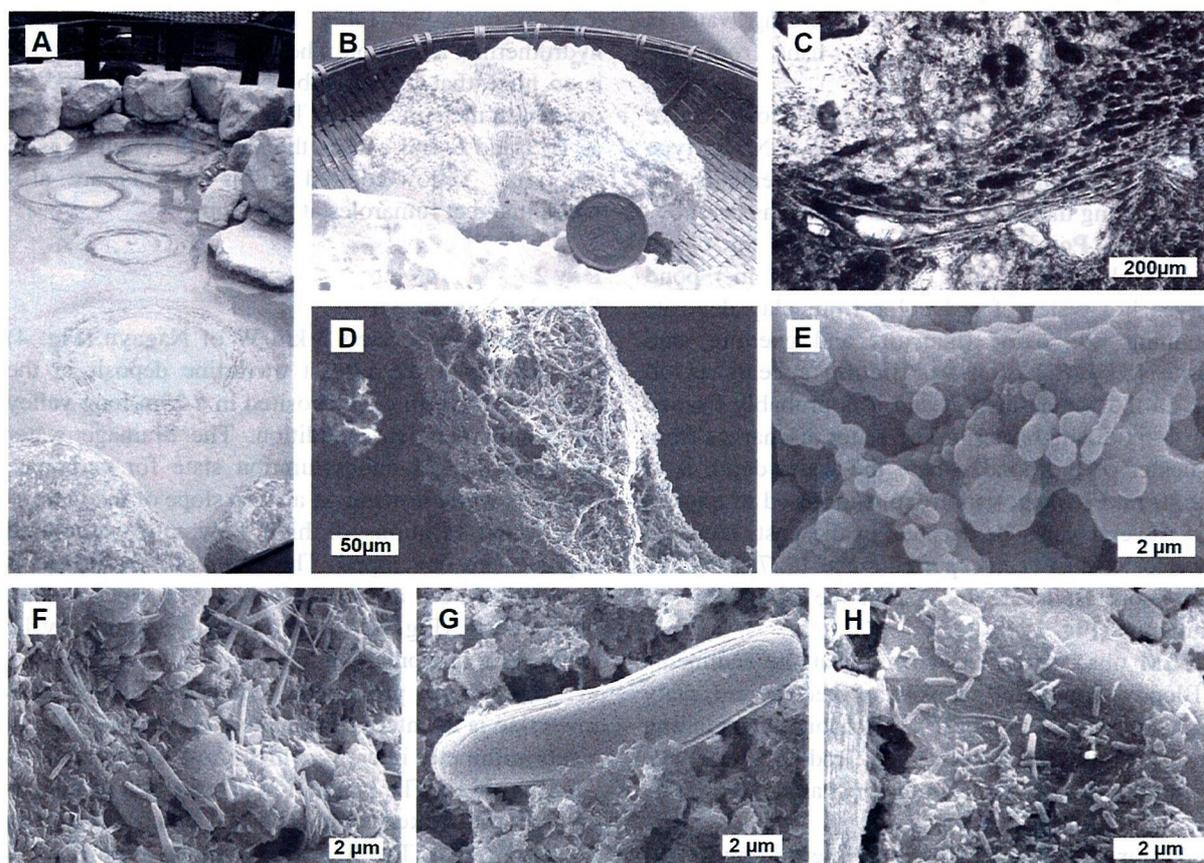


Fig. 7. Sediments seen in the Beppu “Hells”. A) Mud-pods (bonze) in the Bonze Hell. B) Siliceous sinter formed in the Oven Hell. C) Texture of the siliceous sinter. D) SEM image of a bundle of strings forming the silica sinter. E) Spherical amorphous silica forming the strings of the silica sinter. F) SEM image of sediment deposited in the Bloody Pond Hell. G) A diatom observed in sediment in the Bloody Pond Hell. H) Crystals associated with rod-like structure of sub-micron size.

1D. Oven Hell: Water richly containing silica fills several ponds of different sizes. Water changes its color from transparent through blue to white during change in physical states of silica. Decreasing temperature of the transparent hot-spring water, silica first forms minute colloidal molecules that only reflect short wavelength blue light. As the colloidal silica grows into larger grains, the full spectrum of light becomes reflected and the color turns to white.

White and porous silica deposits (Fig. 7B) can be found on the edge of the largest pond. It consists of bundles of silica string (Figs. 7C, D). Each string is formed by spherical amorphous silica of 1 μm in diameter (Fig. 7E).

Thermophilic and acidphilic Archea was reported from this hell (Kitajima et al., 1997).

1E. Demon Mountain Hell: This hell is characteristic in its active steaming. The chemical component shows typical Na-Cl type high-temperature water (Table 1). It uses heat from steam to grow tropical large reptiles (crocodiles, alligators, etc.).

1F. White Pond Hell: Milky white color is due to tiny silica grains precipitated from the water, which have also been seen in Oven Hell. Spring water is initially transparent. Freshwater fish from the Amazon can be seen in this hell.

1G. Golden Dragon Hell: This hell shows active steaming from a fumarole. The water is Na-Cl type and concentration of dissolved components is the highest among the hells. They grow bananas here.

1H. Bloody Pond Hell: This is one of the oldest Onsen in Beppu. A wide (nearly 1,000 m²) pond reserves hot water of red color from clay deposits containing iron oxide (hematite and goethite) and jarosite [KFe₃(SO₄)₂(OH)₆]. Biofilm appears as oil slick on the water surface, and it is probably formed by iron-oxidizing bacteria. The water discharges from the center of the pond, where the water depth is at least 30 m. Frequent vapor explosion used to happen every several years or decades in the past, however no explosion has been reported since 1927. This and Water-spout Hells are located in the Shibaseki spa community (Fig. 2).

SEM observation recognized that the sediments of Bloody Pond Hell consist of needle and platy forms of crystals (Fig. 7F). Microbionts including diatoms (Fig. 7G) were observed. Rod-like structures of sub-micron size occur on the crystal surfaces (Fig. 7H).

1G. Water-spout Hell: This is an intermitting geyser discharging hot water every 25 minutes. The geyser can expose the water up to 20 m in height, although it is protected for the safety of visitors. An intermitting geyser consists of complicated subsurface chambers. When the water does not discharge, vapor pressure

grows in a chamber until it reaches a critical level. Then, the pressure is released by upwelling of the boiling water and vapor from the subsurface chamber system.

Stop 2 – Alum deposits in the Myoban spa community

Myoban is the Japanese word for alum, aluminum-containing sulfate mineral (e.g., M(I)Al(SO₄)₂·12H₂O). This communities name comes from the traditional Fe-alum production using hydrothermal steaming. We will visit huts built on the steaming ground, where people farm alum on local blue-colored soil consisting mainly of Fe-montmorillonite. Alum crystal of a few centimeters grows vertically from the soil within one week.

Onsens of the Myoban spa community are characteristic for their high contents of sulfur species (SO₄²⁻, H₂S, and S), which were initially volatile H₂S released from boiling parent geothermal fluid. Majorities of the H₂S are oxidized into H₂SO₄ in steam-heated meteoric waters and became an agent for hydrothermal alteration of the basement volcanic rocks and soil. Significant contents of Fe²⁺ and Al³⁺ (e.g., Yamada-ya; Table 1) are attributed to this hydrothermal alteration. The amount of volatile sulfur is so huge that it cannot be completely oxidized by oxygen in meteoric water. The rest of the sulfur emits as H₂S and S and causes the smell of rotten eggs in this area. Yellow-colored sulfur crystals are also precipitated at fumaroles at this stop.

Day 2

Stop 3 – Nagano-yu

Nagano-yu located 2 km W of Nagayu (Fig. 4) has developed the largest travertine deposit in the area. The travertine is deposited in a 25m-long valley of a light deficient condition. The drainage water increases its pH and saturation state for carbonate minerals while flowing on a steep slope of the valley.

At the locations of high flow rate, stone-hard deposits are developed. The color of the surface is light yellow, but a few cm inside, it changes to dark brown-black (Fig. 8A) that probably is tinted by Fe sulfide or oxide precipitation.

