冷湧水炭酸塩岩形成場における化学合成群集の進化

荻原成騎

東京大学大学院理学系研究科地球惑星科学専攻

The evolution of chemosynthetic biological community at the site of cold-seep carbonate precipitation

Shigenori Ogihara

Department of Earth and Planetary Science, Graduate School of Science, The University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-0033 (ogi@eps.s.u-tokyo.ac.jp)

Abstract. Methane-derived carbonate rocks can be found seven localities in Hokkaido, and represent good examples of carbonate rocks produced by cold-seepage. These carbonate rocks, Albian to Holocene age, contain fossil chemosynthetic biological communities. The special emphasis of this study is placed on the assemblage of biomarkers which indicate methane-oxidizing Archaea. Typical compounds include isoprenoid-based lipids, crocetane and PME from Archaea, and monomethyl branched carbon skeletons assigned to sulfate-reducing bacteria, consistent with syntrophic relationships in the anaerobic oxidation of methane (AOM) in all samples. These Archaeal biomarkers were strongly ¹³C-depleted, which indicates that anaerobic oxidation of methane had occurred during carbonate precipitation. Biomarker analysis indicate that AOM in the age of Albian was performed by Archaea affiliated with the so called ANME-1 group, which characterized the presence of crocetane and PME, and the AOM from the age earlier than Cenomanian were performed by the mixture of ANME-2 group Archaea which characterized the presence of C_{40} -biphytanes and isoprenoid ketones, and ANME-1. Therefore, the assemblage of methane oxidizing Arhaea seems to be evolving between Upper Albian and Cenomanian. The massive expansion of ANME-2, which is strictly anaerobic Aarchaea, may have been occurred at the Mid Cretaceous Oceanic Anoxic Event (OAE1d).

Keywords: anaerobic oxidation of methane, biomarker, chemosynthetic biological community, coldseep carbonate, methane-oxidizing Archaea

緒言

深海の熱水噴出孔の周辺や冷湧水域には、通常の海底に 比べて桁外れに多量の生物の生息が観察されることがあ る.これらの生物は、細胞内にメタン、時にはメタンより 炭素数の多い炭化水素、硫化水素をエネルギー源とする細 菌、古細菌などの化学合成菌と共生し、それらの作り出す 有機物を利用して生きている.このような生物群集を化学 合成生物群集と呼び、光合成に依存しない生態系、化学合 成細菌と共生した大型生物、高い個体生息密度を特徴とし ている(Gage and Tyler, 1991).

化石化学合成生物群集は、頻繁に冷湧水炭酸塩岩を伴う.冷湧水炭酸塩岩とは、伝統的地質学で知られている堆積作用や続成作用で形成された炭酸塩岩ではなく、メタン などの炭化水素を含む冷湧水に伴なう微生物活動の結果 として形成された炭酸塩である.言い換えると、冷湧水炭酸塩岩の沈殿は、炭化水素を含む冷湧水を特徴付ける現象 である(Ritger et al., 1987).このような冷湧水炭酸塩岩は、 デボン紀中期から現世まで広く知られている地質現象で ある(Peckmann et al., 1999a).様々な地質環境下に見ら れる冷湧水と冷湧水炭酸塩岩, さらにそれらに伴う化学 合成生物群集の発見は、20世紀後半にもたらされた地球 科学の興味深い発見の一つであった. 冷湧水炭酸塩岩が フィールドジオロジスト に正しく認識され, 堆積環境や 形成メカニズムが理解されるようになったのはCambell et al. (1993) 以後である. Cambell以前の野外調査では, 冷 湧水炭酸塩岩を認識できずに, 正体不明の炭酸塩レンズ, 不思議な形状をしたノジュールなどと記載していたはず であり, 野帳を見直すことによって, これまで知られてい なかった冷湧水炭酸塩岩が発見できるかもしれない.

本論は著者がこれまでに報告した北海道に発見された 化石化学合成生物群集を伴う冷湧水炭酸塩岩のバイオ マーカー分析結果(荻原,2004;荻原・重田2004)をま とめることによって,化学合成細菌の活動を推定し,化学 合成群集の進化について考察を試みた.

化学合成細菌の活動と炭酸塩沈殿

メタン湧出水域に生息する化学合成生物群集における 一次生産者としてのメタン酸化菌は発見されていない.メ

タン湧出が生じている嫌気的堆積物中では, 硫酸還元細菌 による硫酸還元とメタン生成古細菌によるメタン酸化の 組み合わせによって嫌気的にメタン酸化が行われている (Ritger et al., 1987; Paull et al., 1992; von Rad et al., 1996). 一般にメタン酸化を行うメタン酸化細菌は好気的にメタ ンを酸化するグラム陰性菌の一群であるのに対して、メタ ン生成菌は無胞子性の偏性嫌気性の古細菌(始原菌)で ある. 古細菌とは、原核構造は持つがリボゾーム小サブ ユニットRNAの相同性により, 真核生物ともバクテリア (真正細菌)とも区別される一群の生物である、メタン生 成古細菌は, 還元的な堆積物中において, 他の嫌気性菌の 発酵生産物、すなわち二酸化炭素、水素、蟻酸、および 酢酸をメタンに変換している.これに対して、嫌気的環境 でメタン生成古細菌が行うメタン酸化は、本来のメタン生 成とは逆の反応であり、"reverse reaction"または"back reaction"と呼ばれる.

