



統合国際深海掘削計画 (IODP)
— 2003 年から 10 年の成果 —

IODP Exp. 336

大西洋中央海嶺西翼部 North Pond における地殻内微生物圏の探索

平山 仙子
中村 謙太郎

**IODP Exp. 336 : Exploration of microbial
biosphere in the oceanic crust at North Pond,
western flank of the Mid-Atlantic Ridge**

Hisako Hirayama • Kentaro Nakamura

ひらやま ひさこ : 海洋研究開発機構
なかむら けんたろう : 東京大学大学院工学系研究科

北大西洋中央海嶺翼部 North Pond サイトにおいて、海洋地殻内部に地殻内微生物圏が存在するのかを検証するため、基盤岩を最大 262 m 掘削し、コアを回収するとともに、掘削孔に長期観測・実験のための CORK を設置した。今後数年をかけて実験と検証が行われ、地殻内微生物圏の姿が明らかになってくると期待される。

1. はじめに

中央海嶺翼部の若い海洋地殻は、その上部約 500 m の空隙率が高いことが知られており、低温で酸化的な海水が浸透して帯水層が形成されていると考えられている (Fisher, 2005)。主に玄武岩から成る海洋地殻は、有機物には乏しいものの二価鉄や硫黄などの無機還元物質に富んでおり、そこに酸化的な帯水層が存在するならば、そこは酸化還元反応のエネルギーを利用した独立栄養化学合成微生物を中心とする微生物の住処となり得る (Bach & Edwards, 2003)。このような海底下の海洋地殻内環境は、全球規模で存在する“ありふれた環境”であることから、ひとたびそこが未知の地殻内微生物圏であることが証明されれば、地球の生物圏の範囲は大幅に拡大することになる。IODP Exp. 336 は、そのような“海洋地殻内微生物圏”の存在の有無を明らかにするために、北大西洋中央海嶺翼部の North Pond サイトにおいて計画・実施された (図 1)。

2. North Pond サイト

北大西洋中央海嶺の西翼部に位置する North Pond (22°45'N, 46°05'W, 水深約 4410-4490 m) は、約 8 km×15 km の窪地状の地形を呈する (図 2)。この窪地は若い (~ 8 Ma) 海洋地殻の上に形成され、厚さ最大約 300 m の堆積物に覆われている。またその周囲は、比高が最大 2 km に及ぶ基盤岩の高まりに囲まれている。North Pond では、これまでに多くの地質学的、地球物理学的、および水文学的調査が行われてきた。最初に海底掘削が行われたのは 1975-1976 年の DSDP Leg 45 である。この航海において掘削された Hole 395A では、

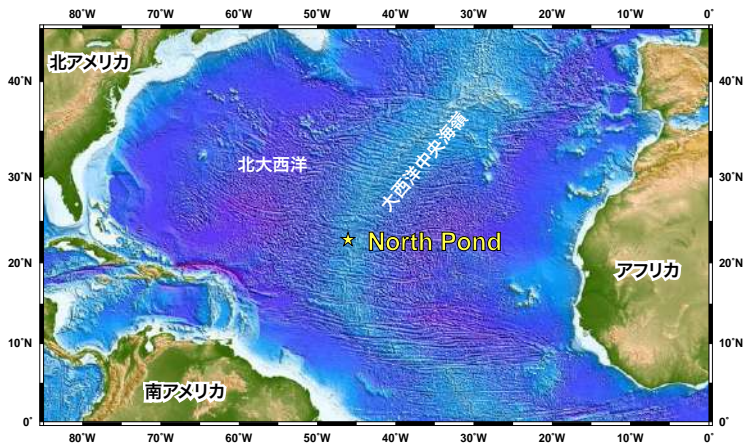


図1 北大西洋中央海嶺翼部に位置するNorth Pond.