The most prominent characteristic of this travertine is its internal laminated texture (Fig. 8B) of a sub-millimeter interval, which most likely indicates a daily pattern. The lamination is repetition of lighter-colored and darker-colored layers, which are equally thick (Fig. 8C). The lighter-colored layer consists of tightly-packed fibrous aragonite crystals (Fig. 8D) extending perpendicularly to the lamination. The darker colored layer consists of laterally aliened fan-shaped bundles, and exhibit several brown bands of ~10 μm thick. It occurs on the surface of a sample

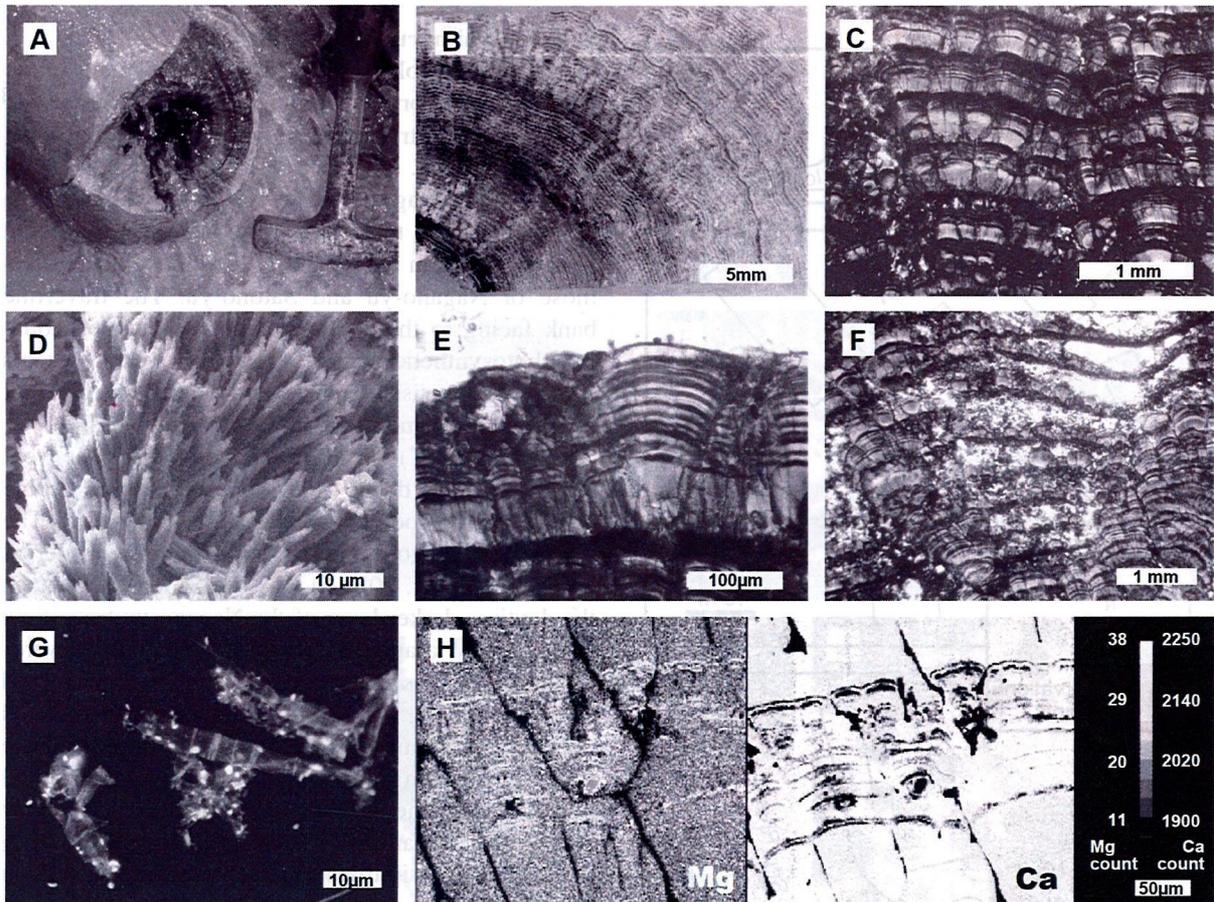


Fig. 8. Travertines at Nagano-yu (stop 3). A) Aragonite travertine with dark brown to black color inside. B) Thin section of specimen shown in Fig. 8A. C) Daily (?) lamination of the travertine consisting of lighter layers and banded darker layers. D) SEM image of the travertine showing a bundle of aragonite needles. E) Surface of the travertine collected before sunset. F) Porous texture of travertine a few centimeters deep from the surface. The specimen partly lacks lighter layers. G) DAPI fluorescence image of microbes extracted at a 2 cm depth from the travertine surfaces. Micron-sized heterotrophic bacteria (bright spots) occur on larger filamentous bacteria (probably cyanobacterial sheath). H) Elemental mapping of the laminated aragonite travertine (left; Mg, and right; Ca). Brown bands are rich in Mg contents.

collected before sunset (Fig. 8E), and is likely developed in daytime. This is supported by fluorescence of photosynthetic pigments from the brown bands. Common occurrence of tiny ($< 1 \mu\text{m}$) spherical crystals commonly result in porous texture of the brown bands. Results of elemental mapping of the travertine shows that the brown bands contain higher Mg and lower Ca concentration than the surrounding fibrous aragonite (Fig. 8H). This indicates that extracellular polymeric substance (EPS) non-selectively adsorbs cations and induces precipitation of the microcrystal nuclei.

Dark brown deeper deposits exhibit porous texture that mainly consists of banded darker layers and lack lighter layers in some cases (Fig. 8F). They were formed by biogeochemical chine reactions. EPMA analysis recognized iron oxide, probably $\text{Fe}(\text{OH})_3$, in the dark brown part. DAPI observation identified heterotrophic bacteria eating cyanobacteria (Fig. G). Decomposition of organic matter consumes

dissolved oxygen and succeeds to microbial sulfate reducing. Produced sulfide combines with cations, such as Fe^{2+} , and temporally precipitates metastable sulfide minerals. The sulfide most likely causes the dark brown color, however it is oxidized quickly to $\text{Fe}(\text{OH})_3$. This oxidization releases H^+ that causes dissolution of aragonite within the inner section of the travertine.

Stop 4 – Satono-yu Spa

Satono-yu is located 500 m NE of Nagano-yu. It is a well-organized public spa consisting of several baths (Fig. 9A), some of which are built in open-air. Satono-yu was selected as one of the 100 best Onsens in Japan. They use 100% wellled hydrothermal water without heating. These baths are well organized and regularly cleaned, but we can still observe different types of deposits.

A 3-m high deposit is developed at the drainage from the northernmost bath into the Ichi River (point

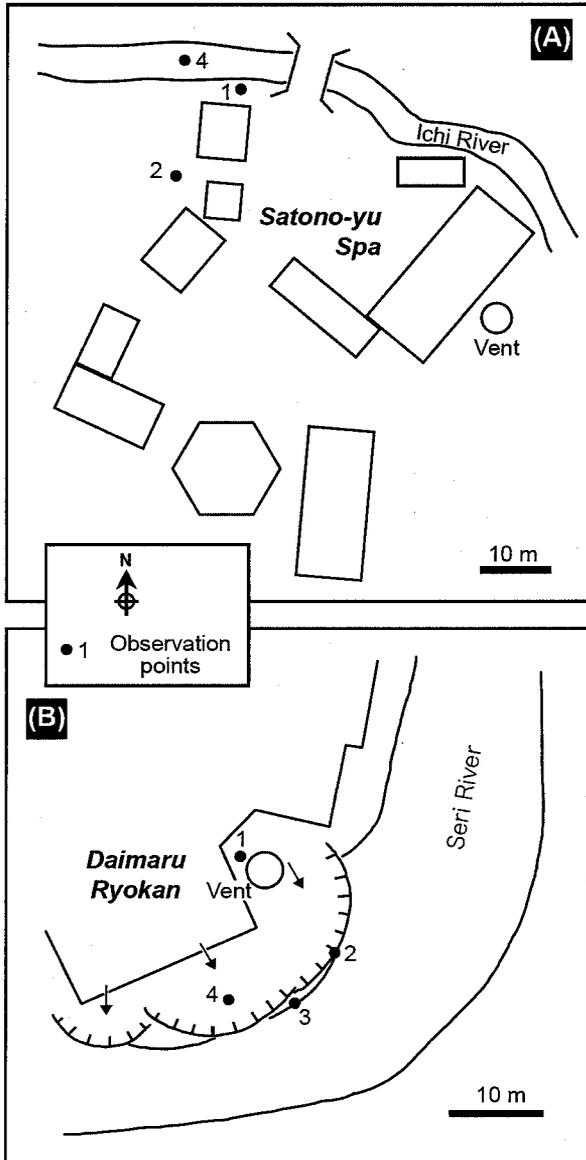


Fig. 9. Map of Satono-yu (stop 4) and the Daimaru Ryokan (stop 5).

1; Fig. 9A). The water flows down almost vertically and deposits hard aragonite travertine. Textural characteristics are similar to ones seen in Nagano-yu. It is (daily?) banded, light yellow on the surface, but grey-dark brown in a deeper part (Fig. 10A). The travertine surface partly exhibits green color by biofilm covering (Figs. 10B, C) of filamentous algae and cyanobacteria.

Thin aragonite film, called paper-thin raft (Guo and Riding, 1999), is formed on the water surface of the baths. It is formed by CO_2 degassing and an increased saturation state in the uppermost water layer, and is well observed in open-air baths.