硫酸還元細菌とメタン生成古細菌が栄養共生によって 行うネットの反応は以下のように示される.

 $CH_4 + SO_4^{2-} \rightarrow HCO_3^{-} + HS^{-} + H_2O$

この反応はアルカリ度の上昇をもたらし,炭酸塩鉱物 沈殿を妨害する間隙水中の硫酸イオンの減少は炭酸塩の 沈殿を促進させるが,逆に二酸化炭素の発生はpHの低下 などにより,炭酸塩を溶解に導く(i.e. Wallmann *et al.*, 1997).

 $Ca^{2+} + 2HCO_3^- \rightarrow CaCO_3 + CO_2 + H_2O$

冷湧水炭酸塩の沈殿は微生物活動の結果であり,現世の 海洋底における炭酸塩の沈殿は炭化水素を含む冷湧水に 特徴的な現象である(Ritger *et al.*, 1987; Packmann *et al.*, 1999b). このような理由から,嫌気的メタン酸化によっ て生成された硫化水素のような還元体の硫黄化合物を利 用する硫黄酸化菌と栄養共生する大型二枚貝類は,炭酸塩 岩中から頻繁に発見される.

冷湧水炭酸塩の認定

Cambell *et al.* (1993) は、"fossil seep-search strategy" として、地質時代における冷湧水炭酸塩岩の記載と考察 を初めて詳細に行った.彼らが扱った炭酸塩岩を冷湧水と 関連付けた根拠は、炭酸塩の低δ¹³C値と特殊な無脊椎動 物化石群集の局所的な分布であった.ここで問題となるの は、通常の続成作用によって間隙水から沈殿した炭酸塩の うち深い埋没深度で形成された炭酸塩は冷湧水炭酸塩岩 と同じく低δ¹³C値を持つ場合があること、および炭酸塩 岩に含まれる化石分布は局所的であり、その保存は良いと は限らないことである.続成作用によって形成されたカル サイトの炭素同位体組成としては、DSDP Site438A (三陸 沖)深度523.8mにおいて-36.96‰のカルサイトが報告さ れている (Matsumoto and Matsuhisa, 1985).これに対し て、バイオマーカー分析はメタン酸化を行っているメタン 生成古細菌を直接検知しようとする手法である.メタン生



Fig. 1. The structure of biomarker.

成古細菌を示すバイオマーカーは、湧出メタンの特徴である低δ¹³Cを引き継いでいることが特徴である.

嫌気的メタン酸化に関与したメタン生成古細菌 と硫酸還元菌を特徴付けるバイオマーカー

一般に古細菌は、バクテリアおよび真核生物から、エー テル結合性イソプレノイド炭化水素骨格を含む膜脂質の 有無で区別できる(Woese et al., 1990). イソプレノイド 炭化水素とは、イソプレンユニットの組み合わせから構 成される炭化水素である(図1). イソプレンユニットの "tail"と"head"が結合した型を"regular"イソプレノ イドと呼び、分岐点を有する炭素から4つ目に次の分岐が 生じている. AOMにおいて "reverse reaction" によりメ タン酸化を行っているメタン生成古細菌認定に重要な化 合物は、イソプレンユニット連結に1カ所の"tail-to-tail "型の結合が生じている"irregular"イソプレノイド炭化 水素である."tail-to-tail"結合では分岐点を有する炭素 から5つ目に次の分岐が生じている(図1).メタン生成 古細菌認定には、C₂₅"irregular"イソプレノイド炭化水 素である PME (2,6,10,15,19-ペンタメチルエイコサン:V) とC20"irregular"イソプレノイド炭化水素であるクロセ