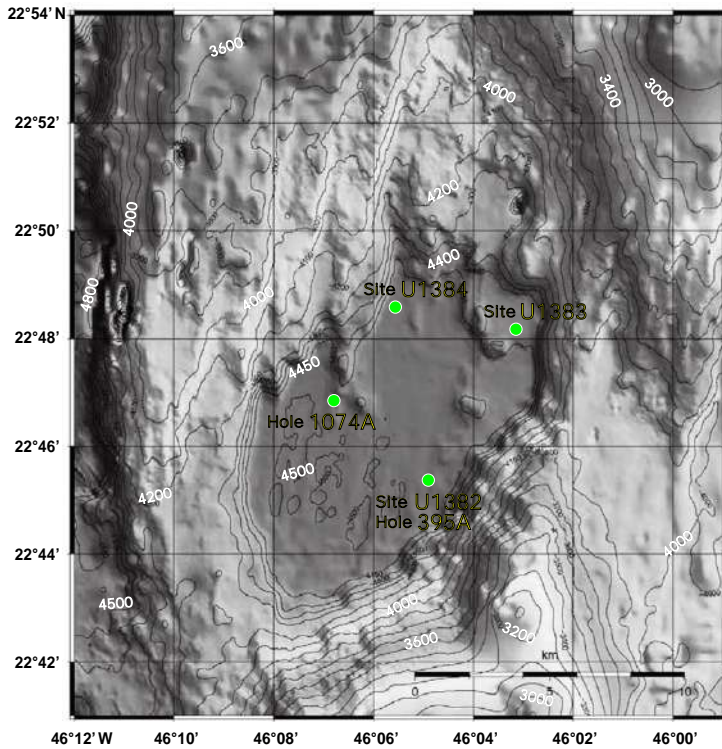


図2 North Pondの海底地形図と掘削サイト。(Edwards, Bach, *et al.*, 2012 を一部改変. 海底地形データは, Villinger and Cruise Participants (2010) より引用).

玄武岩層を 576 m (海底下 664 m) にわたって掘り抜いており、これによって海洋地殻の上部が主として空隙率の高い枕状溶岩からなることや、はんれい岩やかんらん岩の礫を含む堆積岩層を挟んでいることなどが明らかにされた (Melson, Rabinowitz, *et al.*, 1979)。その後も、DSDP Leg 78B

(1981 年)、ODP Leg 109(1986 年)、ODP Leg 174B (1997 年)と調査が重ねられ、Hole 395A の孔内検層や、孔内流体の調査が行われた (Hyndman, Salisbury, *et al.*, 1984 ; Detrick, Honnorez, Bryan, Juteau, *et al.*, 1988 ; Becker, Malone, *et al.*, 1998 ; Gable *et al.*, 1992)。さらに、ODP Leg 174B では Hole 395A

に長期孔内観測装置 CORK (circulation obviation retrofit kit) が設置されている (Davis *et al.*, 1992). これらの調査から, North Pond の地殻上部 300 m の層は空隙率が高く, ここを周囲の露頭から海底下へとしみ込んだ海水が南東から北西へ向けて水平方向に流れていることが示唆されている (Hickman *et al.*, 1984 ; Langseth *et al.*, 1984).