Stop 5 – Daimaru Ryokan

Daimaru Ryokan is one of the oldest hotels in the Nagayu Hot-spring community. It reserves a relatively large travertine mound at the bank of the Seri River (Fig. 9B). Travertines are deposited in three water passages; overflow from the vent and two drainages from the baths. The travertines of the Daimaru Ryokan are generally less consolidated than those of Nagano-yu and Satono-yu. The travertine bank facing to the south provides a suitable habitat for photosynthetic microbes that form various colors (green, yellowish green, and light purple) of microbial mats and films on the travertine surface.

Warm (46°C) water overflowing from the vent (Fig. 10D) falls down to a small pool, where pebble size spherical nodules were sometimes formed. The nodules are aragonite and exhibit concentric internal lamination (Figs. 10E, F) that resembles one seen in the daytime darker layer of the Nagano-yu travertine. The fibrous aragonite crystals construct upward-radiating bundles that are typically 0.5mm wide and 1.0mm long (Fig. 10G). Similar but less consolidated nodules are formed at the location where drainage water falls down in the middle passage. A principal condition for the nodule development is probably physical disturbance of water, which activates CO_2 degassing and significantly increases the saturation state.

Water flowing over the mound quickly precipitate aragonite that forms muddy sediments and poorly-consolidated travertines. During flowing from the vent to the Seri River, water decreases its Ca content from 160 to 71mg/L (Table 2).

The travertines of the Daimaru Ryokan are highly associated with microbes. One collected at the upper apron of the travertine mound (point 2 in Fig. 9B) shows porous texture having irregular lamination of ~ 1 cm interval (Fig. 10H). The texture consists of oval-semicircular porosity and curved walls fringed with spherical aggregates of aragonite. The wall was most likely precipitated on microbial films (Fig. 10I). This texture is similar to sickle-cell structure that is formed under a hypersaturated condition (Pache et al., 2001). Sub-millimeter aragonitic spheroids with concentric internal structure are also developed in the porous travertine (Fig. 10J)

Travertine with a possible daily lamination can be observed at the lower apron (point 3). The texture is more porous than the Nagano-yu travertine, and partly lacks the nighttime lighter layers.

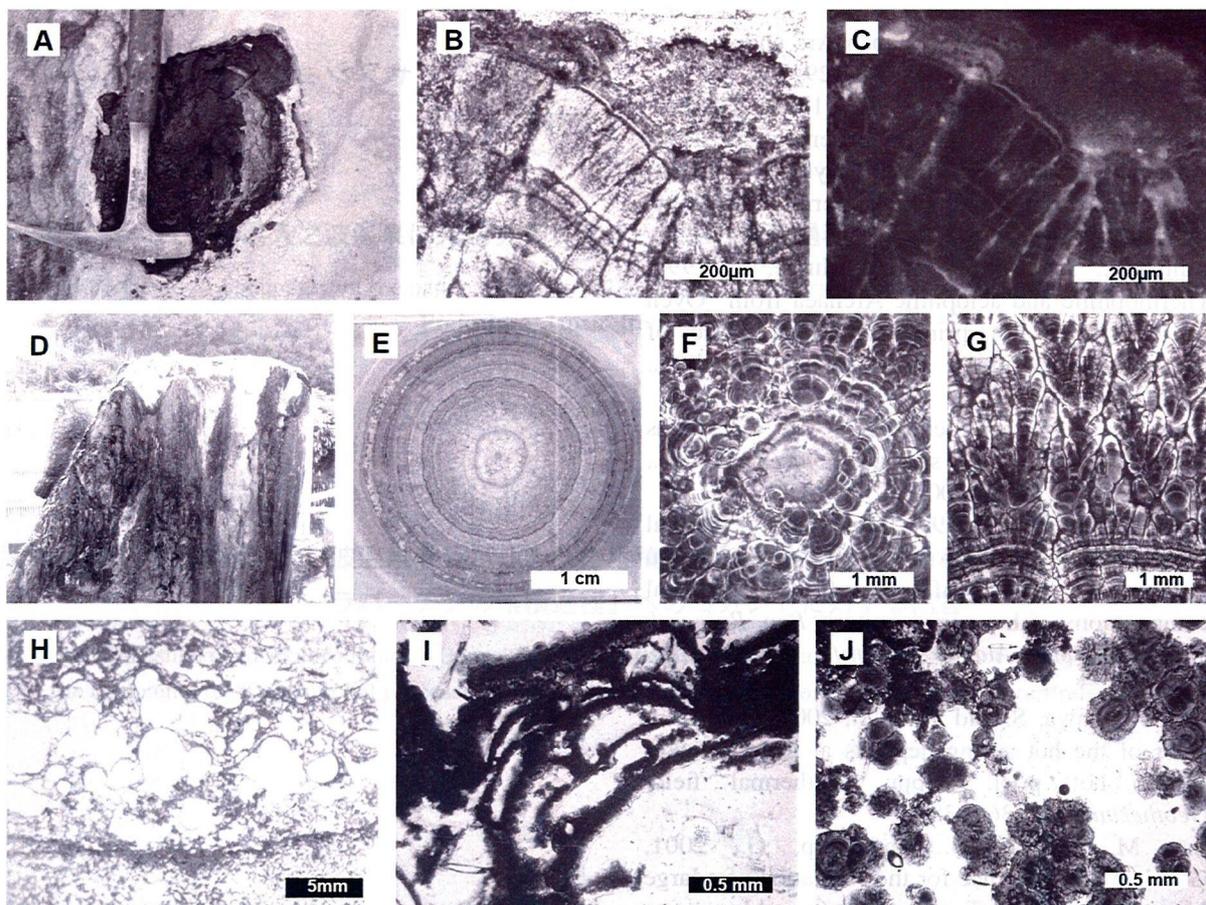


Fig. 10. Travertines at Satono-yu (A-C) and the Daimaryu Ryokan (D-J). A) Aragonite travertine exhibiting dark brown to black color inside at point 1 (Fig. 9A). B) Travertine surface encrusted by microbial film. C) Fluorescence image of Fig. 10B. D) Vent of the Daimaryu Ryokan with precipitation of iron-rich travertine. E) Section of a spherical travertine nodule collected in a pool (point 1 in Fig. 9B) beside the vent. Concentric lamination is developed. F) Magnified view of the center of the nodule. G) Magnified view of the outer part of the nodule consisting of upward-radiating bundles, typically 0.5mm wide and 1.0mm long. H) Porous travertine collected at point 2 (Fig. 9B). I) Calcified microbial film of the porous travertine. J) Sub-millimeter aragonite spheroids with concentric internal structure in the porous travertine.

Acknowledgements

We would like to thank the owners of the Satono-yu and Daimaryu Ryokan who kindly permitted our study and sample collection. Hayami Ishisako and Yoshihiro Shibata kindly supported our laboratory works.

References

- Allis, R.G. and Yusa, Y., 1989, Fluid flow processes in the Beppu geothermal system, Japan. *Geothermics*, **18**, 743-759.
- Chida, N., 1995, Age of the Beppu Fan and recent activity of the Horita-Asamigawa Fault Group, Northeast Kyushu, Japan. *Chigakuzasshi*, **104**, 895-898.**
- Ford, T.D. and Pedley, H.M., 1996, A review of tufa and travertine deposits of the world. *Earth-Sci. Rev.*, **41**, 117-175.
- Guo, L. and Riding, R., 1999, Rapid facies changes in Holocene fissure ridge hot spring travertines, Rapolano Terme, Italy. *Sedimentology*, **46**, 1145-1158.
- Hoshizumi, H., Ono, K., Mimura, K. and Noda, T., 1988, *Geology of the Beppu District*. 131 p. Geological Survey of Japan, Tsukuba.*
- Iwakura, K., Ohsawa, S., Takamatsu, N., Oue, K., Notsu, K., Yusa, Y. and Imahashi, M., 2000, Origin of carbon dioxide discharged from Nagayu Hot Spring, Oita Prefecture, Japan. *Onsen Kagaku*, **50**, 86-93.*
- Kamata, H., 1989, Volcanic and structural history of the Hohi volcanic zone, central Kyushu, Japan. *Bull. Volc.* **51**, 315-332.
- Kamata, H. and Kodama, K., 1993, The volcanic zone as volcano-tectonic depression and its formation tectonics—three tectonic events caused by subduction of the Philippine Sea plate under the