タン(2,6,11,15-テトラメチルヘキサデカン;IV)が有効な バイオマーカーである (Brassell et al., 1981; Elvert et al., 1999). 特に不飽和 PME (V) は、培養した Methanolobus bombayensis および Methanosarcina mazei から検出されて おり (Schouten et al., 1997), メタン生成菌を強く特徴付 けるバイオマーカーである. これに対して, クロセタン (IV)の培養された試料からの報告は、陸性のメタン生 成古細菌である Methanosphaera からの報告が一例あるの みで (Jones and Holzer, 1991),海性のメタン生成古細菌 から検出されたことがない. しかしながら, クロセタン (IV)の PME(V)との構造的な類似および冷湧水環境 での検出から、クロセタン(IV)もメタン生成古細菌を 強く特徴付けるバイオマーカーとされている (Pancost et al., 2001). さらに、クロセタン (IV) はPME (V) と異 なって全ての分析例で低δ¹³Cを示すことも重要な裏付け となっている (Thiel et al., 2001). AOM において "reverse reaction"によりメタン酸化を行っているメタン生成古細 菌の大部分は、16S rDNA解析に基づいた分類によって、 ANME-1グループとANME-2グループに分類される(た とえば Mills et al., 2003). Blumenberg et al. (2004) は, ANME-1とANME-2がそれぞれ卓越する海洋堆積物の有 機地球化学分析を行ないバイオマーカー組成と対比させ た. その結果, ANME-1の炭化水素画分からはクロセタ ン(IV)と飽和および不飽和PME(V),エーテル結合性 脂質からはフィタンのみでビフィタン(VII~IX)は検出 されなかった. ANME-2については、炭化水素画分から 飽和および不飽和 PME(V)のみでクロセタン(IV)を 含まず,エーテル結合性脂質からはフィタンと3種のビ フィタン(VII~IX)が検出された.エーテル結合性の C40ビフィタン(VII~IX)は、一般的な古細菌を示すバ イオマーカーであるが、ANME-1とANME-2の識別に は重要なバイオマーカーである. 荻原・重田 (2004) は, ANME-2グループに分類される Methanosarcina などに含 まれるヒドロキシアーケオールから,酸による分解によっ てC₁₃およびC₁₈イソプレノイドケトン(XおよびXI)が 生成されることを指摘した. すなわち, イソプレノイドケ トン (XおよびXI) の有無は, Koga et al. (1998) が提唱 した脂質構成部品分析法(メタン生成古細菌においては定 性的脂質分析が化学的分類指標になりうることから, コア 脂質,単糖,ホスホジエステル結合性の極性基の3群の化 合物を定性的に分析しメタン生成古細菌の分類群と結び つける分析法),においてヒドロキシアーケオールの有無 に相当する. このように、イソプレノイドケトン(Xおよ びXI)は、ANME-2のマーカーとなる.この手法は、メ タン生成古細菌を二種類に分類することしかできないが, 化石試料に用いることができる点が重要である. 硫酸還元 菌の活動を示すバイオマーカーは, anteiso-C₁₅アルカン(I) である. C₃₀ "irregular" イソプレノイド炭化水素である スクワラン (VI) は、古細菌および細菌に広く分布する. n-C23 (II) およびその不飽和は起源不明であるが、AOM において頻繁に検出されるn-アルカンである.

北海道に分布する冷湧水炭酸塩岩の産状と含ま れる化石

北海道白亜系から5地点,中新統から1地点,完新統か ら1地点の合計7地点から冷湧水炭酸塩岩を採取した.図 2に採集地点を示した,また各試料の産状と含まれる化石 は以下の通りである.

三笠市奔別川下流(産地1)

三笠市奔別川下流右岸の中部蝦夷層群下部(前期アル ビアンの最下部)のタービダイトの泥質部に不定形筒状, 一部に塊状の炭酸塩ノジュールが含まれる.この露頭は、 Matsumoto (1965) のLoc. Ik2031 である. 不定形筒状 ノジュールは最大で太さ15cm,長さ60cmであり,層理 面とは低角で斜交している。塊状ノジュールは長辺5~ 30cmのジャガイモ型を呈し、刺状の突起を持つことが特 徴的である. ノジュールは緻密で凹凸をもつ表面はつや があり"黒光り"する. ノジュール内外に頻繁に合弁で 層理面に対して直立した二枚貝が発見される. これまで の研究では大型のスエモノガイ科Thracidora sp. が多産し、 Calyptogena sp., Yoldia sp., Solemya sp.の産出が報告され ており、メタンをエネルギー源とする化学合成生物群集と 確認された (蟹江ほか, 1993). 本研究では, Calyptogena を含む筒状ノジュールを冷湧水炭酸塩と認定し分析に用 いた. このノジュールの炭酸塩炭素同位体組成は-26.7‰ ~-25.2‰,酸素同位体組成は-4.9‰~-4.2‰であった.炭 酸塩炭素同位体組成が重い値を示したのは、冷湧水炭酸塩 の周囲に続成作用で炭酸塩が沈殿し、その混合物を分析し た可能性が考えられる.

栗沢町万字シコロ沢(産地2)および夕張歌越沢(産地3)

栗沢町万字シコロ沢および夕張歌越沢より採取した試 料は、古生物学的な手法によって"化学合成生物群集"に ついての記載がなされていない.本研究で冷湧水炭酸塩と 認定したシコロ沢石灰岩および歌越沢石灰岩層の上下層 準においても炭酸塩ノジュールが多数分布する.冷湧水石 灰岩層は上下層準に分布する炭酸塩ノジュールの産状と は全く異なり、"緻密で風化面につやがあり、多量の二枚 貝と正体不明の生痕化石を含む石灰岩"である.シコロ沢 石灰岩および歌越沢石灰岩は、どちらも厚さ1~2mのレ ンズ状泥質石灰岩であり, 鏡下では多量の植物片とペレッ トで特徴付けられ、細粒の砕屑性石英を少量含む.厚さ1 ~2mm以下の方解石脈によって頻繁に切られ、脈の部分 の方解石結晶は粒径が大きい. 化石は二枚貝と有孔中を含 むが,保存は悪く種決定はなされていない.シコロ沢石灰 岩および夕張歌越沢石灰岩どちらも上下層準に産出する アンモナイトおよびイノセラムス化石から上部アルビア ンと推定される(小畠・二上, 1975;二上, 1981)が、シ

コロ沢石灰岩が相対的に上位であると考えられる. 各石 灰岩の炭酸塩炭素同位体組成はシコロ沢-29.2%, 歌越沢 -39.0%, 酸素同位体組成はシコロ沢-4.9%, 歌越沢-4.8% であった.