3. 本航海の概要

本航海では, 岩石・堆積物コアの採取と CORK の設置という 2 つ目的が設定されていた. 前者は, North Pond において新たに 2 サイトの基盤岩掘削を行い, 岩石コアを回収し, コア内部の微生物の有無, 多様性や活性, エネルギー源, 地殻の変質への微生物の関与等を調べるというものである. しかし, 熱水活動域の活発な微生物活動などは異なり, North Pond のような低温の地殻上部における微生物活動は静かでゆっくり進行すると予想され, コアの解析だけでは“生きた微生物圏”の存在を証明できない可能性があることも認識されていた. そのため, 本航海では, CORK の設置により掘削後長期にわたり掘削孔内の観測・実験を行うことも重要な目的の 1 つとされた (実際には, 掘削孔への CORK の設置が最優先であり, コア回収はあくまで余った時間で行うつもりであると, あらかじめ乗船研究者に伝えられていた). 共同首席研究者である University of Southern California の Katrina Edwards 教授と University of Bremen の Wolfgang Bach 教授を中心とする欧米の研究チームは, 本航海で CORK を設置することを前提に, 本航海の 5 ヶ月後に North Pond を ROV で再訪することを既に決めていた. さらに, 彼らは当然その後も数年にわたり継続調査を実施し, 時間をかけて地殻内微生物圏の存在を証明するための計画も立てていた. それ故に, 掘削船でしかできない CORK の設置を本航海中に何としても成功させなければならなかったのである. 彼らが準備していた CORK は, 地殻内微生物研究のために様々な工夫と配慮がなされており, 各種センサーに加え, 孔内流体を数年にわたって経時的に

採水する採水器や, 長期微生物現場培養装置などが搭載された多機能なものであった (Wheat, *et al.*, 2011). さらに, 長期間の孔内実験を行う上では, 掘削による環境攪乱が微生物生態系に与える影響を極力少なくしなければならない. 特に, 海洋地殻内微生物圏において想定される優占種の 1 つは鉄酸化菌である (Bach and Edwards, 2003) ため, 従来の鋼製のケーシングや CORK を使用すると, 海底下へ人為的に大量の鉄分を供給することになってしまい, もともとの微生物生態系が大きく変化してしまう恐れがあった. そこで本航海では, ガラス繊維強化プラスチックのケーシングとチタン製の採水用配管が使われた. また CORK 表面は錆を防ぐため樹脂で念入りに塗装された.

このように本航海は, CORK 設置を最優先で行い, もしこれに遅れが生ずるようなことがあれば, コア回収は諦めることを覚悟した上で始まった. 実際, CORK 設置および掘削の際にいくつかのトラブルに見舞われ, 当初の計画通りとは行かなかったものの, 結果的には 2 サイトで基盤岩を掘削し (Hole U1382A および Hole U1383C), 岩石コアの回収と CORK の設置を無事に行うことができた. さらに, 航海終盤に 3 サイトで堆積物層を掘削し (Hole U1382B, Hole U1383D, Hole U1383E, および Hole U1384A), 堆積物および堆積物-基盤岩境界のコアも回収した. 本航海では, コアの中の“生きた微生物”が重要な研究対象であったため, 従来の IODP 掘削航海では考えられないほど多くのコア試料が微生物解析用に確保された. 地殻内微生物は温度や酸素に敏感であると予想されることから, これらの微生物解析用のコア試料は physical properties 測定や記載など通常行われる過程を全く経ずに, すべて速やかに whole-round でサブサンプリングされ処理された. ここまで大量のサンプルを微生物解析用に供した航海というのは, IODP 航海としてもかなり稀なケースだったのでないだろうか. まさに地殻内微生物研究に特化した掘削航海であった.

4. 掘削の概要

当初の計画では、North Pond 北部の Site U1383 と Site U1384 の 2 サイトで基盤岩の掘削を行い、そのうち 1 つは基盤岩を 500 m までの掘り下げを目標としていた。そして、南東部にある既存の Hole 395A を含めた 3 つの掘削孔へ新たな CORK を設置する予定であった。過去の熱流量や地殻流体調査から、Hole 395A のある南東部がリチャージゾーンであり、新規に掘削する場所がディスチャージゾーンであると推定されており、本航海によってその両方に CORK を設置することを狙ったのである。