- junction of the Southwest Japan Arc and Ryukyu Arc. *Mem. Geol. Soc. Japan*, **41**, 129-148.*
- Kamp, P.J.J. and Takemura, K., 1993, Thermotectonic history of Ryoke Basement in Hohi volcanic zone, northeast Kyushu, Japan: constraints from fission track thermochronology. *The Island Arc*, **2**, 213-227.
- Kitajima, T., Tsumagari, N. and Murae, T., 1997, Thermophilic and acidphilic Archaea from "Oven Hell" in Beppu hot springs and characteristics of the lipid compositions. *Res. Organic Geochem.*, **12**, 61-70.*
- Kitano, Y., 1963, Geochemistry of calcareous deposits found in hot springs. *Jour. Earth Sci., Nagoya Univ.*, **11**, 68-100.
- Ohsawa, S. and Yusa, Y., 1996, Flow paths of thermal ground waters in the northern part of the Beppu geothermal area inferred from chemical compositions of hot spring waters. *Rep. Research Project Grant-in-Aid for Scientific Research (B)*, 101-114.**
- Oue, K., Ohsawa, S. and Yusa, Y., 2002, Change in color of the hot spring deposits at the Chinoike-Jigoku hot pool, Beppu geothermal field. *Geothermics*, **31**, 361-380.
- Pache, M., Reitner, J., and Arp, G., 2001, Geochemical evidence for the formation of a large Miocene "travertine" mound at a sublacustrine spring in a soda lake (Wallerstein Castle Rock, Nördlingen Ries, Germany). *Facies*, **45**, 211-230.
- Sturchio, N.C., Ohsawa, S., Sano, Y., Arehart, G., Kitaoka, K. and Yusa, Y., 1996, Geochemical characteristics of the Yufuin outflow plume, Beppu hydrothermal system, Japan. *Geothermics*, **25**, 215-230.
- Takashima, C. and Kano, A., 2005, Depositional processes of travertine developed at Shionoha hot spring, Nara Prefecture, Japan. *Jour. Geol. Soc. Japan*, **111**, 751-764.
- Yamada, M., Amita, K. and Ohsawa, S., 2005, Isotope-hydrological study on formation mechanism of carbonate springs at the southeastern foothills of Kuju Volcano, central Kyushu, Japan. *Onsen Kagaku*, **54**, 163-172.*
- Yusa, Y., Ohsawa, S. and Kitaoka, K., 2000, Long-term changes associated with exploitation of the Beppu hydrothermal system, Japan. *Geothermics*, **29**, 609-625.
- Yusa, Y. and Oishi, I., 1988, Statistics of mass and heat outputs from wells in the Beppu geothermal system during 1985 to 1987. *Reports Oita Pref. Hotsprings Res. Soc.* **39**, 1-6.**

原稿の図とキャプションの番号に食い違いがある。

* in Japanese with English abstract

** in Japanese

茂野 博：「奈良県入之波温泉に発達するトラバーチンの堆積過程」へのコメント（様々な観点から）

Hiroshi Shigeno : Comments on the paper “Depositional processes of travertine developed at Shionoha hot spring, Nara Prefecture, Japan” from various viewpoints.

高島千鶴・狩野彰宏：入之波温泉トラバーチンの堆積速度と日輪組織－「奈良県入之波温泉に発達するトラバーチンの堆積過程」へのコメントに対する回答

Chizuru Takashima and Akihiro Kano : Depositional rate and daily lamination of Shionoha hot spring travertine-Reply to the comments on “Depositional processes of travertine developed at Shionoha hot spring, Nara Prefecture, Japan”.

地質学雑誌 第112巻 第7号 別刷

2006年7月

THE JOURNAL OF THE GEOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN VOL. 112 NO. 7

July 2006

茂野 博* : 「奈良県入之波温泉に発達するトラバーチンの堆積過程」へのコメント (様々な観点から)

Hiroshi Shigeno * : Comments on the paper "Depositional processes of travertine developed at Shionoha hot spring, Nara Prefecture, Japan" from various viewpoints.

はじめに

地表～地下浅部で温泉水・湧水など (以下, 多くの場合に「流体」と呼ぶ) から生成・固着・沈殿・堆積する鉱物 (一部に生物の生成物・遺骸などを含む; ここでは「沈殿物」と呼ぶ) は, 学術的のみならず応用的 (資源利用, 環境保全など) にも興味深い対象である (例えば, 茂野, 1995). 最近では微生物学, 地球環境学, 気候変動学などの立場から, 特に炭酸塩沈殿物について研究が鋭意進められている.

高島・狩野 (2005) による論文「奈良県入之波温泉に発達するトラバーチンの堆積過程」は, 日本の比較的大きな温泉水起源の炭酸塩沈殿物の一つについて, 地質学, 地球化学, 鉱物学的な各種手法に基づく総合的な調査・研究の結果を新たに報告しており, 全体としては学術的な価値を十分に含んでいる. しかし, 空間的・時間的に複雑な現象に対して, 十分には記載・分析・考察が行われていない部分が見受けられる. 本説ではそれらの問題点を指摘するとともに, より良い理解を指向した議論を行う. なお, 本説のおわりにでは, 高島・狩野 (2005) の報告についてより多様, より基礎的な観点から3つの参考意見を述べた.

本説では議論の混乱を避けるために, (1) 流体から生成しつつある鉱物 (生成物; 浮遊性のものを含む) と流路上に固着・堆積した鉱物 (沈殿物; 生物起源のものを含む) との区別に留意した. また, (2) 流体からの鉱物生成の反応速度 (化学的に定義される), 特定の場における単位時間当たりの鉱物の生成量 (速度), 沈殿物の成長速度などの区別にも留意した. そのため, 表現が若干くどくなっている場合があることをご容赦願いたい.

議 論

高島・狩野 (2005) による入之波温泉の沈殿物の記載・分析・考察について, 本説では特に以下の4点を議論する.

- (1) 沈殿物全体のマクロな成長速度の見積り.
- (2) 非定常的な温泉水の化学組成の変化とその原因.
- (3) 地点5.0の特異性 (沈殿物段差の存在) とその原因.
- (4) 縞状組織 (日輪?) の生成機構.

1. 沈殿物全体のマクロな成長速度の見積り

高島・狩野 (2005) では, 入之波温泉の湧出・沈殿・流出系の全体についてマクロな化学収支計算が行われていない. この概括的な手法は, 容易であると同時に非常に有力であり, 沈殿物成長速度の野外実測結果の検証の目的で適用が不可欠であろう.

高島・狩野 (2005) によれば, 入之波温泉の湧出量は毎分約 500 L とされており, 流動系の湧出・流出間の Ca 濃度の変化は平均的に 240 mg/L 程度である. したがって, 系全体の炭酸塩鉱物の生成量は毎分 0.3 kg 程度と見積もられ, 年間の沈殿物生成量は概略 80 m³ と推定される (CaCO₃ 以外の鉱物の沈殿量を無視し, 空隙水などを含む沈殿物の密度を 2 g/cm³ と仮定). 一方, 高島・狩野 (2005) の Fig. 1C に基づけば, 沈殿物の分布面積は概略的に 350 m² (70 m × 5 m) 程度である. したがって, その全域に沈殿物が一様に成長していると仮定すれば, 沈殿物の厚さの増加は年平均 23 cm 程度と計算される.

高島・狩野 (2005) の地点 5.0 における沈殿物の成長測定値に基づく ~ 20 cm/年の推定値は, この値とオーダー的に一致しており, 入之波温泉の炭酸塩沈殿物の平均的な成長速度に近いと考えられる. しかしながら, これは後述するように偶然の一致の可能性があり, 一測定値をもって系全体の成長速度を代表するとすれば, 論理的ではない.

2. 非定常的な温泉水の化学組成の変化とその原因

高島・狩野 (2005) では, 長さ約 70 m の流路に沿った 3 ~ 9 点の温泉水の化学組成が 2002 年 4 月 ~ 2004 年 4 月の間に合計 6 回分析されているが, 考察に利用されているデータはその一部に限られている. 今回筆者は, 高島・狩野 (2005) の Table 1 と Fig. 3 を検討し, 温泉水の化学組成の空間的・時間的な変化を図化してみた (Figs. 1, 2). 特に Ca 濃度の変化について, Fig. 2 では流体中の保存性が高い Cl 濃度を用いて地表水 (Cl・Ca 濃度が低い) の混入と炭酸塩沈殿物の生成の 2 過程が及ぼす影響を区別化し, 前者の効果が比較的小さいことを示した.

Fig. 1 と Fig. 2 によれば, 本流動系の湧出・流出間で Ca 濃度は「非定常的な変化」を示していることが明らかである. したがって, 炭酸塩沈殿物の成長速度も非定常的に変化していると考えられる必要がある. しかし, これらの時間変化が周期的であるのかランダムであるのか, どのような周期・変動幅であるのかなどについては不明である.

この非定常性の原因については, 様々な可能性がある. し

2006年6月16日受付. 受理.

* 産業技術総合研究所地圏資源環境研究部門 (地質調査総合センター)
Geological Survey of Japan, AIST, Tsukuba, Ibaraki 305-8567, Japan
H.Shigeno,hiroshi-shigeno@aist.go.jp

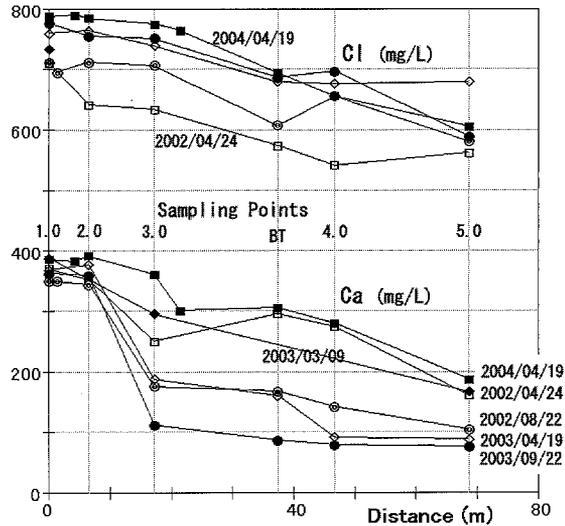


Fig. 1. Diverse temporal changes of Ca and Cl concentrations with increasing distance from the discharge well at the Shionoha hot springs (data are after Takashima and Kano (2005, Table 1 and Fig. 1C)). Sampling points are shown in a simplified and integrated manner by combining the two water flow paths.

