

## 研究論文

# 中性 pH に生息する *Leptothrix ochracea* の鉄濃集作用

佐藤 一博\*・田崎 和江\*\*

## 要 旨

鉄成分に富む水中には、鉄細菌が生息しており、黄褐色のバイオマットを形成している。本研究では、中性の地下水に生成した鉄のバイオマット中に一般的に生息する鉄細菌 *Leptothrix ochracea* について、電子顕微鏡観察から、鉄の濃集と鞘の形成過程について、以下の知見を得た。

- (1) 野外において、鉄の無機的な沈殿率は1.6、鉄細菌が関与する沈殿率は8.4であり、鉄細菌は無機沈殿の5倍以上の鉄を沈殿させる。
- (2) 生きている *L. ochracea* の代謝により短時間で鉄鞘が形成される。
- (3) UV-C 処理を行うことで、鉄細菌の細胞が死滅し、鉄バイオマットの形成が抑制される。
- (4) *L. ochracea* の鞘形成の初期段階は、菌体の周囲に網目状の繊維物質を形成する。繊維が太くなることでチューブ状の鞘が形成される。
- (5) 鉄細菌の代謝によって酸化された  $Fe^{3+}$  が繊維状多糖類に蓄積し、鉄と有機物の複合体からなる鞘を形成する。
- (6) 鞘表面に認められる水酸化鉄の微粒子は、無機化学的に酸化された水酸化鉄の粒子である。
- (7) 成熟した鞘は低結晶性の Ferrihydrite を形成する。

キーワード：鉄細菌, *Leptothrix ochracea*, バイオマット, 鉄鞘の形成

## 1. はじめに

地下水の湧出口、井戸管、法面や地すべり地帯の水抜き穴、水田土壌、温泉など鉄成分に富む水環境には、一般に鉄細菌が生息しており、バイオマット（微生物被膜）が形成される<sup>1-3)</sup>。このバイオマットは、研究分野によって、スケール、スライム、フロック、湯の花の名称で呼ばれており、管の閉塞や赤水化の原因になっている。一方、このバイオマットは水中から鉄、マンガン、ヒ素、カドミウム、鉛、銅などの重金属イオンを吸着することにより水を浄化する働きがある<sup>4,5)</sup>。

本研究では、特に、中性 pH 環境において鉄細菌

*Leptothrix ochracea* が水中から鉄を濃集する作用による鞘の形成プロセスと特徴を明らかにした。

なお、*L. ochracea* は多量の水酸化鉄に囲まれたチューブ状の鞘を形成し、そのほとんどは細胞が存在しない“空鞘”として観察される。また、*L. ochracea* は、Fe や Mn を酸化させる従属栄養菌として報告されているが、単離された例がなく、その生態や代謝機構には不明な点が多い<sup>6)</sup>。

## 2. 試料および実験方法

### 2.1 試 料

金沢大学角間キャンパス内の調整池に流入する浅海性の砂岩、泥岩からなる第四紀更新世大桑層

\*金沢大学大学院自然科学研究科（現・榎 INAX） Kazuhiro SATOU

\*\*金沢大学理学部地球学科 Kazue TAZAKI

2004年2月19日受付

2004年3月11日受理

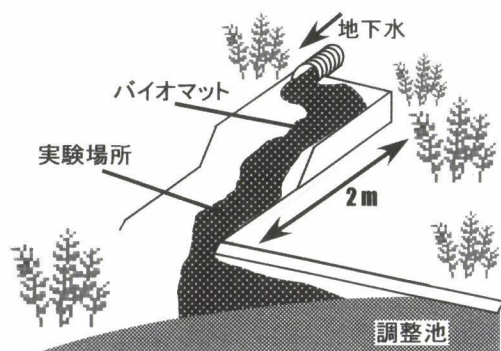


図-1 黄褐色バイオマット試料の採取地の模式図

から湧出する地下水と湧出口付近に発生するバイオマット<sup>2,3)</sup>を実験試料に用いた(図-1)。試料は、2003年7月～9月の3ヶ月間に採取し、現地において、水素イオン濃度(pH)、酸化還元電位(Eh)、溶存酸素(DO)を測定した。また、湧水の溶存イオン濃度は、原子吸光光度法(セイコー電子工業製SAS-727)により分析した。

バイオマット試料は、湧水と接する表層部分から採取し、DAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole)染色後、落射蛍光・微分干渉顕微鏡を用いて観察した。バイオマットの粉末試料はX線粉末回折分析(XRD:理学電気製,RINT2200型)により鉱物組成を同定した。また、その試料はエネルギー分散型蛍光X線分析装置(日本電子製JSM-3201)で化学組成を分析し、有機物の主要な元素であるN、C、Sの含有量はNCS元素分析装置(サーモクエスト社製,NA2500)で定量分析を行った。さらに、Feの含有量は原子吸光光度法により定量分析を行った。

