

厚木市棚沢の砂防ダムに生息する 鉄細菌の形成するバイオマットの観察

島田 武典・本田 数博

Takenori Shimada and Kazuhiro Honda:
Observation of Biomat Formed by the Iron Bacteria (*Leptothrix ochracea*)
Inhabiting at Debris Dam in Tanasawa, Atsugi, Kanagawa, Japan

はじめに

鉄成分に富む水環境には、一般に鉄細菌と呼ばれるバクテリアの仲間が生息しておりバイオマット（微生物被膜）が形成される（佐藤・田崎, 2004）。水底が赤褐色に着色しているのを目にすることがあるが、この多くは鉄細菌により生成されるバイオマットであることが報告されている（高橋ほか, 2007）。

鉄細菌は鉄やマンガンなどの無機物のイオンを基質として、これを酸化し、酸化物を生成することでエネルギーを得て生活している独立栄養生物である、この生理的特徴により集められたグループであるため、分類学的にかなり異なった種が含まれている（小島, 1995）。

著者らは厚木市棚沢の砂防ダム壁面に茶系黄色の鉄細菌によると推測されるバイオマットの観察を行い、バイオマットの形成について検討したので報告する。

砂防ダムの位置と周囲の様子

調査した砂防ダムの周辺を図 1 に示す。砂防ダムは厚木市の棚沢にある神奈川工科大学棚沢運動場付近に位置する。

砂防ダムは中津層の上に存在している。中津層は凝灰質細砂岩や凝灰質の泥岩から構成されており円磨度の高い円礫や軽石を含んでいる（長谷川, 1979）。

調査は 2008 年 8 月上旬に実施した。調査地への水の流入はい沢周辺を水源とした小川から供給されている。

調査を行った砂防ダムの様子を図 2 に示す。砂防ダムの正確な設置年度は確認できていない。水抜き穴が 10 箇所あり、そのうち 5 箇所の穴から茶系黄色の帯が形成していた。

水抜き穴からダム下までの壁面に、長さ 1.3m、幅 8cm、厚さ 1cm の茶系黄色物質があり、帯状のバイオマットが形成されていた。今回の採集場所は、砂防ダムの水抜き穴の内部であり、採集場所の様子を図 3 に示す。

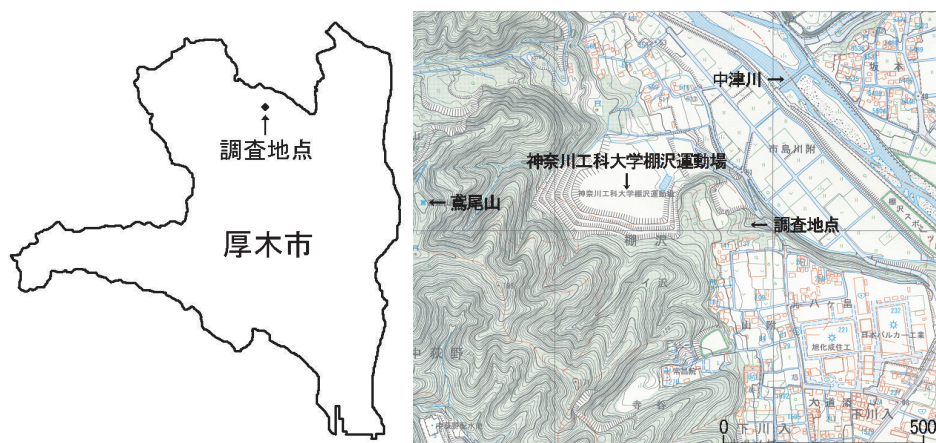


図 1. 調査地点の位置図および砂防ダム周辺の地図（国土地理院発行 1/10,000 地形図を使用）。スケールの単位は m.



図 2. 砂防ダムの様子 (2008 年 10 月 23 日撮影)。



図 3. 黄色物質の採集地点の様子 (2008 年 10 月 23 日撮影)。

バイオマットの採取、分離方法

バイオマットは、砂防ダム壁面からシャベルにより採集を行った。試料は水中で攪拌すると簡単に分散し、静置すると沈降した。充分攪拌した後に 100mL ビーカーに移し、静置した。そして、ピペットで上層の茶系黄色物質を取り出して測定に用いた。

観察方法

調査期間は 2008 年 8 月中旬から 9 月初旬である。周囲の環境を調べるため水の pH 値、水温を調べた。さらに、原子吸光測定より水中の鉄濃度を同定した。

分離した黄色物質は光学顕微鏡、走査型電子顕微鏡 (SEM) による観察およびエネルギー分散型 X 線分光 (EDX) 計測から鉄バクテリアの存在、生成する鞘およびバイオマットを構成する元素について検討した。また、鉄