かし、(1) 地点 1.0 においては化学組成が一定性を持つことから、湧出温泉水の化学組成の変化に帰することは難しい。また、(2) 流路 2 分岐後の地点 3.0 の流水と浴槽からの流水 (BT) の化学組成が比較的高い相関性を示す (Fig. 1 参照) ことから、温泉利用による人工的な影響も考えにくい。そのほかに原因を求めれば、(3) 生物活動の影響、(4) 地表混入水の影響 (上述)、何らかの (5) 気象的現象の影響、(6) 天文的現象の影響なども可能性として考えられるが、それらを支持するデータは見当たらない。

筆者がより可能性が高い原因として指摘したいのは、(7) 温泉水の湧出量の変化とこれに伴う流体の流速変化である。すなわち、鉱物生成の反応速度は一定と仮定しても、流速が遅ければ (流体の平均滞在時間が長い) 沈殿物は温泉湧出地に近い位置に集中して、逆に速ければ遠い位置にも継続して形成されるであろう。この仮説の検討に必要な流量と流速の変化について、報告されているデータ (湧出量、毎分約 500 L のみ) は非常に限られている。しかし、地下~坑井口元で多量のガスの分離・放出を伴うような温泉では、短期的~長期的に大きな流量・流速の変動が生じることはありそうなことである。

3. 地点 5.0 の特異性 (沈殿物段差の存在) とその原因

高島・狩野 (2005) の Fig. 1C (記号で表示) によれば、比較的大きな沈殿物ドーム (ドーム (凸状地形) よりも崖、滝あるいは段差と呼ぶ方が適当) が温泉湧出地から比較的近い位置に、分湯に対応して 2 つ存在する。その一つは、温泉湧出地から主水系に沿って約 20 m の距離に発達しており、自然の谷地形に繋がっている。もう一つは引湯した入湯施設 (浴槽ほか) の下流側に分布しており (高さ 4 m 程度)、この上を流れる流体 (排水) は上記の谷に合流している。この 2

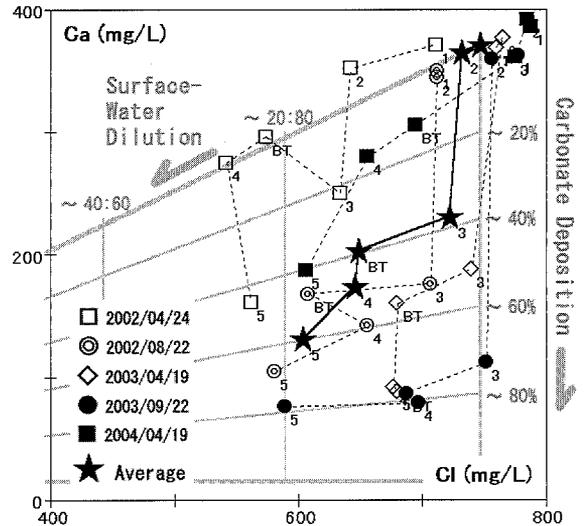


Fig. 2. Diverse temporal changes of the relationships of Ca and Cl concentrations with increasing distance from the discharge well at the Shionoha hot springs (data are after Takashima and Kano (2005, Table 1)). Refer to Fig.1 and the text for the explanation, especially for carbonate deposition and surface-water dilution.

つの沈殿物段差よりも下流では、斜面の傾斜度は小さく、固結度が低い沈殿物が卓越する傾向にある。この 2 つの沈殿物段差は温泉湧出地の近傍に存在しており、その発達には沈殿物の成長速度が速い場合には必然的である。

しかし、高島・狩野 (2005) の Fig. 1C には崖状の記号では示されていないが、温泉湧出地から約 60 ~ 70 m も下流の地点 5.0 にも高さ 2 m 程度の段差 (小滝) が分布しており (Fig. 2E に写真)、沈殿物の固結度が高いと記述されている。したがって、地点 5.0 については、本地域の流動系下流の中では特異な環境にあるものと推測される。

沈殿物段差 (ドームを含む) の生成の場としては、前述した温泉湧出地近傍が最も一般的であるが、それ以外の場合がある。特に、堰が生成して (例えば、初期地形、地滑り、倒木、人工的な構造物などによる) 上流側にプールが発生する場合には、段差が成長する可能性が高い。その理由は、プールによって流体の滞留時間が大きく上昇する結果、プールの水中・水面で生成した生成物から生じる沈殿物の成長速度は、水深に応じて大きく増加するためである。堰の上面部・前面部では流れの擾乱などによって、沈殿物の成長速度は大きい傾向を持つと考えられる。したがって、堰の上部の成長がプール底の成長より速い場合には、より高い堰とより深いプールの組み合わせが次第に上方に成長して行くこととなる。何らかの原因によって堰とプールの成長が停止した後、あるいはプールが埋まった後には、段差の上流に沈殿物テラスが分布することとなる。

上述したように堰・段差の上面部・前面部では、大きな沈殿物成長速度が生じる可能性がある。しかし、注意が必要なのは、この速い成長速度は流動-沈殿系のごく一部に分布することである。高島・狩野 (2005) の地点 5.0 は、上

記の特異的に成長速度が大きい地点に該当していた可能性がある。その場合には、その成長速度は系全体の代表値と見なすことはできず、データの表示・説明には特別の注意が必要である。

4. 縞状組織（日輪？）の生成機構

高島・狩野（2005）は、地点 5.0 において 41 日間の実験で全体の厚さが 19 mm、約 40 組の縞状組織を持つ沈殿物が生成したことを観察し（Fig. 6I）、これを日輪と解釈した。その成因について、高島・狩野（2005、考察 4.）では生物活動が強く示唆されており（これを成因（1）とする）、人工的な影響については可能性に触れているのみである。しかし、この実験については報告が一例に過ぎず、日数-成長層数の関係は偶然であった可能性があり、現状では日輪と結論付けることは危険であろう。また、成因についても様々な可能性が考えられ、今後のより多数の測定点における検討が望まれる。

本説では、上記の縞状組織が生成した原因について定性的に 2 つの可能性を指摘する。その一つは、(2) 上記 2. に述べた流体の流量-流速の変化による流体化学組成と沈殿物成長速度の空間-時間変化に基づく可能性である。しかし、その時間変化の周期・振幅などは現状では不明であるため、ここではその可能性の指摘に留める。

もう一つは、(3) 人工的な影響が非常に大きい可能性である。高島・狩野（2005）に記述されているように上記の浴槽の清掃が毎日夜間に行われていれば、浴槽内で温泉水の長時間滞在によって生成した多量の炭酸塩沈殿物（大部分は流体中で成長した極細粒のものであろうが、浴槽壁などで成長し擦り取られた粗粒のものも含まれよう）が比較的短時間にまとまって排水として放出されて、流路を流下し、その途中で堆積する可能性が高い。上記 1. のマクロな化学収支計算法を用いれば、温泉水の半分が浴用利用されているとして、年間の沈殿物生成量は最大 40 m³ に達する可能性がある。したがって、上記 3. で可能性を述べた地点 5.0 における堰とプールの発達-テラスへの変化についても、その影響を大きく受けているはずである。

高島・狩野（2005）に記述されている縞状組織（日輪？）は、杉の葉状に成長して行くものが卓越する白色層と細粒結晶が集積したものが卓越する灰色層とからなるようである。上記 (3) の仮説に基づけば、前者は自然の自成性のもの、後者は夜間に浴槽から放出され流下した沈殿物が堆積した人工的寄与が大きなものである可能性が指摘される。前者については、高島・狩野（2005）が指摘するように生物活動が何らかの寄与をしており、主に昼間に成長している可能性があるが、現状では詳しい議論は困難である。

ま と め

高島・狩野（2005）による論文「奈良県入之波温泉に発達するトラバーチンの堆積過程」は、日本の比較的大きな温泉水起源の炭酸塩沈殿物の一つについて、新たに地質学、地球化学、鉱物学的な各種手法に基づく総合的調査・研究結果を報告しており、全体としては学術的な価値を十分に含んでい

る。しかし、空間的・時間的に複雑な現象について、十分に記載・分析・考察が行われていない部分が見受けられる。本説では、特に (1) 沈殿物全体のマクロな成長速度の見積り、(2) 非定常的な温泉水の化学組成の変化とその原因、(3) 地点 5.0 の特異性（沈殿物段差の存在）とその原因、(4) 縞状組織（日輪？）の生成機構について議論した。