4-1. Hole 395A

本航海ではまず初めに、Hole 395A に設置されていた古い CORK (ODP Leg 174B にて設置) の回収と孔内検層、そして新たな CORK の設置が試みられた。古い CORK の回収はトラブル無く行われ、設置されていた孔内温度計のデータ回収も極めて順調であった。孔内検層では、孔内微生物の非破壊検出のための新兵器、Deep Exploration Biosphere Investigation tool (DEBI-t) がロギングツールとして初めて使用された。DEBI-t は波長 200 ~ 250 nm の遠紫外線 (deep UV) を掘削孔内壁に照射し、細胞固有の有機物が発する蛍光を検出するというものである。これまで、実験室内で海底試料表面の微生物の検出を行った例はあるが (Bhartia *et al.*, 2010)、海底での使用は初めての試みであった。孔内検層後、新しい CORK の設置が行われ、作業は最終段階まで順調に進んだ。しかし、最後の作業である CORK running tool (設置作業時に CORK をドリルパイプに繋いでおくためのアタッチメント) の切り離し作業が難航し、その間に思わぬ方向へ力が加わったため CORK head が破損してしまうという大きなトラブルに見舞われた。これによって、貴重な新型 CORK を失っただけでなく、海洋地殻を 500 m 以上掘り抜いている数少ない大深度掘削孔の 1 つである Hole 395A を、放棄せざるを得なくなってしまった。

4-2. Site U1382

Hole 395A への CORK 設置が失敗に終わったため、Hole 395A に代わる掘削孔として Hole 395A の西約 50 m に新たに Hole U1382A を掘削した。Hole U1382A の堆積物の厚さは 90 m であった。ここでは、堆積物のコアリングは行われなかった。一方、RCB (rotary core barrel) による基盤岩のコアリングは 110-210 mbsf で行われ、合わせて 32 m の岩石コアが回収された (回収率 32%)。

掘削された岩石は、主として枕状玄武岩と塊状玄武岩であったが、161.3 ~ 173.2 mbsf に薄い堆積層を挟む (図 3A)。玄武岩は、さらに斜長石とかんらん石の斑晶を多く含むもの (斑晶質) と、ほとんど含まないもの (無斑晶質) に分けられる。これらの玄武岩は、低温・酸化的条件での変質を被っているが、高温の変質作用を被っているものは認められなかった。変質鉱物は、主に粘土鉱物と鉄水酸化物で、他に炭酸塩鉱物や沸石も認められた。堆積層は、炭酸塩堆積物を基質とし、玄武岩、はんれい岩、カンラン岩の礫を多数含んでいる。カンラン岩礫は、蛇紋石化作用を広く被っているほか、一部で鉄酸化物を伴う低温・酸化的な変質も被っていた。

微生物解析用には 46 個の whole-round 試料が確保され (回収コアの 11%)、deep-UV scanning、微生物培養、コンタミネーション評価といった船上実験に使われたほか、陸上での各種遺伝子解析や同位体解析用に処理・保存された。

Hole U1382A に設置された CORK のケーシングには、多数の穴が開いたスクリーンが設置されており、地殻内流体がスクリーンを通してケーシング内部に流入するようになっている (図 4)。このケーシング内部には、CORK instrument string と呼ばれる一連の装置 (温度および酸素プローブ、浸透圧ポンプを利用した連続採水器 OsmoSampler (Jannasch *et al.* 2004)、そして微生物現場培養装置 Flow-through Osmo Colonization System (FLOCS) (Orcutt *et al.* 2010)) が吊り下げられている。Osmo-Sampler は、飽和 NaCl 溶液による浸透圧ポンプを駆動力として、細く長いチューブにゆっくりと連