達布金尻沢石灰岩(産地4)

北海道小平町小平蘂(オビラシベ)川の支流金尻沢に産 出する層厚約4mの層状石灰岩であり、多量の化石と生物 擾乱で特徴付けられる.直上に直径10~20cm,長さ30~ 40cm程度のチムニー状ノジュールが分布する. 鏡下では 緻密なミクライトであり,不定形の空隙を放射状に柱状の 方解石が埋めている. 植物片などの有機物に富み, 細粒の 斜長石,石英などの砕屑物を少量含む. 蟹江ほか(1996) は、この石灰岩からスエモノガイ科のThracia yezoences、 Nipponothracia sp., ツキガイ科のMiltha sp.などの化学合 成二枚貝を報告し, ツキガイ科の種を優先種とする現世 化学合成生物群集に類似するとしている.また、この石 灰岩は上下層準のアンモナイトおよびイノセラムス化石 から、下部~中部セノマニアンに対比される.分析を行っ た試料は層状石灰岩主部であり,炭酸塩炭素同位体組成は -43.4‰~-39.9‰,酸素同位体組成は-5.8‰~-2.5‰であっ た.

天塩中川町アベシナイ川(産地5)

天塩中川町アベシナイ川とオソウシナイ沢の合流点付 近に露出するレンズ状石灰岩であり、厚さ6~8m、幅 10~15mの大きさをもつ.上部はミクライト質のチュー ブワーム石灰岩で砕屑物をほとんど含まない.下部は 二枚貝に富む泥質石灰岩であり、少量の火山砕屑物を含 む.Hikida et al. (2003)は、この石灰岩からMiltha sp., Thyasira sp., Nipponothracia sp.および Calyptogena sp.を 記載し、現世の冷湧水の周囲に生息する化学合成生物群集 との比較を行っている.この石灰岩を挟む大曲層の年代は コニアシアンからサントニアン(88.5-83 Ma)である.こ の石灰岩によく似た転石を近傍のルベシベ沢およびチカ ウシナイ沢でも発見した.本研究には上部のミクライト 質石灰岩を用いた.この石灰岩の炭酸塩炭素同位体組成は -45.4‰~-43.7‰、酸素同位体組成は-2.3‰~-1.7‰であっ た.

厚田村望来(産地6)

石狩湾を望む厚田村望来の海岸線には、中新統望来層 の泥岩から砂質泥岩中に*Calyptogena*および*Conchocele*を 含むレンズ状炭酸塩岩が、厚さ30m、幅数kmに渡って露 出する.これらの冷湧水二枚貝は、Amano(2003)によ り古生物学的研究がなされており、陸棚域に生息してい たことが示された.分析に用いた試料は、貝殻を含む緻密 で塊状のシルト質の炭酸塩であり、石村ほか(2005)の Type-Bに相当する.



図2. 北海道における冷湧水炭酸塩岩採取地点.

Fig. 2. The locality map showing the sampling position of coldseep carbonate in Hokkaido.

稚内沖(産地7)

間嶋ほか(2000)によると"1991年から1995年にかけ て稚内沖の水深60m~120mから合弁の Calyptogenaや大 型のConchocele類を含む石灰質クラストが漁業用の網にか かり多数発見され、宮内によって採集された". 間嶋ほか (2000)は炭酸塩クラストに含まれる化石は化学合成生物 群集であり、貝化石を膠結する炭酸塩は海底の冷湧水中の メタンが関与している可能性が強いと報告した.本研究で 分析に用いた試料は、間嶋ほか(2000)の地点Bから底曳 網によって採集された試料である。地点Bは、水深100~ 120mの海底に幅約60~80m,海底面からの深さ3~5m の溝状の窪みからなり, Conchocele を含むクラストなどが 底曳網により引き上げられた.分析に用いた試料は,合弁 の Conchocele と周囲の巣穴状生痕部が炭酸塩でセメントさ れたクラストである. このクラストの炭酸塩炭素同位体組 成は-41.7‰,酸素同位体組成は4.5‰であった.間嶋ほか (2000)は、この海域から引き上げられた炭酸塩クラスト に含まれる化石の¹⁴C年代測定を行い, Conchocele につい て約1000年, Calyptogena について約10000年という結果 を報告している.

冷湧水炭酸塩岩中のバイオマーカー分析法

分析に用いた炭酸塩試料は,岩石カッターによって約3 cm程度のサイコロ状に整形した.この表面を溶媒(ジク ロロメタン/メタノール:50/50)にて洗浄した後,ハンマー で粗砕し風化面および貝殻が付着していない破片のみを 採集し,バイブレーションミルを用いて粉末化した. 粉末試料約10gを250mlテフロン製遠沈管にマグネチック スターラー攪拌子と共に投入し,*n*-ヘキサンにて洗浄した 蒸留水10mlと溶媒(ヘキサン/トルエン:6/4)を加えた. ここでは,粉末試料は水と混合して泥水状となり,溶媒は

荻原成騎

表1. 北海道から採取した冷湧水炭酸塩岩中のメタンに関与したバイオマーカーとその同位体組成および主な二枚貝種.