温泉水・湧水から生成する沈殿物については、時空間 4 次元的に複雑に変化しているため、全体と部分との関係に注意して記載・分析・考察を行う必要がある。沈殿物の全体的な成長速度は、主に温泉水・湧水の湧出量、鉱物の過飽和濃度、鉱物生成の反応速度によって規定される。しかし、部分的な成長速度は、個々の環境によって異なり、温泉湧出地からの距離、流体の流速・滞在時間、流れの擾乱などによって大きく変化する（例えば、茂野、1995; Shigeno, 1998）。したがって、両者の関係を明瞭に理解し、両者を区別した上で総合化した論述が必要である。また、定量的な議論のためには、上記の物理的データの取得・解析が不可欠であり、特に非定常的な環境ではなおさらである。将来的には、炭酸塩沈殿物への坑井掘削や断面作成を通じた観察・測定による、4 次元の時空間的な実態解明が望まれるところである。

お わ り に

ここでは、上述した本説の主要な論点から離れて、より多様な観点からより基礎的な 3 点について参考意見を述べる。

(1) 高島・狩野（2005）は、冒頭「島弧というテクトニックセッティングにある日本列島では、活発な火山活動に伴い温泉が多く存在し、そのため、トラバーチンが良く発達する。」と述べている。しかし、これは客観的に妥当とは言いがたい。

陸域において大規模な炭酸塩沈殿物が生成するためには、その基本条件として大規模な炭酸塩岩類の分布と酸性流体の供給が必要である。日本列島では、現在の活発な火山-マグマ活動によって後者の供給は大きい。地質発達史的な背景によって前者の分布には恵まれていない。すなわち、日本列島の主要部は地質時代を通じて主に付加体添加域にあり、熱帯～亜熱帯域の陸棚成の広域的・大規模な炭酸塩堆積物の分布に乏しい（海洋島起源の礁成炭酸塩岩体の付加を除く）。

世界には陸棚成炭酸塩岩類が広域的に分布する国があり（イタリア、トルコ、中国、アメリカ合衆国など）、第四紀のトラバーチン-トッファが大規模（オーダー的に長さ数 km × 幅数 100 m × 厚さ数 10 m）に発達している火山地域-非火山地域が存在する（例えば、茂野、1995）。これらの地域に比較すれば、日本各地のトラバーチン-トッファは小規模であると言わざるを得ない。しかし、日本列島では多様な地表-地下環境を反映して小規模ながら多様なものが分布しており、特異的な地形、気候、社会などの環境によって侵食、破壊なども速いという特性を持つのではないだろうか？

国土の基盤的な情報としてこれらについての実態の把握・生成機構の理解などを進めることは必要である。また、観光資源としての保存・利用、環境保全・災害防止などの応用的な目的で、個別の地域の研究も重要である。しかし、科学的

な調査・研究においては、客観的な記述が必要であろう。

(2) 陸域で生成する炭酸塩沈殿物の分類は複雑で、現状では体系的な統一化はされていない(例えば, Pentecost, 2005). 高島・狩野(2005, 考察 2. と 4.) は, トラバーチンとトゥファの分類をその生成流体の特性・起源を基準とする方法によっているが, この方法は世界的に必ずしも広く受け入れられている訳ではないことに注意する必要がある。一般的にトラバーチンに温泉水起源のものが多く, トゥファに湧水起源のものが多いことは事実であろうが, 温泉水-鉱泉水-湧水の分類は必ずしも容易ではない(温度・化学組成の基準などは各国で法的・学術的に異なる)という問題もあり, 地域的に歴史的・慣用的に用語が使用されている場合などにはそれを尊重する配慮が必要であろう。

両者の分類は, 従来記載的に用いられてきた沈殿物の性状(主に緻密さ・硬さ)に基づく方法が, 分かり易く有用性が高い。生成流体に関しては温泉水起源炭酸塩沈殿物(沈殿物の性状によってトラバーチン, トゥファなどの使用が可; 湧水起源についても同様), さらに必要があれば土壤 CO₂ 起源-湧水起源炭酸塩沈殿物(同様)などのように記述すれば十分ではないだろうか? また, 沈殿物の生成について生物活動の寄与度の定量的な推定は難しい場合が多いが, 特に必要な場合には生物起源炭酸塩沈殿物(同様)などのように記述すればよいと思われる。

(3) 本説で述べたように, 炭酸塩沈殿物の成長速度は空

間的・時間的に変動が激しい場合がある。したがって, その成長を議論する場合には, 多数の点での継続的な測定が望まれる。同時に, 測定方法にも注意が必要である。高島・狩野(2005)による地点 5.0 での成長速度の測定実験には問題点があり, 改良された実験の実施が望まれる。それは, 測定基準の釘などを流れの中に置くことによって擾乱が発生し, 狭い範囲で特異的に CO₂ の放出, 炭酸塩の生成, 生成物の付着・沈澱などが急激に生じている可能性がある点である。

高島・狩野(2005)の Fig. 6I には, 地点 5.0 において成長が観察された沈殿物の切断面写真が示されているが, 上記の徴候が認められる。また, 残念ながらこの写真では, 41 日間に成長したとされる約 40 組の「日輪?」を明瞭に数えることができない。

謝 辞 本説を取りまとめるに当たり, 産業技術総合研究所地圏資源環境研究部門の佐々木宗建氏に原稿について有益な議論を頂いた。記して感謝します。

文 献

- Pentecost, A., 2005, *Travertine*. Springer, Berlin, 445p.
 茂野 博, 1995, 温泉沈殿物による棚田状テラス生成の機構と数値シミュレーション. 地熱, 32, 317-336.
 Shigeno, H., 1998, Competitive pool growth model and numerical simulation for morphological diversity of hot-spring mineral deposits. *Proc. 9th Internat. Symp. on Water-Rock Interaction*, 913-916.
 高島千鶴・狩野彰宏, 2005, 奈良県入之波温泉に発達するトラバーチンの堆積過程. 地質雑, 111, 751-764.

高島千鶴*・狩野彰宏*：入之波温泉トラバーチンの堆積速度と日輪組織—「奈良県入之波温泉に発達する
トラバーチンの堆積過程」へのコメントに対する回答

Chizuru Takashima* and Akihiro Kano* : Depositional rate and daily lamination of Shionoha hot spring travertine-Reply to
the comments on "Depositional processes of travertine developed at Shionoha hot spring, Nara Prefecture, Japan".

はじめに

高島・狩野 (2005) は、日本でも有数の規模でありながら、これまで科学的研究対象になっていなかった奈良県入之波温泉のトラバーチンについて、地球化学・鉱物学・堆積学的なデータを提示し、いくつかの地点で採集した試料を対象に堆積過程を中心に議論した。これに対し、茂野氏は高島・狩野 (2005) のデータをもとに独自の考察を行い、主にトラバーチンの堆積速度に関するいくつかの問題点を指摘するとともに、日輪 (縞状組織) の生成機構について疑問を提示した。茂野氏が感じた問題点と疑問点の多くは、私たちも共有すると同時に、いくつかは回答可能なものである。茂野氏も指摘するように、トラバーチン研究に対する機運は、多くの地球科学の分野で高まりつつあり、私たちは今回の討論の有用性を強く感じる。

茂野氏の4つの論点、1) 沈殿物全体のマクロな成長速度の見積り、2) 非定常的な温泉水の化学組成の変化とその原因、3) 地点5.0の特異性とその原因、4) 縞状組織の生成機構の主要な部分は、A) 堆積速度の問題と、B) 日輪の生成機構に集約されるだろう。したがって、今回は、これら2点を中心に回答する。なお、日輪の存在と生成機構に関しては、投稿後に行った調査で、より重要な証拠を得て、研究が進行している。私たちは、その調査結果を昨年(2005)の日本地質学会第113年学術大会(京都)で発表し、公表論文を準備中であるが、茂野氏の疑問に対し明確に回答するために、準備中論文のオリジナリティを妨げない程度に新規データを提示する。

堆積速度について

茂野氏も指摘しているように、トラバーチンの堆積作用は時空的に極めて複雑な現象である。その堆積速度を見積もる方法として、湧水点から下流までの水質変化と温泉水の流量による計算(茂野氏の定義による生成速度)、堆積物の成長速度の実測(沈殿速度-以降、茂野氏の定義に従う)が考えられるが、2つの結果が一致することはまれである。くしく

も茂野氏の計算により、生成速度と地点5.0での成長速度が偶然一致したが、地点5.0での比較的大きい流速(正の効果)と比較的低いCa濃度(負の効果)が相殺されたものと考えられる。