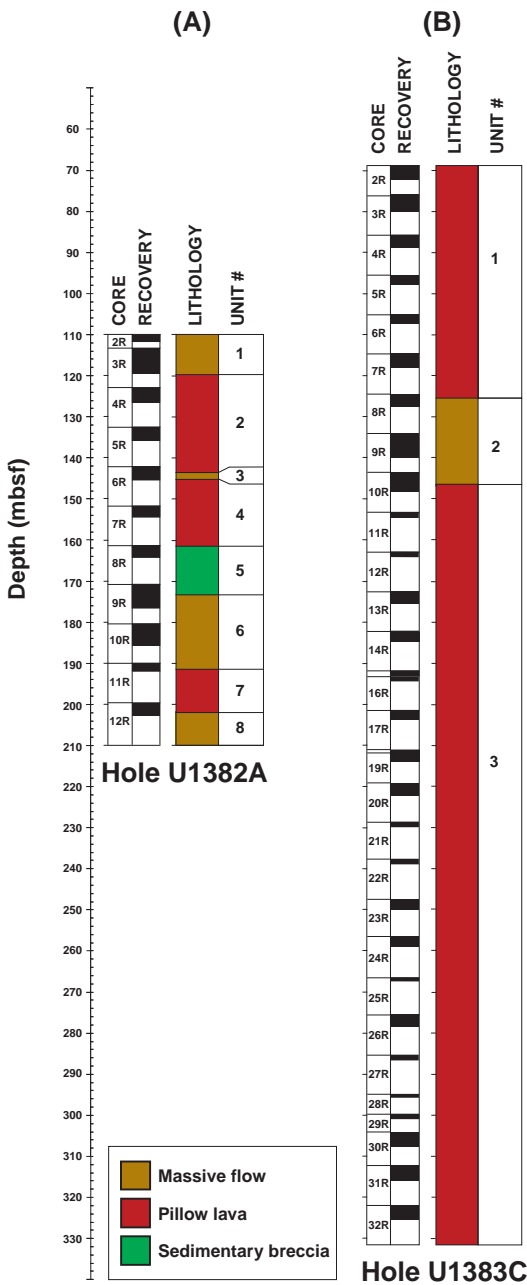


図3 Hole U1382A (A) およびHole U1383C (B) から採取したコアの岩層 (Edwards, Bach, *et al.*, 2012 を一部改変)

続的に、長期間孔内流体を採水していくための装置である。数ヶ月から数年かけて採水し、回収後にチューブを切り分けて分析すると、孔内流体に起きた変化を経時的に見ることができる。FLOCSは、浸透圧ポンプと様々な鉱物チップを仕込んだ容器を繋いだもので、微生物の長期連続型現場培養槽とも呼べるものである。これにより、回収後に鉱物チップ表面にどのような微生物が棲み着いたか、またどのような変質が起きたかを調べ、微生物の活動を明らかにしようとしている。

4-3. Site U1383

Site U1382の北東5.9 kmに位置するSite U1383は、熱流量が高く、ディスチャージゾーンであろうと考えられている場所である。ここでは、基盤岩内を深度ごとに調べるため3層に仕切ったCORKを設置するべく、基盤岩を約500 m掘削することを目標に掘削が開始された。最初に掘削したHole U1383Bでは、基盤岩を約35 m (90 mbsf)掘削したところでドリルビットが破損し、ビットの一部が孔の底に落ちてしまうというトラブルに見舞われた。前述の通り鉄酸化菌が主要な研究対象である本航海では、大きな鋼の塊を掘削孔内に残すことは避けなければならない。そのため残念ながらHole U1383Bは放棄することとなった。

放棄されたHole U1383Bに代わって、25 m南西に新たにHole U1383Cを掘削することとなった。その際、これまでのトラブルによる遅れを考慮し、基盤岩を約500 m掘削するという当初目標は諦め、新たに約300 m掘削することを目標とした。Hole U1383Cでは、極めて順調に作業が進んだ。Hole U1383Cの堆積物の厚さは38 mであった。69.5 ~ 331.5 mbsfで基盤岩のRCBコアリングを行い、合わせて50.3 mの岩石コアが回収された(回収率19%)。

掘削された岩石は、Hole U1382と同様に枕状玄武岩と塊状玄武岩から成る(図3B)。それらは、さらに斜長石とかんらん石の斑晶を含む斑晶質なもの、無斑晶質なものに分けることができる。164 mbsfで浅の玄武岩には、噴出時に巻き込まれたと思われる炭酸塩岩がしばしば含まれている