バイオマットの微細組織や鉄細菌の観察および化学分析を透過型電子顕微鏡(TEM:Transmission Electron Microscope,日本電子製,JSM-2000EXおよびJSM-2010FEF)を用いて、加速電圧160~200 kVで行った。試料の元素分布図はSTEM-EDS(Scanning Transmission Electron Microscope - Energy Dispersion Spectrometer)法で、加速電圧200 kV、照射電流1.0 nA、デウエルタイム0.5 msec、スイープタイム50回で分析を行った。

## 2.2 野外における鉄沈殿量の比較実験

バイオマットが形成する現地において(写真1)、鉄細菌の有無による鉄沈殿量の比較実験を行った(表1)。実験は、鉄細菌を含む無処理の湧水(A)とフィルター除菌を行った湧水(B)を、それぞれ、ビーカーに100 mlを入れ、15分毎に、10 mlを交換した。この操作を10時間連続で行い、10時間後に形成した鉄の沈殿物を1 mol/lの硝酸で溶解させ、原子吸光光度法により分析した。なお、この実験において、ビーカー内に入った湧水の総量は $100 \text{ ml} + (10 \text{ ml} \times 4) \times 10 \text{ hrs} = 500 \text{ ml}$ である。500 ml中の溶存鉄(b)と形成した鉄沈殿量(a)から沈殿率(a/b)を求めた。

## 2.3 湧水を用いた batch culture による鉄沈殿の形成実験

現地で採取した湧水を実験室に持ち帰り、鉄の沈殿の様子を観察し、Feの含有量の分析を行った。鉄が沈殿する時の鉄細菌の役割を評価するため、下記の3種類の条件を設定した。

- (a) 鉄細菌を含む無処理の湧水
- (b) UV-C 殺菌処理のみを行った湧水
- (c) フィルターによる除菌処理およびUV-C

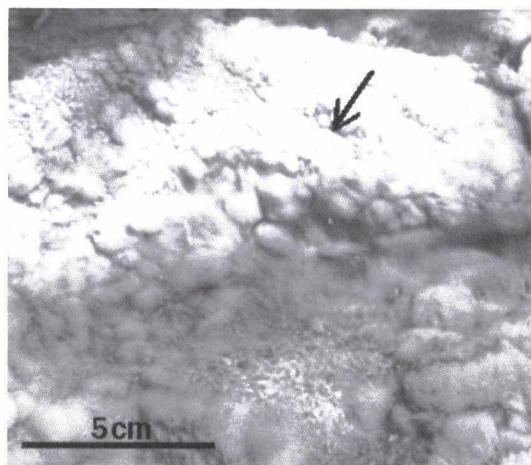


写真1 黄褐色バイオマットの現地での形態写真

表1 野外で行った鉄の沈殿量の比較

	ビーカー内の鉄沈殿		a. 沈殿量	b. 溶存鉄	沈殿率(a/b)
	0 hr.	10hrs.			
無処理の湧水(A)	0.14mg	0.30mg	0.16mg	1.95mg / 500ml	8.4
除菌した湧水(B)	0.00mg	0.03mg	0.03mg		1.6

### 殺菌処理を行った湧水

なお、湧水の除菌処理は0.22  $\mu\text{m}$  のメンブレンフィルターを用い吸引ろ過をした。また、UV-C 処理は、紫外線ランプ (NEC GL-15 : 15W) から25 cm離れた真下の位置に蓋を開けて設置し、照射時間は15分、1時間、および2時間の3種類である。また、湧水に含まれる溶存鉄の酸化を防ぐため、 $\text{CO}_2$  雰囲気下、室温 (約20 $^{\circ}\text{C}$ ) 環境下で測定を行った。約10時間毎に試料を採取し、溶存鉄の濃度が検出限界となるまでの48時間測定を行った。溶存鉄の分析は原子吸光光度法により測定した。また、1~2時間おきに *L. ochracea* の鞘の長さを光学顕微鏡を用いて計測し、約50個体の伸長速度を見積もった。さらに、*L. ochracea* の鞘の長さと同鞘中に存在する菌体の割合を求めた。