Table 1. Occurrence and isotopic compositions of methane-related biomarkers and dominant bivales from cold-seep carbonate collected from Hokkaido.

Sample	Age	Dominant species	Free hydrocarbon							C ₄₀ -biphytane			Isoprenoid ketone	
		in carbonate rocks	ante-C15	n-C ₂₃	Pristane	Crocetane	@	PME	Squalane	H-H	1-R	2R	C ₁₃	C ₁₈
			1	П	Ш	IV		V	VI	VII	VIII	IX	Х	XI
Wakkanai oki	Holocene	Conchocele	т	т	▼ -28.6	■ -104.8	>	◆ -109.2	т	▼ -120.0	▼ -127.0	▼	-119.9	-62.3
Morai	Miocene	Calyptogena	•	▼	•	т	<	▼	т		•	▼	Т	▼
Abeshinaigawa	Coniacian \sim Santonian	Miltha	т	т	•	■ -129.1	=	■ -128.7	▼	т	т	n	▼ -105.3	•
Kanajirizawa	${\rm Lower} \sim {\rm Middle} \; {\rm Cenomanian}$	Miltha	▼ -113 7	▼ -93.9	•	-124 7	=	-125.8	▼ -113.9	T -120 9	т	n	-113.1	-103 5
Shikorozawa	Upper Albian	not determined	-72.1	▼	•	-115.6	>	-118.4	▼	T -107.4	n	n	n	n
Utagoshizawa	Upper Albian	not determined	-100.8	▼ -99.2	•	-121.7	>	◆ -119.9	▼ -103.1	T -105.6	n	n	n	n
Ponbetsugawa	Base of Upper Albian	Thracia	-74.8	▼ -81.7	•	■ -124.1	>	◆ -119.1	T -84.0	T -106.5	n	n	n	n
ANME-1						0		0		×	×	×	; ×	×
ANME-2						×		0		0	0	0	0	0

=high abundance, \blacklozenge = moderate, \forall = low abundance, T = trace, n = not present. The structures of each compound are illustrated in Fig.1. @ indicates the quantities comparatively between crocetane and PME

Numbers denote δ^{13} C values of each compound. No entry indicates not analysed. \bigcirc and \times indicate present or absent in ANME-1 and ANME-2 group methanogens.

■=高濃度, ◆ = 中濃度, ▼= 低濃度, T= 微量, n = 未検出. 各化合物の構造はFig. 1に示した. @ はクロセタンとPMEの量比を示す.

数値は各化合物の δ^{13} C値を示す.未記入は未分析.〇と×はメタン生成古細菌ANME-1およびANME-2における含有の有無.

その上に載り二層に分離する.これをマグネチックスター ラーで攪拌しながら、1 M 塩酸をゆっくりと加えた.発 泡の収束を確認した後、遠心分離によって溶媒層と泥水 層に分離した. それぞれの抽出溶媒はロータリーエバポ レーターによって濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグ ラフィーによって炭化水素画分,多環芳香族炭化水素画 分,ケトン/エステル画分,極性画分に分画した. さらに, 極性画分については、HI/LiAlH₄処理によりエーテル結合 を切断し、放出されるビフィタンについて分析を行った. この操作は、極性画分を濃縮した後に1mlの55%ヨウ化 水素酸を加え、100℃にて20時間還流してエーテル結合を 切り,炭化水素鎖をヨウ化アルキルにした.これを50ml のヘキサン/蒸留水中に投入し、ヘキサン相を取り濃縮し た. これに1mlの20mg水素化リチウムアルミニウム/ml テトラハイドロフラン(脱水)溶液を加え2時間還流して 炭化水素とし,再びシリカゲルカラムクロマトグラフィー によって炭化水素を精製し、分析に用いた. この分析操作 はTheil et al. (2001) を改良したものである.

分析に用いたGC/MSはThermoQuest社製Voyagerで あり、インジュクターはオンカラム、使用カラムはHP-5ms(内径0.25mm、長さ30m、膜厚0.25 μ m)である. 分析条件は40℃で1分保持し、4℃/分で300℃まで昇 温した後、30分保持した.また、個別同位体分析には、 ThermoQues社製Delta-PlusにHP社製6800GCを取り付 けた装置を用いた.

分析結果

冷湧水炭酸塩岩のバイオマーカー分析結果を各炭酸塩 に含まれる主要化石と共に表1に示した.個別炭素同位 体組成が得られた化合物につては、δ¹³C値を示した.また、 メタン生成古細菌ANME-1グループ、ANME-2グループ について、各バイオマーカー含有の有無をO×で示した.