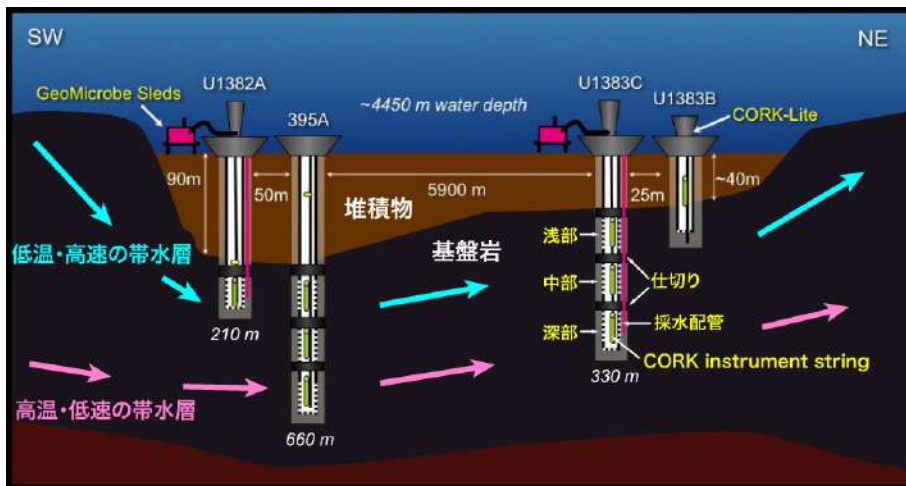


図4 North Pondの地下構造と掘削孔へ設置されたCORKの概観図 (Edwards, Bach, *et al.*, 2012 を一部改変)

が、それより深い部分の玄武岩には認められなかった。出現する変質鉱物は、粘土鉱物、鉄水酸化物、炭酸塩鉱物、沸石であり、Hole U1382と同様に低温・酸化的条件での変質を被っていることがわかる。ただし、全体的に変質の程度はHole U1382に比べてやや低く、変質せずに残っている火山ガラスの量も比較的多かった。また、ここでは深い部分から採られたサンプルほど、変質の程度が低くなる傾向が認められた。

微生物解析用には、79個のwhole-round試料が確保され(回収コアの12%)、各種船上および陸上解析用に処理・保存された。

Hole U1383Cに設置されたCORKは浅部(58~146 mbsf)、中部(146~200 mbsf)、深部(200~332 mbsf)と垂直方向に3層に仕切られ、それぞれの層に温度および酸素プローブ、OsmoSampler、FLOCSから成るCORK instrument stringが設置された(図4)。

4-4. 堆積物および堆積物-基盤岩境界コアリング
基盤岩掘削およびCORK設置終了後、堆積物掘削を行った。堆積物層は3サイト4カ所で、基盤岩との境界面まで掘削した。堆積物層はAPCコアリング、堆積物-基盤岩境界ではXCBコアリングを行った。

Hole U1382Bの掘削は、Hole 395AとHole U1382Aの中間地点で行われた。90mの堆積物コアが回

収された後、変質したはんれい岩とかんらん岩の礫を含んだ境界コア8.8mが回収された。

Hole U1383DとHole U1383Eは、基盤岩掘削を行ったHole U1383Cとほぼ同じ場所で掘削された。Hole U1383Dでは44mの堆積物コアと、1mの境界コアが回収された。この境界コアでは、玄武岩礫を含んだ堆積物と、基盤の無斑晶質玄武岩が採れた。Hole U1383Dのすぐそばで掘削されたHole U1383Eでも、44mの堆積物コアと1mの境界コアが回収された。ただし境界コアでは、基盤のものと思われる数個の無斑晶質な玄武岩のかけらが回収されただけであった。Hole U1383DおよびU1383Eは、基盤岩掘削を行ったHole U1383Cとほぼ同じ場所で行われている。しかし、興味深いことにHole U1383DおよびU1383Eの堆積物-基盤岩境界コアで回収された玄武岩は無斑晶質であるのに対して、基盤岩掘削で回収されたHole U1383Cの最上部基盤岩コアは斜長石とかんらん石の斑晶を含む玄武岩であり、両者の岩相は異なっていた。