## 3. 結果

### 3.1 野外で形成するバイオマツト

#### 3.1.1 形成環境と構成物質

黄褐色バイオマツトは金沢大学角間キャンパスの調整池に認められ、湧水が流れている底質部分に形成している。現地の湧水は約30 l/minで湧出し、15 cm/secの流速で2 m下の調整池に流入する (図-1)。湧水のpHは6.5~7.0の中性、ORPは240~270mVで微酸化的、DOは4.5~4.8 mg/lで微好氣的であり、1 l中に鉄の球粒子 (直径約50nm) が1.4mg含まれている。湧水には  $\text{Ca}^{2+}$  が43.1mg/l、 $\text{Na}^{+}$  13.3mg/l、 $\text{Mg}^{2+}$  8.8mg/l、Total Fe 3.8mg/l、 $\text{K}^{+}$  2.1mg/l、 $\text{Mn}^{2+}$  1.8mg/lがそれぞれ溶存している。定量分析ではバイオマツト中にFeが45.8wt%含まれ、その有機物は約10wt%、残りの44wt%はOや微量元素のSi、P、Ca、Al、K、Ti、Mnである。なお、この有機物中には、Cが4.55wt%、Nが0.37wt%、Sが0.06wt%が含まれている。また、バイオマツトを構成する鉱物はFeを主成分とする低結晶性のFerrihydrite ( $5\text{Fe}_2\text{O}_5 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) であり、X線粉末回折により、2.55と1.49  $\text{\AA}$  にブロードな反射が認められた。

黄褐色のバイオマツト表面には平均直径1 cmのやわらかい凝集体が認められ、水流の速い部分ではその径が小さく、遅い部分では径が大きくなる

(写真1矢印)。よく発達した凝集体の表面は半透明のゲル状であり繊維が集まっている。その部分を検鏡すると、Bergy's Manual<sup>6)</sup>に報告されているようなチューブ状の *Leptothrix ochracea* (図-2 a)、ハープ状の *Gallionella ferruginea* (図-2 b)、螺旋状の *Toxothrix trichogenes* (図-2 c) が認められる。これら3種類の鉄細菌の中で、*L. ochracea* の鞘が優勢であり、しばしば、鞘の中には一列に並んだ桿菌 (3.0 $\times$ 1.0  $\mu\text{m}$ ) が観察される (図-2 a DAPI 染色)。一方、流れの速い部分のバイオマツトは赤褐色の粒子が密集しており、チューブ状、ハープ状、螺旋状の形態は鮮明ではない。

#### 3.1.2 野外での鉄沈殿量の比較

鉄細菌の有無による鉄沈殿量の比較実験を野外で行った結果を表1に示す。鉄細菌を含む無処理の湧水 (A) は実験開始から6時間後に綿菓子状の鉄沈殿物が認められたが、除菌した湧水 (B) は6時間後には変化が認められず、10時間後に

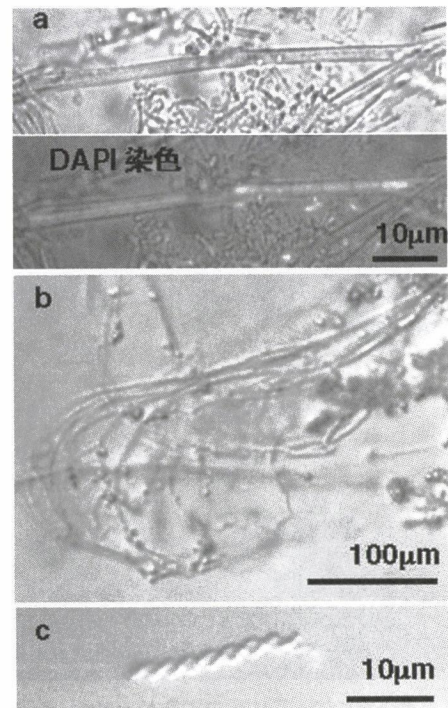


図-2 バイオマツトに認められる鉄細菌の光学顕微鏡写真  
a : チューブ状の鞘を持つ *L. ochracea*. DAPI 染色を施すと青色を呈し、鞘の内部に菌体が認められる。 b : ハープ状の形態を持つ *T. trichogenes*. c : 螺旋状の形態を持つ *G. ferruginea*.

ビーカー内の湧水が薄く褐色に懸濁しているのが目視できた。10時間後の鉄の沈殿量は湧水(A)が0.16mg, 湧水(B)が0.03mgあり, 沈殿率は, 各々8.4と1.6となる。すなわち, 鉄細菌が生息することで, 5倍以上の鉄沈殿物が形成されたことを示している。湧水に溶存する Total Fe は3.8ppmであるため, 500ml中の溶存鉄は1.95mgである。したがって, 沈殿率を求めると, 鉄細菌の生息する湧水(A)では8.4, 除菌した湧水(B)では1.6となる。

### 3.1.3 *L.ochracea* の鞘の形態

*L.ochracea* の鞘は, 鉄と有機物の複合体であり<sup>7)</sup>, 幅が1.0~1.5 $\mu\text{m}$ の直線的なチューブ状をなしている(図-2 a)。バイオマット中に認められる鞘は直径約50nmの水酸化鉄の粒子に覆われているものが多く, 鞘の表面から外側に向かって水酸化鉄の粒子が樹枝状の皮膜を形成している(図-3 a)。一方, 皮膜が存在しない鞘の表面には, 鞘の骨格となる有機物が露出し, 所々に球状の水酸化鉄が付着している(図-3 b 矢印)。