バクテリアの生成する鞘を構成する鉄酸化物および周辺の土の X 線回折パターンの測定から結晶性の比較を行った。

水の pH 測定は神奈川工科大学工学部応用化学科本田研究室所有のガラス電極式水素イオン濃度計 (HM-7E, 東亜電波工業 (株)) を用いた。

水中の鉄の濃度は神奈川工科大学環境技術開発センター所有の原子吸光光度 (AA-6800F, 島津製作所 (株)) を用いて同定した。

光学顕微鏡観察では、ピペットで吸引した試料をシャーレに 1 滴落とし、カバーガラスを載せた。神奈川工科大学応用化学科所有の光学顕微鏡 (VH-7000, KEYENCE (株)) を用いて、175 倍の画像を 150 万画素数の CCD カメラで記録した。

次に水底の土および茶黄色物質の結晶性について神奈川工科大学総合実験研究センター所有の X 線回折装置 (RAD-IIVC, (株) リガク) を用いて検討した。試料はそれぞれ室温において乾燥させ、粉末処理を行った。

茶黄色物質をピペットでシャーレ上に 1 滴落とし、乾燥後に金蒸着し、神奈川工科大学総合実験研究センター所有の SEM (SUPER SCAN SSX550, 島津製作所 (株)) 観察を行った。

SEM に付属する EDX (SUPER SCAN SSX550, 島津製作所 (株)) による、茶系黄色物質表面の元素分析を行った。

結 果

水の pH 値および水温は測定期間において平均 6.7 および 20℃であった。また、鉄の濃度は 75ppb 程度であった。

図 4 は茶系黄色物質の 175 倍の光学顕微鏡の観察画像である。円で囲った中に細長い透明な紐状物体の存在が確認できる。紐状構造は幅 2 μm × 長さ 520 μm である。

図 5 は X 線回折パターンである。図 5 (A) は水底の土、図 5 (B) は茶系黄色物質のパターンである。水底の土には回折ピークを検出できるのに対して茶系黄色物質のそれは確認できなかった。このことから水底の土は結晶性を有し茶系黄色のそれは結晶性を有しない、すなわち周