表1にまとめた各冷湧水炭酸塩岩のバイオマーカー組

み合わせ、量比に認められる多様性は僅かである、共通す る特徴として、全ての試料から嫌気的メタン酸化を示す PME (V) とクロセタン (IV) が検出された. 中新統望 来層の試料についてはPME(V)に比ベクロセタン(IV) 含有量が著しく少ないが、その他の6試料ではクロセタン (IV)とPME(V)の二つが、支配的な化合物である.ク ロセタン(IV)とPME(V)の量比は、アルビアンの3 試料について、クロセタン(IV)はPME(V)に比べ多 量に含まれる.これに対して、金尻沢とアベシナイ川の 上部白亜系試料では両者はほぼ等しく, 稚内沖の試料で はクロセタン (IV) はPME (V) に比べ多量に含まれる. PME (V), クロセタン (IV) の個別炭素同位体組成分析は, -100‰を下回る著しく軽いδ¹³C値が得られた. それぞれ の試料においてクロセタン(IV)とPME(V)の個別炭 素同位体組成差は5‰以内であり、両者の起源が同一であ ることを示している.本研究で分析を行った7つの炭酸塩 岩から嫌気的メタン酸化に関与したメタン生成古細菌の バイオマーカーであるクロセタン(IV)とPME(V)が 検出されたことによって、これらの炭酸塩岩は冷湧水炭酸 塩岩であることが示された.嫌気的メタン酸化において, メタン生成古細菌と共生してメタン酸化を行っている硫 酸還元菌のバイオマーカーである anteiso-C₁₅(I) につい ては、有為の全ての試料に共通して含有が認められた.プ リスタン (III), $n-C_{23}$ (II), およびスクワラン (VI) に ついては含有量の違いはあるが全ての試料から検出され た. これらの化合物は、時代に対応した含有量の変化は見 られなかった.

分析結果が示す各炭酸塩岩の最大の特徴は、C40-ビフィ タン(VII~IX)とイソプレノイドケトン(XおよびXI)が、 奔別川,歌越沢,シコロ沢のアルビアン冷湧水炭酸塩岩3 産地について欠如すること、金尻沢、アベシナイ川,望来、 稚内沖のセノマニアン以降の冷湧水炭酸塩岩からは、検出 されたことである.C40-ビフィタン(VII~IX)とイソプ レノイドケトン(XおよびXI)についても著しく軽い個 別炭素同位体組成が得られたが,稚内沖試料のC₁₈-イソプレノイドケトン(XI)のみが,-62.3‰と相対的に重い値を示した.

考察

本研究で分析を行った7試料について,クロセタン(IV) とPME(V)が全ての試料から検出されたことから、全 ての試料にメタン生成古細菌ANME-1グループが含まれ ていたと考えられる.また、著しく軽い炭素同位体組成を 持つC₄₀-ビフィタン (VII~IX) とイソプレノイドケトン (XおよびXI)が、セノマニアン以降に形成された金尻沢、 アベシナイ川、望来および稚内沖の冷湧水炭酸塩岩から 検出されたことは、これらにANME-2グループが含まれ ていたことを意味する.これに対して, 奔別川, 歌越沢, シコロ沢のアルビアン冷湧水炭酸塩岩3産地についてC40-ビフィタン (VII~IX) とイソプレノイドケトン (Xおよ びXI) が欠如することから、ANME-2グループは含まれ ていなかった.このようにアルビアンの3つの冷湧水炭 酸塩岩形成場では、メタン生成古細菌ANME-1グループ のみが活動し、セノマニアン以降の冷湧水炭酸塩について は、ANME-1とANME-2の二つのグループのメタン生成 古細菌が嫌気的メタン酸化に関与していたことが明らか になった.

世界各地に分布する冷湧水炭酸塩岩のバイオマーカー 分析は、冷湧水炭酸塩の認識後に数多く行われている. Peckmann et al. (1999a) は,南フランスBeauvoisinのジュ ラ紀 (Oxfordian) の試料分析の結果, PME (V) とC40-ビフィタン (VII~IX) を検出したが、クロセタン (IV) の欠如を報告した. このようにジュラ紀の冷湧水炭酸塩 形成場では、ANME-1のみの活動が推定された.これに 対して, 白亜紀以後に形成された冷湧水炭酸塩岩について の分析は、合衆国ワシントン州Wyiskey Creek(始新世) (Goedert et al., 2003), ワシントン州 Lincoln Creek (漸新 世) (Rigby and Goedert, 1996), 北イタリア Marmorito (中 新世) (Peckmann et al., 1999a), イスラエルBe' eri (更新世) (Burhan et al., 2002) などがあげられるが、いずれの冷湧 水炭酸塩岩のバイオマーカー分析においてもクロセタン (IV), PME (V) および C_{40} -ビフィタン (VII~IX) が 検出されている. これによって白亜紀以降全ての冷湧水炭 酸塩形成場においては、ANME-1グループとANME-2グ ループの両方の活動が推定される.

本研究の分析結果と文献データを合わせて考察すると、 冷湧水炭酸塩沈殿場における嫌気的メタン酸化に関与し た古細菌は、アルビアンよりも古い時代ではANME-1グ ループのみが活動し、セノマニアン以降はANME-1と ANME-2グループ両者の活動が世界的に広がっていた.