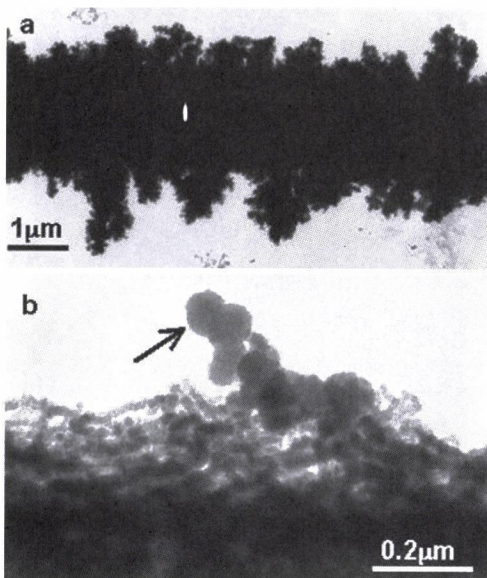


図-3 地下水の湧水口に形成する *L. ochracea* の鞘の TEM 写真

a : 鞘の周囲には球状の微粒子が樹枝状に形成している。b : 繊維状物質で構成される鞘の表面に, 50nmの鉄の微粒子が形成している(矢印)。

## 3.2 湧水を用いた batch culture で形成したバイオマット

### 3.2.1 鉄細菌の有無と死細胞による鉄沈殿との比較

湧水を実験室に持ち帰り,  $\text{CO}_2$  雰囲気下の閉鎖系で batch culture 実験を行ったところ, 無処理の湧水(a)は実験開始から一定の速度で溶存する鉄が減少し, 48時間後には, ほぼ検出限界以下まで減少した。一方, UV-C 処理をした湧水(b)とコントロールとしてフィルター処理と UV-C 処理をした湧水(c)の両者は, 連続的な溶存鉄の減少が認められなかった(図-4)。また, 湧水(a)は実験開始直後から次第に褐色を呈して懸濁し, 5時間後には褐色の綿菓子状の沈殿物が目視できた。しかし, 湧水(b)と(c)の溶液は実験の間, 常に無色透明であった。沈殿物の増加は水中の鉄濃度の減少と逆相関にあることから, 溶存鉄が綿菓子状の鉄沈殿物を形成したことになる。一方, 湧水(c)の鉄濃度が減少しないことは,  $\text{CO}_2$  雰囲気下で鉄の無機酸化が生じないことを示しており, また, 湧水(b)も溶存鉄が減少しないことから, UV-C 照射された死細胞や懸濁する鉄粒子では, 鉄の沈殿が起らないことを示している。すなわち, 鉄細菌を含む湧水(a)のみで, 連続的な鉄濃度の減少が生じたことは, 生きた鉄細菌により  $\text{Fe}^{2+}$  が酸化され, 鉄の沈殿物が形成されることを示している。

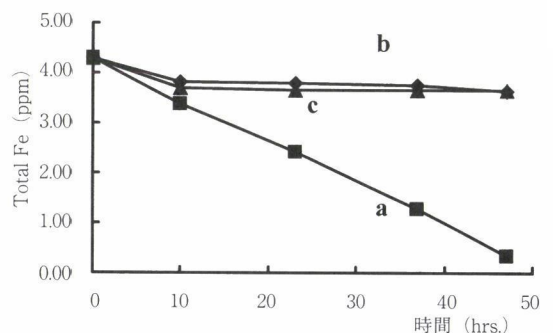


図-4 湧水を用いた batch culture による鉄沈殿量の比較実験結果

実験は  $\text{CO}_2$  雰囲気下で行った。■ (a) : 鉄細菌を含む無処理の湧水, ◆ (b) : UV-C 殺菌された湧水, ▲ (c) : コントロールとして0.22  $\mu\text{m}$  フィルターで除菌した後, UV-C 処理された湧水。無処理の湧水(a)が一番, 鉄の沈殿量が多いことを示している。

3.2.2 UV-C 処理された死細胞の鉄吸着能の評価

UV-C を 2 時間照射した試料を、48 時間 batch culture し、その細胞を TEM で観察した結果、細胞の 63% は、輪郭が不明瞭になったり、脱水によるダメージを受けていた (図-5)。一方、微生物の形態が完全に保持されているものは約 26% (図-5 a)、細胞の核部分が局所的にダメージを受けている菌体は約 7% (図-5 b)、さらに、明らかに細胞全体がダメージを受けている菌体は約 4% 認められた (図-5 c)。また、半数以上の細胞は、細胞の周囲や末端部に薄い繊維状の物質が認められた (図-5 矢印)。この繊維状物質は、ダメージを受けた細胞に多く認められる傾向がある。UV-C に照射された細胞には C と O が認められるが、Fe の含有量は微量である。一方、細胞