Hole U1384Aは93.5mの堆積物コアと、玄武岩と石灰岩で固まった角礫からなる境界コア0.6mが回収された。玄武岩は、無斑晶質な枕状玄武岩で、低温・酸化的条件での変質を被っていることを示す茶褐色のハローがしばしば観察される。石灰岩は、Hole U1382のものと同様に、玄武岩の噴

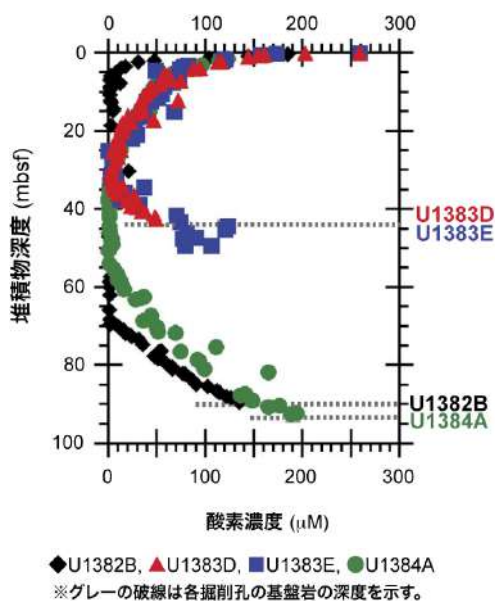


図5 堆積物中の酸素濃度プロファイル (Orcutt *et al.* 2013 を一部改変).

出時に接触あるいは取り込まれたものであると考えられる。

回収された堆積物コアは、その多くの部分が微生物解析用、および間隙水採取用として whole-round で確保された。これら4つの Hole で得られたコアからは、間隙水採取用には合わせて167試料(各20 cm)が、微生物解析用には691試料(各10~20 cm)がサブサンプリングされた。またコア内部の酸素濃度を測るため、サブサンプリング後に残った whole-round コアは酸素センサーを用いた測定に供された。そして堆積物層における酸素濃度が、海底面から深くなるに従って減少し中間層ではほぼ完全に無くなるが、深部の基盤岩との境界面に向かって再び増加することがわかった(図5)。これは堆積物の透水性が非常に低いのに比べ、基盤岩は透水性が高いことを示していると考えられる。このデータをもとに、North Pondの基盤岩における酸素消費速度が推定されている(Orcutt *et al.* 2013)。

5. おわりに

本航海で得られた試料のほとんどが現在も解析中であり、まとまった結果が出てくるのはこれからである。特に微生物解析については、解析のあらゆる段階で外部からのコンタミネーションがないよう最大限の注意を払い、また解析結果にコンタミネーションの兆候が無いかどうかにも検証されなければならない。それなしに地殻内微生物の存在を証明することはできない。これらの解析結果と、今後数年にわたるCORKを通じた現場観測・現場実験の結果が出揃った時、初めて海洋地殻内微生物圏の姿が明らかになるものと期待される。