図 4. 黄色物質の 175 倍光学顕微鏡画像。

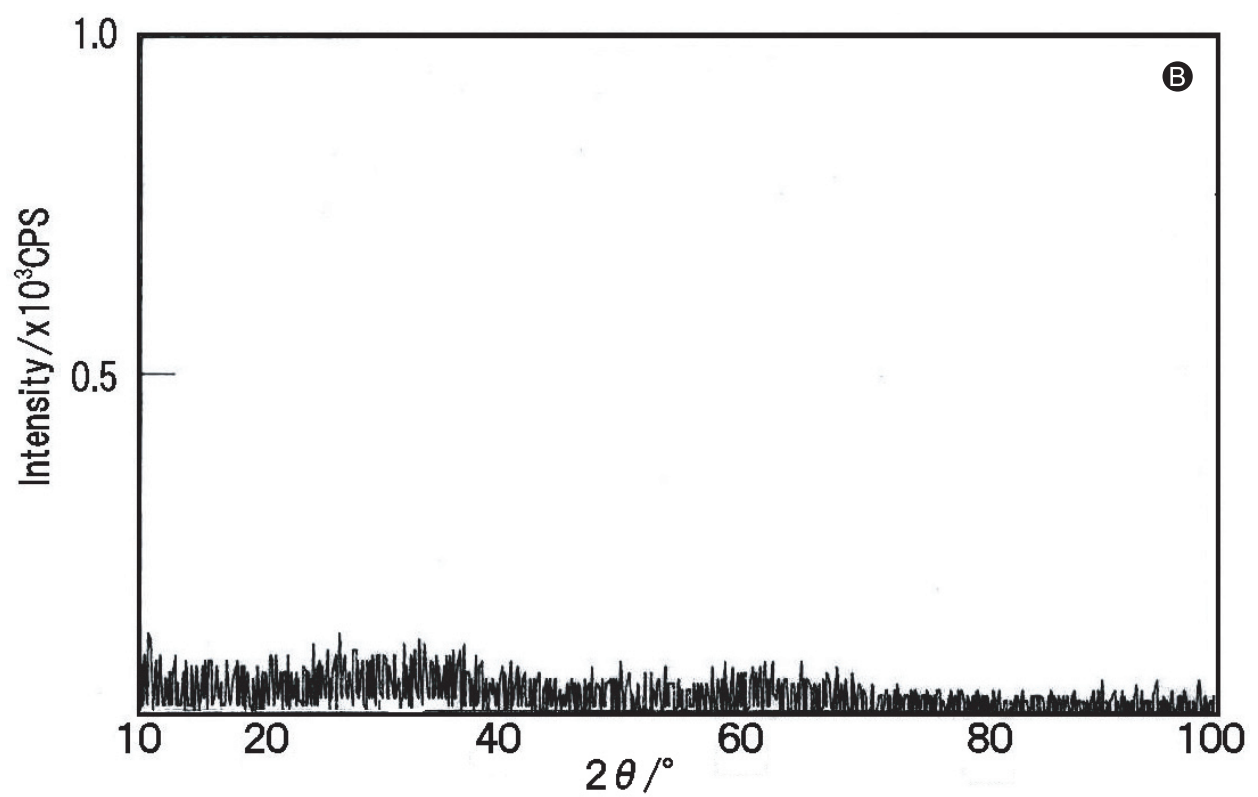
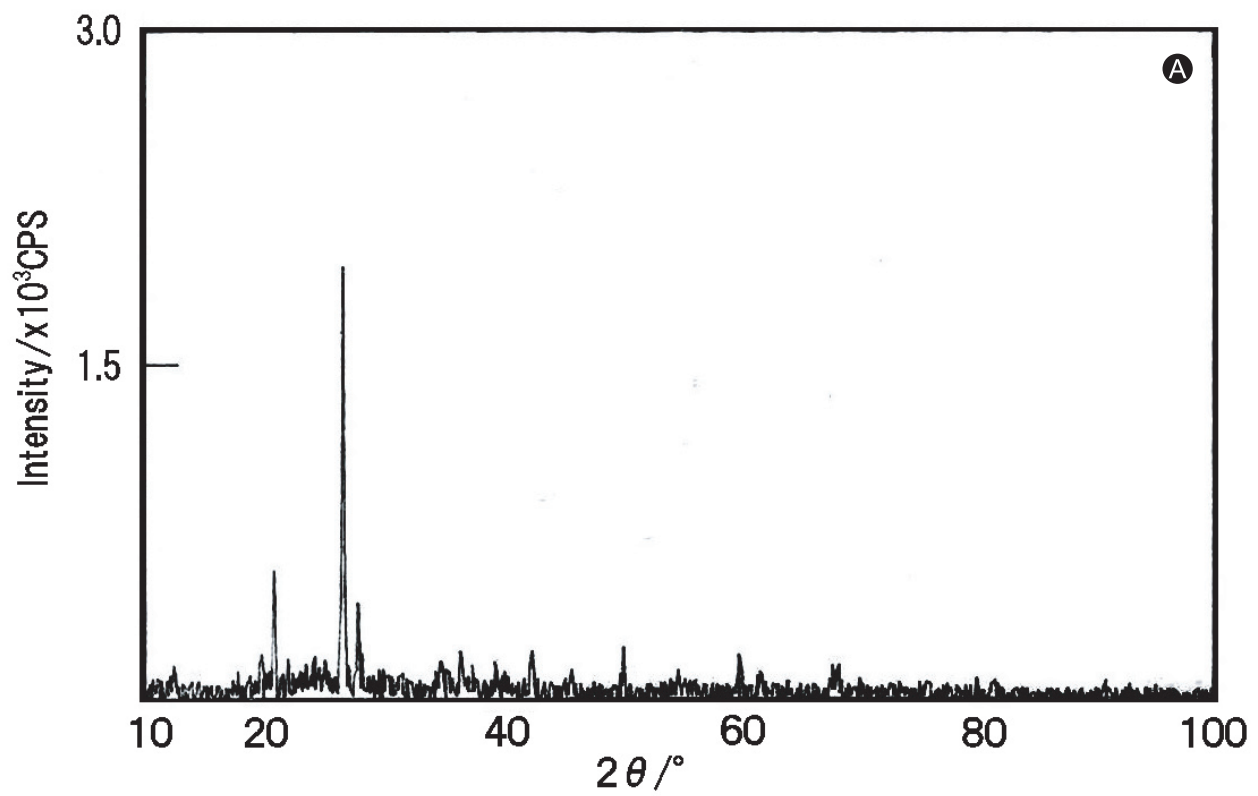


図 5. X 線回折分析の結果. A：土の分析結果；B：黄色物質の分析結果.