外の繊維状物質には O と Fe が認められる (図-6 矢印)。この結果は、UV-C 照射された細胞、すなわち死細胞への鉄の吸着は少ないことを示している。

3.2.3 *L. ochracea* の鉄鞘形成

3.2.3.1 鉄鞘の伸長速度

*L. ochracea* の鞘は、時間の経過とともに伸長し、8 時間後には約 300  $\mu\text{m}$  に達する (図-7)。なお、8 時間後にも短い鞘が認められることは、新しい個体が連続して生成していることを示している。一方、平均的な分布範囲から外れている長い鞘は、培養開始時に、すでに数十  $\mu\text{m}$  に達した *L. ochracea* の鞘が混入していたためと考えられる。そこで、1 時間あたりの鞘の伸長速度を見積もると約 40  $\mu\text{m}/\text{h}$  となる。また、1 菌体 (直

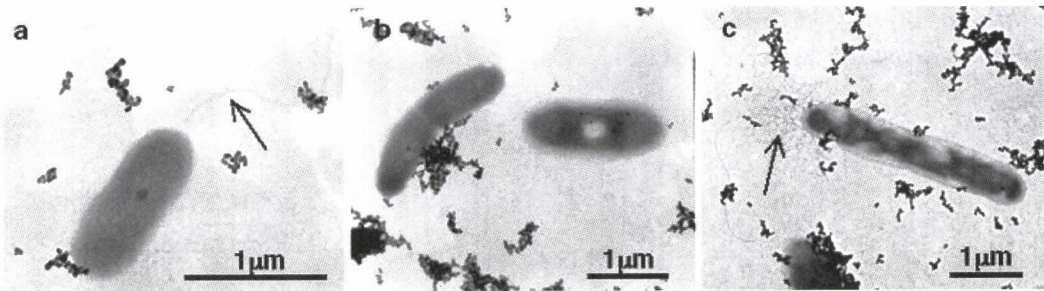


図-5 紫外線 (UV-C : 253.7nm) に 2 時間照射した微生物 (図-4 の b) の TEM 写真

半数以上の菌体の周囲や末端部に、薄い繊維状の物質が認められる (矢印)。細胞の周囲にある微粒子は、地下水に懸濁していた鉄の微粒子である。a : 約 26% の細胞が比較的良好に菌体が保持されている、b : 約 7% の細胞が中心部分にダメージを受けている、c : 約 4% の細胞が全体的にダメージを受けている。

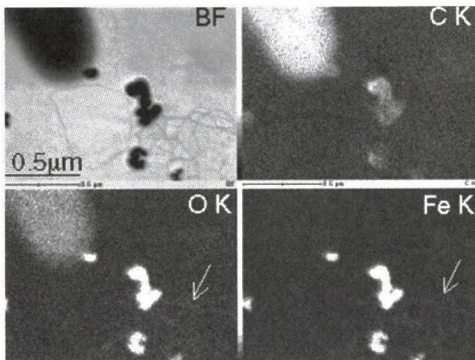


図-6 UV-C 処理された微生物の STEM-EDS 元素分布図

菌体に C と O の濃集が認められる。一方、菌体の周囲にある繊維状の物質には O と Fe の濃集が顕著である (矢印)。

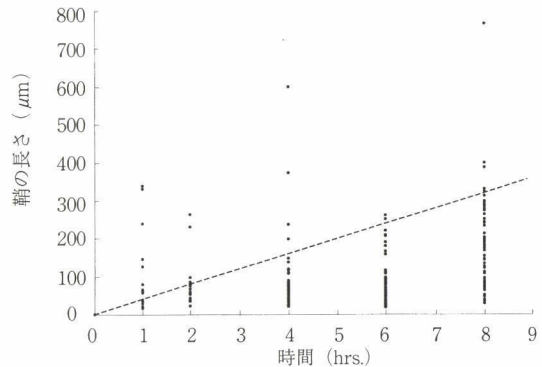


図-7 湧水を用いた batch culture (図-4 の a) で形成した *L. ochracea* の鞘の長さの経時変化  
伸長速度は約 40  $\mu\text{m}/\text{h}$  である (点線)。

径  $3 \mu\text{m}$  あたりの鞘の形成時間は約 5 分である。van Veen et al.<sup>7)</sup> は、*L. ochracea* の鞘の伸長速度を  $1 \sim 2 \mu\text{m}/\text{min}$  と報告しており、本研究で見積もられた値 ( $0.67 \mu\text{m}/\text{min}$ ) は、ほぼ半分である。

### 3.2.3.2 鉄鞘の形成過程

綿菓子状の鉄沈殿物中に認められる *L. ochracea* の鞘は、幅が  $1.0 \sim 1.5 \mu\text{m}$  であり、ほぼ直線的なチューブ状をなしている。その長さは個体ごとに異なり、最も長いものは数 mm のオーダーに及び、目視できる。