参考文献

- [1] Bach, W., and Edwards, K.J. (2003) Iron and sulfide oxidation within the basaltic ocean crust: implications for chemolithoautotrophic microbial biomass production *Geochim. Cosmochim. Acta*, 67(20): 3871-3887.
- [2] Becker, K., Malone, M.J., *et al.*, (1998) Proc. ODP, Init. Repts., 174B: College Station, TX (Ocean Drilling Program).
- [3] Bhartia, R., Salas, E.C., Hug, W.F., Reid, R.D., Lane, A.L., Edwards, K.J., and Neelson, K.H. (2010) Label-free bacterial imaging with deep-UV-laser-induced native fluorescence. *Appl. Environ. Microbiol.* 76(21): 7231-7237.
- [4] Davis, E.E., Becker, K., Pettigrew, T., Carson, B., and MacDonald, R. (1992) CORK: a hydrologic seal and down-hole observatory for deep-ocean boreholes. In Davis, E.E., Mottle, M.J., Fisher, A.T., *et al.*, Proc. ODP, Int. Repts., 139: College Station, TX (Ocean Drilling Program), 43-53.
- [5] Detrick, R.S., Honnorez, J., Bryan, W.B., Juteau, T., *et al.*, (1988) Proc. ODP, Init. Repts., 106/109: College Station, TX (Ocean Drilling Program).
- [6] Edwards, K.J., Bach, W., *et al.*, (2012) Proc. IODP, 336: Tokyo (Integrated Ocean Drilling Program Management International, Inc.).
- [7] Fisher, A.T. (2005) Marine hydrogeology: recent accomplishments and future opportunities. *Hydrogeol. J.* 13(1):69-97.
- [8] Gable, R., Morin, R.H., and Becker, K. (1992) Geothermal state of DSDP Holes 333A, 395A AND 534A: results from the DIANAUT program. *Geophys. Res. Lett.*, 19(5): 505-508.
- [9] Hickman, S.H., Langseth, M.G., and Svitek, J.F. (1984)

In situ permeability and pore-pressure measurements near the Mid-Atlantic Ridge, Deep Sea Drilling Project Hole 395A. In Hyndman, R.D. Salisbury, M.H. *et al.*, Init. Repts. DSDP, 78B: Washington, DC (U.S. Govt. Printing Office), 699-708.

[10] Hyndman, R.D. Salisbury, M.H. *et al.*, (1984) Init. Repts. DSDP, 78B: Washington, DC (U.S. Govt. Printing Office).

[11] Jannasch, H.W., Wheat, C.G., Plant, J.N., Kastner, M., Stakes, D.S. (2004) Continuous chemical monitoring with osmotically pumped water samplers: OsmoSampler design and applications. *Limnol. Oceanogr.: Methods*, 2: 102-113.

[12] Langseth M.G., Hyndman, R., Becker K., Hickman, S.H., and Salisbury, M. (1984) The hydrogeological regime of isolated sediment ponds in mid-oceanic ridges. In Hyndman, R.D. Salisbury, M.H. *et al.*, Init. Repts. DSDP, 78B: Washington, DC (U.S. Govt. Printing Office), 825-837.

[13] Melson, W.G., Rabinowitz, P.D., *et al.*, (1979) Init. Repts. DSDP, 45: Washington, DC (U.S. Govt. Printing Office).

[14] Orcutt, B., Wheat, C.G., and Edwards, K.J. (2010) Subseafloor ocean crust microbial observatories: development of FLOCS (Flow-Through Osmo Colonization System) and evaluation of borehole construction materials. *Geomicrobiol J.*, 27(2): 143-157.

[15] Orcutt, B.N., Wheat, C.G., Rouxel, O., Hulme, S., Edwards, K.J., and Bach, W. (2013) Oxygen consumption rates in subseafloor basaltic crust derived from a reaction transport model. *Nat. Commun.*, 4, 2539, doi:10.1038/ncomms3539.

[16] Villinger H., and Cruise Participants (2010) Short cruise report: RV Maria S. Merian Cruise MSM11/1.

[17] Wheat, C.G., Jannasch, H.W., Kastner, M., Hulme, S., Cowen, J., Edwards, K. J., Orcutt, B. N., and Glazer, B. (2011) Fluid sampling from oceanic borehole observatories: design and methods for CORK activities (1990-2010). In Fisher, A.T., Tsuji, T., Petronotis, K., and the Expedition 327 Scientists, Proc. IODP, 327: Tokyo (Integrated Ocean Drilling Program Management International, Inc.).