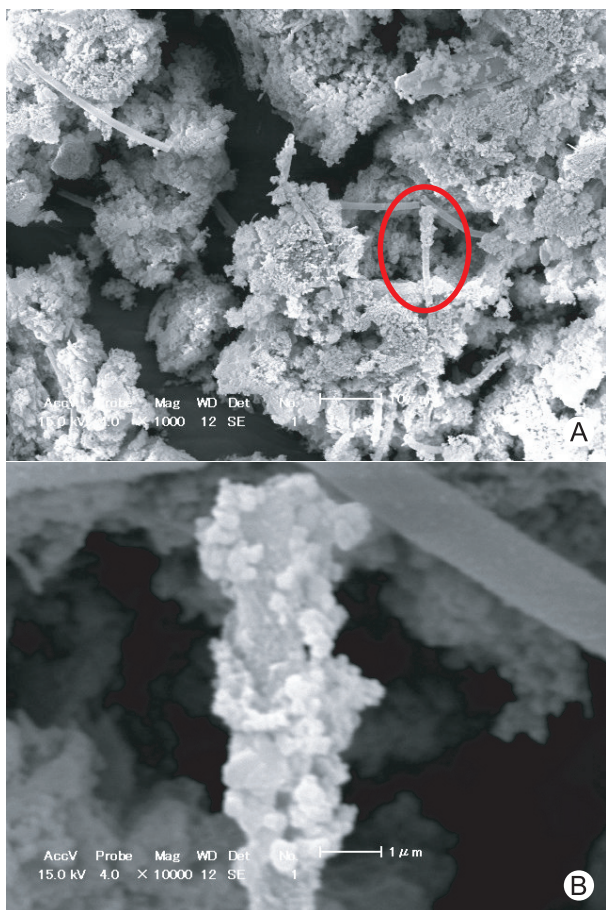


図 6. 走査型電子顕微鏡画像。A：黄色物の 1,000 倍画像；
B：黄色物の 10,000 倍画像。

圃の土壌成分と茶系黄色物質とは異なることを確認した。

図 6 は茶系黄色物質の SEM 画像であり、図 6 (A) は 1,000 倍、図 6 (B) は 10,000 倍での撮影である。(A) から鞘状物質の周辺には多くの凝集微粒子が存在していることを確認できる。また、(B) は (A) 中の円で囲った部分を拡大した画像を示している。鞘状物質表面には数百 nm 程度の粒子が付着していることも併せて確認した。

茶系黄色物質の EDX 面分析の結果を図 7 に示す。(A) に示す鞘状の SEM 画像と対応する酸素元素 (B) および鉄元素 (C) の空間分布は良い一致を示した。なお、各元素は色が明るい部分ほど多く分布していることを示している。EDX 元素分析より鞘表面は鉄酸化物により形成されていると考えられる。

さらに鞘状物質およびその周辺に分布している凝集微粒子集合体の元素分析を低倍率条件での EDX 面分析の結果を図 8 に示す。(A) は SEM 画像、(B) はそれに対応する鉄元素の空間分布をしめしている。鉄元素は鞘状物質およびその周辺のすべてにおいて検出された。また、土壌中に多く含まれるアルミニウム、ケイ素、カルシウムなどの元素成分は鉄のそれよりかなりすくないことを併せて確認できることから鞘周辺の鉄元素は鉄バクテリア起源である事が強く示唆された。

考 察

上記の結果を元に同定を試みた。小島 (1995) によると鉄細菌の形状は 4 種類に分類される。一つ目は

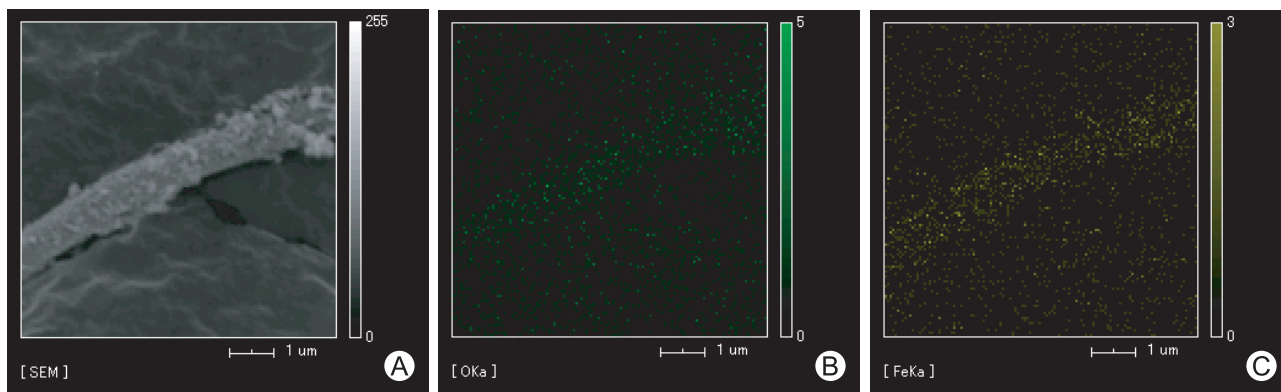


図 7. エネルギー分散型 X 線分析装置による鞘状物質の酸素および鉄元素の空間分布。
A：10,000 倍 SEM 画像；
B：酸素の空間分布；C：鉄の空間分布。