TEM による鞘の観察から、形成過程は次の 4 段階に分類できる (図-8)。一列に並んだ桿菌の周囲が繊維状物質に覆われる初期段階 (a)。なお、ここで、*L. ochracea* と同属の *Leptothrix discophra* は鞘形成の初期段階に繊維状の酸性多糖類を生成することが知られている<sup>8)</sup>。また、*Leptothrix* sp. と形態・生理機能が類似する *Sphaerotilus natans* は、鞘形成の初期段階に、織

維状の多糖類を細胞外に放出し、鞘を形成するという報告もある<sup>9)</sup>。すなわち、初期段階に観察される繊維状物質は菌体から放出されたと考えられる多糖類である。最も微細な繊維の幅は  $6 \text{ nm}$  である (図-8 a')。次の発達段階では繊維の幅は約  $20 \text{ nm}$  である (図-8 b')。さらに発達すると、繊維は幅  $30 \text{ nm}$  に達し、チューブ状の構造を作り、完全な鞘を形成する (図-8 c')。この段階では、鞘の中に 5 体以上の菌体が存在する 경우가多く、しばしば、34 体もの菌体が内蔵している場合もある。さらに、鞘の形成が進むと繊維の幅が  $30 \text{ nm}$  以上となり、中に菌体が存在しない「空鞘」が多くなる (図-8 d')。本研究の鉄沈殿物中で観察される鞘の 90% 以上は空鞘である。菌体を含む鞘は、初期段階で  $1 \sim 5\%$  しか認められないことから、1 菌体が多量の鞘を短時間で形成することを示している。

ここで、鞘形成の初期段階では、菌体の先端部分から、末端にかけて繊維が次々と作られる様子

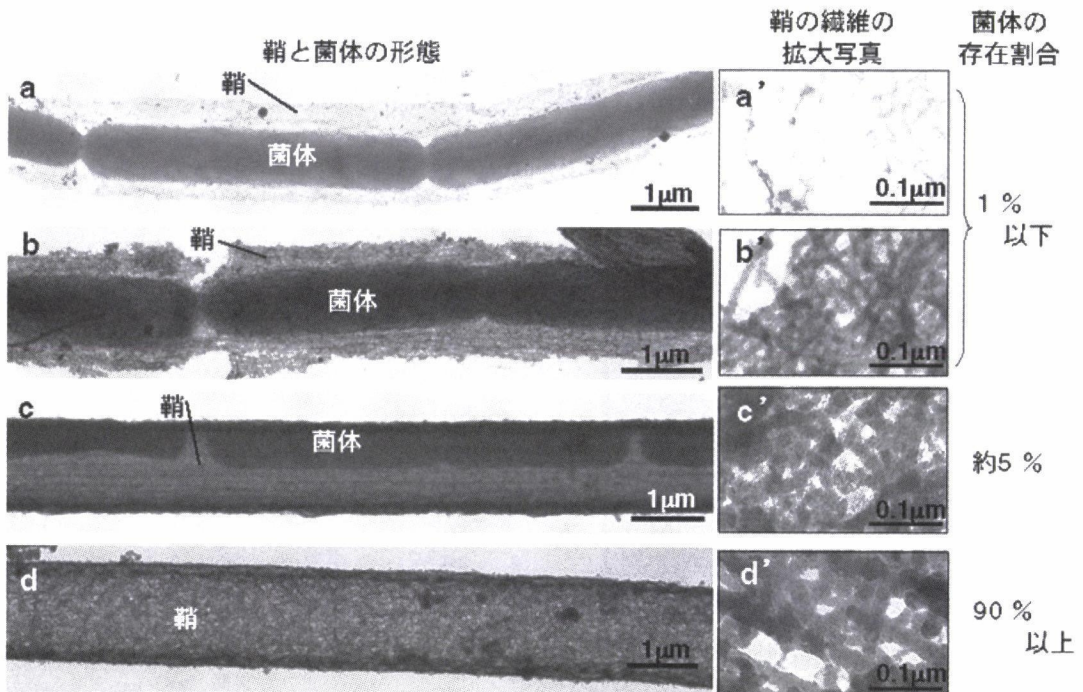


図-8 湧水を用いた batch culture (図-4の a) で生成した鉄沈殿物中の *L. ochracea* の TEM 写真  
菌体の存在と鞘の発達段階を示している (a~d)。a'~d' は、それぞれの段階の鞘を拡大した TEM 写真であり、繊維の幅が a から c に向かって  $6, 20, 30 \text{ nm}$  と太くなることを示している。また、鞘は C, O, Fe を含有する Ferrihydrite である。