2つの速度の不一致の原因は、沈殿速度が局所的な条件に大きく左右されるためである。水の化学成分に差異が無い場合、最も重要なのは流速である。方解石の沈殿はトラバーチン表面で起こる。Dreybrodt and Buhmann (1991) のモデルによると、流速の増加は水の攪拌を誘発し、二酸化炭素の脱ガスと溶存成分の効果的な拡散により沈殿速度を高める。水/堆積物インターフェースにおいて、沈殿を阻害する水素イオンを排除し、逆にカルシウム・炭酸イオンを供給するのである。すなわち、段差上にある地点5.0は温泉水流路上において比較的高い速度でトラバーチンが堆積する場所になる。さらに、浴槽排水の流出点直下(地点BT)では、後述する様に、一日の沈殿速度が、地点5.0の約4倍の、2mm程度に達している。トラバーチンの沈殿速度は局所的に驚くほど大きいのである。

また、不一致の原因として、水から核状物質として沈殿し、浮遊流出する方解石微粒子の存在も無視できない(茂野, 1995)。入之波温泉水の流下水には、多量の懸濁方解石が含まれており、理論的には、

$$[\text{生成量}] = [\text{沈殿量}] + [\text{懸濁方解石粒子量}]$$

という関係になるはずである。私たちは、流速や懸濁物量についてのデータは採集しなかったため、これらの問題について議論することは避けたが、トラバーチン堆積場での現象を理解するためには、今後検討すべき事柄である。

次に、やや重要度は低いが、茂野氏の議論2について回答したい。茂野氏は観測日によって、流出区間でのカルシウム濃度変化パターンが異なり(茂野氏のFig. 1)、非定常的であると指摘した。この非定常性は「方解石沈殿はトラバーチン表面で起こる」という原則で部分的に説明される。水/堆積物インターフェースでの方解石沈殿速度が一定であると仮定すると、温泉流下水のカルシウム濃度減少幅は、水の流下に要する時間が長く、水深が浅い(水の層が薄い)ほど大きくなる。入之波温泉では、活発なトラバーチンの沈殿により、水の流下経路が頻繁に変化する。その変化はトラバーチンドーム上で特に大きく、水がドーム上を広く薄く流れる時もあるれば、狭く厚く流れる時もある。おそらく、こうしたトラバ

2006年6月16日受付。受理。

* 広島大学大学院理学研究科地球惑星システム学専攻
Department of Earth and Planetary Systems Science, Graduate School of
Science, Hiroshima University, Higashi-Hiroshima 739-8526, Japan
Corresponding author: C.Takashima, tksmcd@hiroshima-u.ac.jp

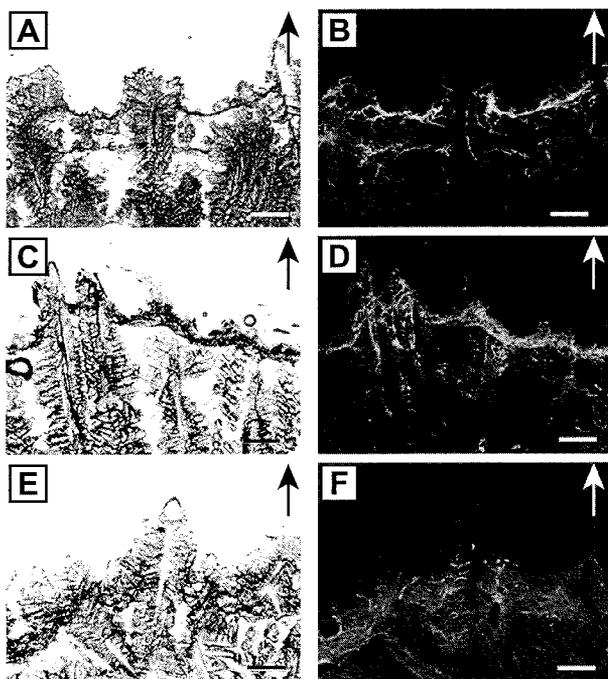


Fig. 1. Thin sections of daily laminated travertine surfaces collected at point 3.5 in Yamabato-yu, Nara Prefecture, Japan. A) The specimen at 10:30 on March 14, 2005. B) Fluorescence image of Fig. 1A. C) The specimen collected at 19:30 on March 14, 2005. D) Fluorescence image of Fig. 1C. E) The specimen collected at 4:30 on March 15, 2005. F) Fluorescence image of Fig. 1E. All scale bars are 250 μ m long. Fluorescence from photosynthetic pigment appears lighter-color images.

一チンドーム上での流路の変化がカルシウム濃度の非定常性につながったのだろう。茂野氏の Fig. 1 に示される様に、非定常性はトラバーチンドームの地点 3.0 で最大になっており、この地点で最も Ca 濃度の高い 2004 年 4 月 19 日には狭く厚く、逆に濃度の低い 2003 年 9 月 22 日には広く薄く流下していたのだろう。なお、茂野氏が非定常性の原因として指摘した、温泉水湧出量の変化も可能性として挙げられる。入之波温泉では、坑井孔内でも方解石の沈澱が起っており、孔径の減少により、次第に湧出量が減少するらしい。そのため、定期的に坑井から沈澱物を取り除き、豊富な湧出量を確保しているという。湧出量が増加すれば、単位水量あたりの方解石生成量が減少するので、流出区間でのカルシウム濃度変化は 2004 年 4 月 19 日の様なパターンを描くと予想される。

日輪（縞状組織）の生成過程

地点 5.0 および 3.5 で堆積したトラバーチンの内部には、数 100 μ m ~ 1 mm オーダーの縞状組織が認められる。縞状組織は、細粒方解石主体の暗灰色層と、杉の葉状構造を作る菱形の方解石結晶からなる白色層で構成される。高島・狩野 (2005) は、これが人為的影響を受けずに発達した日輪であると結論付けるために、1) 地点 5.0 で、41 日間に堆積した

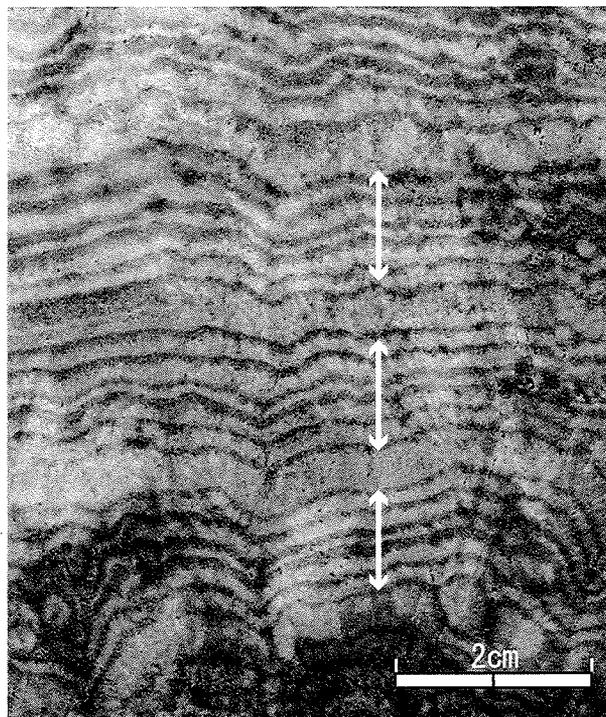


Fig. 2. Travertine deposited at just below the drainage from the public bath, point BT in Takashima and Kano (2005). The scale bar is 2 cm long. It represents sets of 6 darker-colored bands (arrows), which were formed in influence from cleaning. The intervals between the sets correspond to regular holiday of Yamabato-yu (Wednesday).

トラバーチン内部に約 40 本の縞が発達すること、2) 地点 3.5 の堆積物内部にも、地点 5.0 と同様の縞状組織が発達すること、3) 地点 3.5 の水・堆積物には、人為的影響が無いこと、を証拠として挙げた。しかし、その生成過程については微生物の影響を暗示したものの、明確な結論は下さなかった。それは、証拠が不足していたからである。そこで、日輪の生成過程について検討するため、高島・狩野 (2005) の投稿後の 2005 年 3 月に、人為的影響が無い地点 3.5 で 30 時間連続観測を行った。その結果、私たちは以下に示す証拠により、日輪が光量の変化に対応した微生物活動の日変化により生じると結論付けるに至った。

地点 3.5 での堆積物最表面の組織は、時間を追って明確に変化している (Fig. 1)。細粒方解石主体の暗灰色層が表面に発達していたのは、日没後 (19:30) に採集した試料 (Fig. 1C) のみであり、その他の時間帯に採集した堆積物試料 (Figs. 1A; 10:30, 1E; 4:30) の最表面には、菱形の方解石結晶 (白色層) が認められた。これは、暗灰色層が日没後の限られた時間で形成されたことを意味する。さらに、これらの薄片の蛍光顕微鏡画像 (Figs. 1B, 1D, 1F) では、暗灰色層中に、赤い自家蛍光体を示す (Fig. 1 では、白く見えている部分) フィラメント状シアノバクテリアが確認された。

すなわち、暗灰色層の形成には、シアノバクテリアが重要な役割を果たしていると言える。シアノバクテリアは光合成細菌であるが、直射日光を嫌い暗所に留まる性質を持つ (藤

岡・大城, 1989). 日中, 杉の葉状方解石結晶間のスペースに留まっていたシアノバクテリアは, 日没後に, トラバーチン表面に成長してくる. 光が無くても細胞外生成物である EPS (extracellular polymeric substance) は生成され, トラバーチン表面にバイオフィルムを形成する. そうすると, 表面は粘着質になり, 上流から運搬された細粒方解石懸濁物をトラップすることになる. こうして発達したのが暗灰色層である. バイオフィルム表面は, 夜半には懸濁物で覆われ, そこから再び方解石沈殿が開始し, 白色層の発達が始まる. 詳しくは解説しないが, 1) 暗灰色層には湧水付近で多く沈殿する Fe と Si が多く含まれること, 2) 地点 3.5 での水中の懸濁物量が日没後に最小量を記録したことも, 暗灰色層がトラップされた懸濁物であることを支持する. また, 水の化学成分 (Ca 濃度や方解石過飽和度) の昼夜における差は小さく, その日変化が日輪形成に関与したとは考えにくい. 以上をまとめると, 日輪の形成は, 化学的過程ではなく, 光量の日変化に応じた微生物学的過程により自然に起こったと結論付けられる.