メタン生成古細菌以外の古細菌の研究も複数の報告が なされている. Kuypers *et al.* (2001) は,前期アルビ アンの黒色頁岩から,非好熱性のクレンアーキオタ門

(Crenarchaeota) 古細菌のエーテル脂質を検出し、海洋 おけるクレンアーキオタ門古細菌の分布が60Maの海洋無 酸素事変(OAE1b: Albian 最下部)において拡大したと 結論付けている.現在知られている中期白亜紀の海洋無酸 素事変は、アプチアン最下部 (OAE1a)、下部アルビアン 最下部 (OAE1b), 上部アルビアン下部 (OAE1c), 上部 アルビアン最上部 (OAE1d), セノマニアン/チューロニ アン境界 (OAE2) の5つである (Erbacher and Thurow, 1997). 本研究で明らかにしたメタン生成古細菌の群集組 成の変化は、上部アルビアン上部からセノマニアン最下部 の間で生じている. クレンアーキオタ門古細菌がOAE1b で生息域を拡大したように、アルビアン最上部で生じた 海洋無酸素事変時(OAE1d)にANME-2グループが生息 地域を拡大したとするとメタン生成古細菌群集組成の変 化をうまく説明できる.絶対嫌気性のメタン生成古細菌 ANME-2グループにとって、海洋無酸素事変は生息域拡 大の絶好の環境変動であったと考えられる. ただし、白亜 紀中期に5回生じた海洋無酸素事変のうち,なぜOAE1d においてANME-2グループの拡大が選択的に生じたのか 今後の研究課題である.

謝辞

本研究に用いた冷湧水炭酸塩試料の採取には,国立科学 博物館,重田康成博士のご協力を頂いた.記して感謝致し ます.

文献

- Amano, K., 2003. Predatory Gastropod Drill Holes in Upper Miocene Cold Seep Bivalves, Hakkaido, Japan. *The Veliger*, 46, 90-96.
- Blumenberg, M., Seifert, R., Reitner, J., Pape, T, and Michaelis, W., 2004. Membrane lipid patterns typify distinct anaerobic methanotrophic consortia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **30**, 11111-11116.
- Brassell, S.C., Wardroper, A. M. K., Thomson, I. D., Maxwell, J. R. and Eglinton, G., 1981. Specific acyclic isoprenoids as biological markers of methanogenic bacteria in marine sediments. *Nature*, 290, 693-696.
- Burhan, R. Y. P., Trendel, J. M., Adam, P., Wehrung, P., Albrecht, P. and Nissenbaum, A., 2002. Fossil bavterial ecosystem at methane seeps: origin of organic matter from Be' eri sulfur deposit, Israel. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 66, 4085-4101.
- Cambell, K. A., Carson, C. and Bottjer, D. J., 1993. Fossil cold seep limestones and associated chemosynthetic macroinvertebrate faunas, Jurassic-Cretaceous Great Valley Group, California. In Graham, S. A. and Lowe, D. R. eds. Advances in the sedimentary geology of the Great Valley Group, Sacramento Valley, California. Society of Economic Paleontologists and Mineralogists, Pacific Section, Book 73, 37-50.
- Elvert, M., Suess, E. and Whiticar M. J., 1999. Anaerobic methane oxidation associated with marine gas hydrates: Superlight C-isotopes from saturated and unsaturated C_{20} and C_{25} irregular isoprenoids. *Naturwissenschaften*, **86**, 295-300.
- Erbacher, J. and Thurow, J., 1997. Influence of oceanic anoxic events on the evolution of mid-Cretaceous radiolaria in the

North Atlantic and western Tethys. *Mar. Micro. Paleontology*, **30**, 139-158.

Gage, J. D. and Tyler, P. A., 1991. Deep-Sea Biology. A natural history of organisms at deep-sea floor. 504p., Cambridge University Press.