が観察された。先端部分の菌体には、CとOの含有が認められるが、Feは認められない(図-9 a)。一方、末端部の菌体とその周囲を覆う繊維状多糖類を分析すると、FeとOの含有が認められ、鉄が濃集していることを示している(図-9 b)。なお、ここで、Cはバックグラウンドのカーボン支持膜にも検出されるため、繊維状多糖類のCとは区別できない。成熟した鞘は、O、Feを主成分とし、少量のC、Si、P、Cl、Caが認められる。また、この鞘は電子線回折により2.44 Åと1.43 Åにブロードなリングを示すことから、低結晶性のFerrihydrite ( $5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ )として鉄が固定されることを示している。

## 4. 考察

### 4.1 代謝による鉄鞘の形成

鉄バイオマットの形成は、鉄細菌の代謝の産物<sup>10)</sup>、細胞表面での-COOHや-OH、-NH<sub>2</sub>の官能基<sup>11)</sup>や多糖類への鉄の吸着<sup>12)</sup>などの要因が考えられてきた。しかし、本研究の湧水を用いたbatch culture実験から、生きた菌体、すなわち鉄細菌の代謝が連続的にFeの沈殿物を生産することが明らかになった。すなわち、鉄細菌の代謝によって、細胞外の繊維状多糖類に鉄が沈着し、

鉄鞘を形成する。

### 4.2 *L. ochracea* の鉄鞘形成過程

湧水を用いたbatch cultureで形成した鉄沈殿物中には*L. ochracea*の鉄と多糖類の複合体からなる鞘が豊富に認められ、それらは鉄細菌の代謝によって形成されたと考えられる(3.2.1参照)。1つの鞘の成長に要する時間は約5分と見積もられ、1菌体が48時間で形成する鞘の長さは約1728 μmとなる。通常、菌体は4個以上で存在することから、上記の値は、さらに大きなものとなる。バイオマット中で観察される鞘の90%以上が空鞘として認められる理由は、このように鞘の形成が5分という短時間に行われるためである。

*L. ochracea*の鞘の形成過程は、繊維状多糖類が構成物質の基本単位であり、それらが発達し、太くなることで、チューブ状の鞘を形成する(図-8 d)。鞘を構成する鉄はFe<sup>3+</sup>として存在し、Ferrihydriteとして鉱物化している。したがって、Fe<sup>2+</sup>からFe<sup>3+</sup>への酸化は、細胞膜表面もしくは細胞外の繊維状多糖類のどちらかで酸化されるはずである。それぞれの場合に対して可能な機構を以下に考察する

#### 4.2.1 細胞膜表面でのFeの酸化

*L. ochracea*がFe<sup>2+</sup> → Fe<sup>3+</sup> + e<sup>-</sup>の反応で鉄を

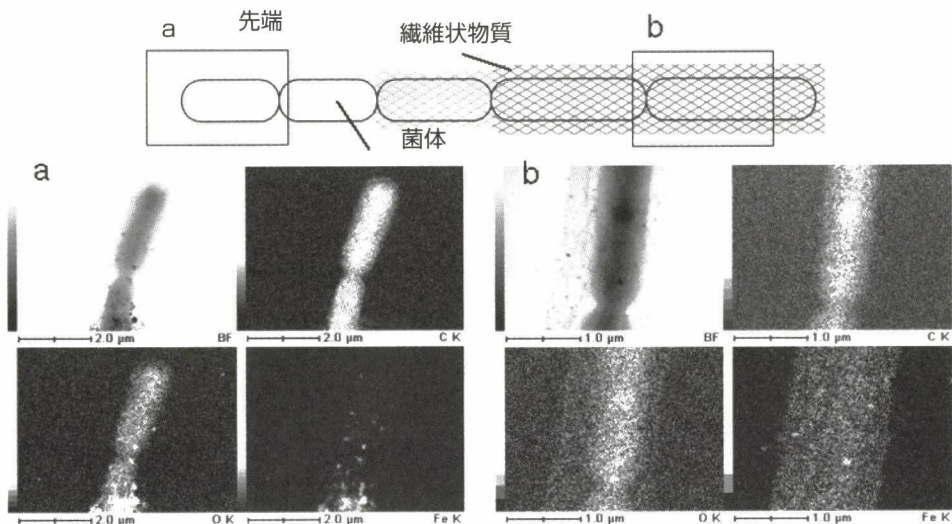


図-9 菌体と繊維状物質のSTEM-EDS元素分布図とその模式図

菌体の先端は短く、繊維状物質を形成していない。また、CとOは濃集しているが、Feは微量であることを示している(a)。発達した鞘の中の菌体と繊維状物質にはFeとOが含まれている(b)。