ただし, 局所的には人為的プロセスにより日輪が発達する. Fig. 2 に示す試料は浴槽排水口の直下 (高島・狩野, 2005 の地点 BT) から採集したもので, ほぼ等間隔で発達する明瞭な褐色のバンドを示す. さらに, やや間隔が広い部分を隔てて, バンドは 6 本毎のセットになっている. 高島・狩野 (2005) でも述べたが, 入之波温泉では, 営業日の終わりに浴槽を清掃し, その際に多量の懸濁物が流出する. 褐色のバンドはその時にトラバーチン表面に沈着したものである可能性が高く, 人為的な日輪組織である. なお, 入之波温泉は毎週水曜日に休業し清掃を行わない. したがって, 6 本のバンドのセットは木曜日から次週火曜日の清掃時に沈殿したものであると考えて良いだろう. 人為的影響は浴槽排水口付近でのみ顕著である. 高島・狩野 (2005) が記載の対象とした地点 3.5 と地点 5.0 のトラバーチンには, このような 6 本セットのパターンは認められない (高島・狩野, 2005 の Figs. 6C, 6F). したがって, これらの縞状組織の発達には, 清掃という人為的影響が関与していないと考えてよい.

定義の問題

その他, 茂野氏には多くの有用なコメントをいただいたが, 中でも重要と思われる「言葉の定義の問題」について, 私たちなりの考えを回答させていただきたい.

茂野氏の指摘通り, 陸域炭酸塩沈殿物の分類には混乱が残されている. かつては, 温泉・冷泉の区別なく, 泉源水から沈殿した炭酸塩堆積物に対して, ドイツ学派はトゥファを, イタリア・アメリカ学派はトラバーチンを用いる傾向があった. しかし, 私たちは Ford and Pedley (1996) の定義に従い, 温泉水からの沈殿物をトラバーチン, 石灰岩層中の地下水系から湧出する天水起源の水から沈殿したものをトゥファと呼ぶことにしている. この定義は広く受け入れられつつあり, 少なくとも, 温泉沈殿物をトゥファと呼ぶ研究者はいなくなった.

泉源水からの炭酸塩沈殿物を天水成と温泉水成に分けるこ

とは意味がある. 前者の泉水は土壌起源の二酸化炭素を含んだ雨水であるため, 水量や溶存炭酸の量は降水量や土壌層中の有機物の分解量に関係する. そこで, トゥファの組織的・組成的特徴は気候条件に強く影響される (末岡ほか, 2002; Kano et al., 2003). 一方, 後者の場合, 水の化学的特性は地表気候の季節変化に影響されないため, トラバーチンの中には気候変化が記録されにくい. また, 両者の化学組成も著しく異なる. Pentecost (1995) のまとめによると, トゥファを堆積させる天水起源の水の総溶存無機炭素 (TDIC) は 1~7 mM (約 60~430 ppm) 程度である. 一方, トラバーチンを沈殿する温泉水の場合, TDIC は概して天水成泉水よりもはるかに大きく, 15~60 mM (約 900~3700 ppm) に達する. さらに, これを反映し, 両者は堆積速度の点でも大きく異なる. 堆積速度は, トゥファでは 1 cm/年を越えることはまれであるのに対し, トラバーチンでは高島・狩野 (2005) で示したように 10 cm/年をはるかに越えることがある.

茂野氏が提案するような, 沈殿物の性状 (緻密さ・硬さ) で炭酸塩沈殿物を定義する事には科学的な意味で抵抗を感じる. 具体的なデータを提示出来ないのが残念だが, 堆積物の硬さは流速に応じて局所的に変化する. 同じトラバーチンの堆積場でも, 10 cm ほど離れると硬さが大きく違う場合があり, それを根拠に別の名前を使用するのは, 記載を煩雑にする原因になるだろう.

おわりに

高島・狩野 (2005) では, 多くの地球化学・鉱物学・堆積学的なデータを提示したにもかかわらず, 議論を堆積過程など特に重要な問題に限定し, 必要最小限にとどめた. それは, 「地質学雑誌」のページ数制限を考慮したことに加え, 議論に必要なデータが完備されていなかったためである. 今回, 茂野氏から討論の申し出があり, 論文に欠けていた議論を補充するとともに, 日輪の生成機構に関する説明を補強することができた. また, トラバーチンの堆積速度について私たちの考えを整理する契機にもなった. 討論の機会を与えていただいた茂野氏と編集幹事の方には感謝したい.

茂野 (1995) が述べているように, 国内外には様々な特徴をもつトラバーチン堆積物が発達している. 今回の議論の対象になった日輪組織のように, トラバーチンに認められる堆積組織の生成過程には, まだまだ多くの謎が残されていると言える. 今後は, 従来の研究例をレビューするとともに, 独自のケーススタディを重ねて, トラバーチン堆積組織についての理解を深めていきたい. また, より総合的な視野で, トラバーチン堆積機構の一般性と局所性について研究を進めていきたい.

謝 辞

山鳩湯の皆様には調査を快諾していただくとともに, 様々な便宜を計っていただいた. 広島大学の川合達也氏・堀 真子氏, ゲッチンゲン大学の白石史人氏には, 日輪トラバーチンの連続観測に協力していただいた. 以上の方々に深く感謝

します。

後 記

被討論論文 (高島・狩野, 2005, 地質学雑誌, 111 巻 12 号, 751-764 頁) には以下の誤りがあったので, この機会にお詫びとともに訂正させていただきます。

- 752 頁 左段: (誤) $N34^{\circ} 25.3'$, $E135^{\circ} 56.2'$ → (正) $N34^{\circ} 15'43''$, $E136^{\circ} 02'25''$
- 759 頁 Fig. 6H のキャプション: (誤) Tree-tree structure → (正) Cedar-tree structure
- 763 頁 文献: (誤) Matsuoka, J., Kano, A., Oba, T., Watanabe, T., Sakai, S. and Seno, K., 2001, Seasonal variation of stable isotopic compositions recorded in a laminated tufa, SW-Japan. *Earth Planet. Sci. Lett.*, **191**, 31-44. → (正) Matsuoka, J., Kano, A., Oba, T., Watanabe, T., Sakai, S. and Seno, K., 2001, Seasonal variation of stable isotopic

compositions recorded in a laminated tufa, SW-Japan. *Earth Planet. Sci. Lett.*, **192**, 31-44.

文 献

- Dreybrodt, W. and Buhmann, D., 1991, A mass transfer model for dissolution and precipitation of calcite from solutions in turbulent motion. *Chem. Geol.*, **90**, 107-122.
- Ford, T.D. and Pedley, H.M., 1996, A review of tufa and travertine deposits of the world. *Earth-Sci. Rev.*, **41**, 117-175.
- 藤田善彦・大城 香, 1989, ラン藻という生き物. 東京大学出版会, 134p.
- Kano, A., Matsuoka, J., Kojo, T. and Fujii, H., 2003, Origin of annual laminations in tufa deposits, southwest Japan. *Palaeogeogra., Palaeoclimatol., Palaeoecol.*, **191**, 243-262.
- Pentecost, A., 1995, The Quaternary travertine deposits of Europe and Asia Minor. *Quatern. Sci. Rev.*, **14**, 1005-1028.
- 茂野 博, 1995, 温泉沈殿物による棚田状テラス生成の機構と数値シミュレーション. *地熱*, **32**, 317-336.
- 末岡正嗣・狩野彰宏・古城智子・松岡 淳・井原拓二, 2002, 徳之島西部に発達するトゥファの特徴. *地質雑*, **108**, 153-163.
- 高島千鶴・狩野彰宏, 2005, 奈良県入之波温泉に発達するトラバーチンの堆積過程. *地質雑*, **111**, 751-764.