- Goedert, J. L., Thiel, V., Schmale, O., Rau, W. W., Michaelis, W. and Peckmann, J., 2003. The Late Eocene 'Whiskey Creek' methane-seep deposit (western Washington State): Part I. Geology, palaeontology and molecular geobilolgy. *Facies*, 48, 223-240.
- Hikida, Y., Suzuki, S., Togo, Y. and Ijiri., A., 2003. An exceptionally well-preserved fossil seep community from the Cretaceous Yezo Group in Nakagawa area, Hokkaido, northern Japan. *Paleontological Reserch*, **7**, 329-342.
- 二上政夫, 1981. 北海道鳩の巣地域の白亜系-特にアンモナイト群 衆の特性-. 地質学雑誌, 88, 101-120.
- 石村豊穂・井尻暁・阿部恒平・角皆潤,2005.北海道,中新統望来層 におけるシロウリガイ属化石をともなう石灰質団塊の特徴,地質 学雑誌,111, VII-VIII.
- Jones, W. J. and Holzer, G. U., 1991. The polar and neutral lipid composition of *Methanoshaera stadtmanae*. System. Appl. Microbiol., 14, 130-134.
- 蟹江康光・吉川幸叙・酒井民江・高橋武美,1993. 北海道三笠市の 白亜系から発見された冷湧水依存の化学合成軟体動物コミュニ ティ. 横須賀市博研報,41,31-36.
- 蟹江康光・吉川幸叙・坂井民江・倉持卓司, 1996. 北海道白亜紀の 化学合成生物群集の復元. 横須賀市博研報, 44, 69-74.
- Koga, Y., Morii, H., Akagawa-Matsushita, M. and Ohga, M., 1998. Correlation of polar lipid composition with 16SrRNA phylogeny in methanogens. Further analysis of lipid component parts. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **62**, 230-236.
- Kuypers, M. M. M., Blokker, P., Erbacher, J., Kinkel, H., Pancost, R. D., Schouten, S. and Sinninghe Damste, J. S., 2001. Massive Expansion of Marine Archaea during a mid-Cretaceous Oceanic Anoxic Event. *Science*, 293, 92-94.
- 間嶋隆一・加藤和浩・和田秀樹・宮内敏哉, 2000. 稚内沖の化学合成群集.月刊海洋,号外No.20, 146-154.
- Matsumoto, R. and Matsuhisa, Y., 1985. Chemistry, carbon and oxygen isotopes, and origin of deep-sea carbonate at Site 438, 439, and 584; Inner slope of the Japan trench. Initial report of DSDP, LXXXVII. 669-678.
- Matsumoto, T., 1965. A monograph of the Collignoniceratidae from Hokkaido. *Mem Fac. Sci.Kyushu Univ.*, Ser. D, 16, 1-80.
- Mills, H. J., Hodges, C., Wilson, K., MacDonald, I. R. and Sobecky, P. A., 2003. Microbial diversity in sediments associated with surface-breaching gas hydrate mounds in the Gulf of Mexico. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 46, 39-52.
- 荻原成騎,2004. 冷湧水炭酸塩岩中の嫌気的メタン酸化を示すバイ オマーカー. 地球化学,38,45-55.
- 荻原成騎・重田康成, 2004. 稚内沖から採取された化学合成生物群 集化石を含む炭酸塩クラストのバイオマーカー組成. Res. Org. Geochem., 19, 21-30.

- 小畠郁夫・二上政夫, 1975. 北海道万字地域の白亜系, Bull. Natn. Sci. Mus. Ser. C (Geol.). 1, 93-110.
- Pancost, R. D., Hopmans, J. S., Sinninghe Damste, and The MEDINAUT Shipboard Scientific Party, 2001. Archaeal lipids in Mediterranean cold seep: Molecular proxies for anaerobic methane oxidation. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 65, 1611-1627.
- Paull, C. K., Chanton, J. P., Neumann, A. C., Coston, J. A., Martens, C. S. and Showers W., 1992. Indicators of methanederived carbonates and chemosynthetic organic carbon deposits: examples from Florida Escarpment. *Palaios*, 7, 361-375.
- Peckmann, J., Theil, V., Michaelis, W., Clari, P., Gaillard, C., Martire, I. and Reitner, J., 1999a. Cold seep deposit of Beauvoisin (Oxfordinan; Southeastern France) and Marmoto (Miocene; Northern Italy): Microbially induced authigenic carbonates. *Int. Journ. Earth. Sciences*, 88, 60-75.
- Peckmann, J., Theil, V., Michaelis, W., Clari, P., Gaillard, C., Martire, I. and Reitner, J., 1999b. Cold seep deposit of Beauvoisin (Oxfordinan; Southeastern France) and Marmoto (Miocene; Northern Italy): Microbially induced authigenic carbonates. *Int. Journ. Earth. Sciences*, 88, 60-75.
- Rigby, J. K. and Goedert, J. L., 1996. Fossil sponges from a localized cold-seep limestone in Oligocene rocks of Olympic Peninsula, Washington. J. Paleontol., 70, 900-908.
- Ritger, S., Carson, B. and Suess, E., 1987. Methane-derived authigenic carbonates formed by subduction-induced pore-water expulsion along the Oregon/Washington margin. *Geol. Soc. Am. Bull.*, 98, 147-156.
- Schouten, S., va der Maarel, M. J. E. C., huber, R. and Sinninghe Damste, J.S., 1997. 2, 6, 10, 15, 19-Pentamethylicosanes in *Methanolobus bombayensis*, a marine methanogenic archaeon, and in *Methanosarcina mazei*. Org. Geochem. 26, 409-414.
- Thiel, V., Peckmann, J., Richnow, H. H., Luth, U., Reitner, J. and Michelis W., 2001. Molecular signals for anaerobic methane oxidation in Black Sea seep carbonates and microbial mat. *Mar. Chem.*, **73**, 97-112.
- von Rad, U., Rosch, H., Berner, U., Geyh, M., Marchig, V. and Schulz, H., 1996. Authugenic carbonates derived from oxidized methane vented from Makran accretionary prism off Pakistan. *Marine Geology*, **136**, 55-77.
- Wallmann, K., Linke, P., Suess, E., Bohrmann, G., Sahling, H., Schluter, M., Dahlmann, A., Lammers, S., Greinert, J. and von Mirbach, N., 1997. Quantifying fluid flow, solute mixing, and biogeochemical turnover at cold vents of the eastern Aleutian subduction zone. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **61**, 5209-5219.
- Woese, C. R., Kandler, O. and Wheelis, M. L., 1990. Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 87, 4576-4579.

(2005年6月8日受付, 2005年8月6日受理)