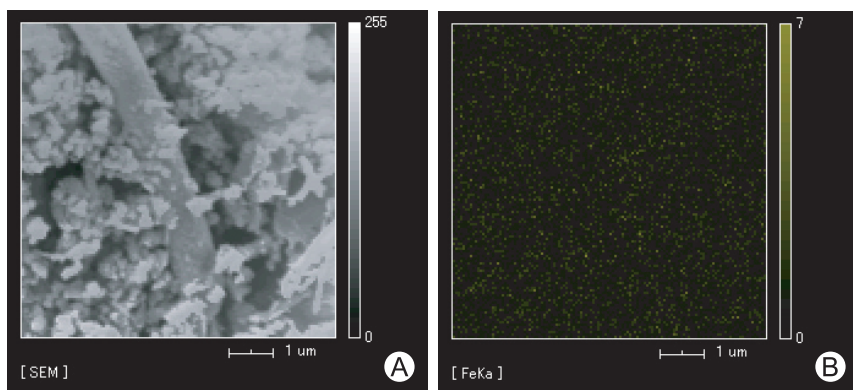


図 8. エネルギー分散型 X 線分析装置による鞘状物体と周囲の物質の鉄元素の空間分布。A：10,000 倍 SEM 画像；B：鉄の空間分布。

Gallionella 属に代表されるリボンをねじったような形状で棒状を作らないもの、二つ目は棒状または短い棒状の細胞が縦に並んで糸状を示し、糸状体が枝分かれしている *Sphaerotilus* 属など、三つ目は糸状体が枝分かれしない *Leptothrix* 属などがある。さらに四つ目は球形・楕円形または短棒状の細胞が不規則に集まり糸状にならない *Sideromonas* 属である。

鞘状物質は鉄細菌が排出する鉄酸化物を自身の外側に鞘状に形成する。今回の試料では、棒状または短棒状の細胞が縦に並んで糸状を示しているが鞘状物質の枝分かれ構造は確認できないことから三つ目のグループに属し、さらに観察された鞘のサイズは基部でも先端でも均等であることから、糸状体の先端が太くなる *Crenothrix* 属ではなく糸状体の太さが均等である *Leptothrix* 属であると考えられる（小島，1995）。*Leptothrix* 属は地下水や伏流水に多く存在し、1 個の細胞は幅 $1\ \mu\text{m}$ 、長さ $2\sim 4\ \mu\text{m}$ の円筒形でありこの細胞が長管状の鞘中に縦一列に並ぶ。鞘の大きさは幅 $2\ \mu\text{m}\times$ 長さ $200\ \mu\text{m}$ であり、鞘に沈着した鉄酸化物は茶系黄色を示す（上野，1995）。

前述の観察結果と照合して、砂防ダムにおけるバイオマット中に存在する茶系黄色物質の鞘上構造物質は *Leptothrix* 属の鉄細菌により生成したと結論した。

X 線回折よりバイオマットは周囲の土と結晶性がまったく異なることから、鞘状物質周辺の微粒子凝集体は継続的に鉄細菌が世代交代を繰り返す過程において生成した鉄酸化物の風化による析出物であると推定できる。調査地点は水量、鉄濃度、気温など鉄細菌にとって好ましい環境であると考えられる。今後、定期的に観察をおこないバイオマットの成長過程を検討したい。

引用文献

- 長谷川元一，1979. 厚木の地形地質，40pp. 厚木市教育研究所，厚木．
- 小島貞男，1995. 第 1 章 環境微生物 1.1 細菌・菌類．小島貞男・須藤隆一・千原光雄編，環境微生物図鑑，pp.1-10. 講談社，東京．
- 佐藤一博・田崎和江，2004. 中性 pH に生息する *Leptothrix ochracea* の鉄凝集作用．環境技術，33(6): 467.
- 高橋直人・瀬川宏美・田崎和江，2007. 地すべりボーリング孔におけるバイオマットの形成．日本地下水学会誌，49(2): 117.
- 上野英世，1995. *Leptothrix ochracea*. 小島貞男・須藤隆一・千原光雄編，環境微生物図鑑，pp.82-83. 講談社，東京．

島田武典・本田数博：神奈川工科大学工学部応用化学科