電子供与体とし、細胞膜表面の酸化還元酵素の働きにより、エネルギーを得る機構が考えられる。このような過程でFeの鉄酸化が起きているならば、生成物の $Fe^{3+}$ が細胞膜表面で沈殿するであろう。しかし、鞘の内側の菌体表面には鉄の沈着が生じておらず、酸化された $Fe^{3+}$ は細胞外の多糖類に固定されている(図-9)。Feの酸化をエネルギー源とすることが知られている*G. ferruginea*は、 $Fe^{2+}$ の酸化の結果、鉄に覆われた柄を形成し、排泄物として $Fe^{3+}$ を固定する機能があると考えられている<sup>13)</sup>。同様のことを*L. ochracea*にあてはめれば、酸化された $Fe^{3+}$ が、代謝の結果、細胞外の多糖類に排泄物として固定されると考えられる。言い換えれば、細胞外の繊維状多糖類の役割は、効率よく $Fe^{2+}$ を獲得するために、排泄物となった $Fe^{3+}$ を「鞘」という形に固定する機能を持っていることになる。

#### 4.2.2 細胞外の繊維状多糖類でのFeの酸化

細胞外多糖類中で $Fe^{2+}$ は $Fe^{3+}$ に酸化され、 $Fe^{3+}$ は多糖類を吸着体として沈着・濃集することで厚みを増し、鞘を形成する。この場合、Feの酸化はエネルギー源ではないことになる。Mn細菌として知られる同属の*L. discophra*は細胞外にMn酸化酵素を放出し、鞘にMnの酸化物を形成すること<sup>14)</sup>と一致する。しかし、Adams and Ghiorse<sup>14)</sup>によれば*L. discophra*のMnの酸化はエネルギー源としてではないと報告されている。

#### 4.3 無機酸化による鉄の濃集とバイオマットの発達

湧水に形成された*L. ochracea*の鞘(図-3)とその湧水を用いたbatch cultureで形成された鞘(図-8)を比較した結果、野外で形成される鞘の表面にのみ水酸化鉄の微粒子が観察された。大気に暴露している野外の湧水には、鉄の無機沈殿が形成されるのに対し(表1)、無機沈殿の起かないbatch cultureで形成された鞘には、水酸化鉄の微粒子はほとんど付着していない。さらに、鞘に付着する球状の粒子は、無機的に形成した鉄沈殿物と形態が一致するため、無機的な過程で形成したと考えられる。一方、鞘は鉄と多糖類の複合体で構成されるが、水酸化鉄の微粒子は比表面積が大きく、プラスの電荷を持っており<sup>15)</sup>、マイナスの電荷をもった酸性高分子化合物に凝集しや

すい性質を持つ<sup>8)</sup>。さらに、鞘の表面積が大きいことから<sup>16)</sup>、鉄の凝集作用が促進され、樹枝状皮膜を形成する(図-3)。

*L. ochracea*の鉄鞘の形成、そして無機酸化で形成された鉄粒子の凝集により、短時間で多量の鉄が濃集され、黄褐色のバイオマットが形成される。

### 5. まとめ

本研究において、中性pHに生息する鉄バクテリア*L. ochracea*の鉄濃集作用が電子顕微鏡観察により明らかにされた。

- (1) 野外において、鉄の無機的な沈殿率は1.6、鉄細菌が関与する沈殿率は8.6であり、鉄細菌は無機沈殿の5倍以上の鉄を沈殿させる。
- (2) 生きている鉄細菌の代謝により短時間で鉄鞘が形成される。
- (3) UV-C処理を行うことで、鉄細菌の細胞が死滅し、鉄バイオマットの形成が抑制される。
- (4) *L. ochracea*の鞘形成の初期段階で、菌体の周囲に網目状の繊維物質を形成する。繊維が太くなることでチューブ状の鞘が形成される。
- (5) 鉄細菌の代謝によって酸化された $Fe^{3+}$ が繊維状多糖類に蓄積され、鉄と有機物の複合体からなる鞘が形成される。
- (6) 鞘表面に認められる水酸化鉄の微粒子は、無機化学的に酸化された水酸化鉄の粒子である。
- (7) 成熟した鞘は低結晶性のFerrihydriteを形成する。

謝辞：本研究を行うにあたり、金沢大学理学部田崎研究室のゼミ生および、P.D.の皆様は大変お世話になり感謝申し上げます。なお、本研究の一部には文部省科学研究費補助金(代表、田崎和江)が使用された。

#### 参考文献

- 1) 丸山清輝, 安藤達弥, 飯田正巳: 湧水排除施設集水管の目詰まりに関する検討, J. of the Jpn. Landslide Soc., 39 (4), 23-29 (2003)
- 2) 田代陽子, 田崎和江: 水酸化鉄を主成分とするバイオマットの初期形成について, 地球科学, 53, 29~37 (1999)
- 3) 田崎和江, 朝田隆二, 池田頼正: 水面に短時間で発生する鉄生体鉱物の薄膜. 粘土科学, 42 (1), 21-36 (2002)



- 4) 八木正一：鉄バクテリアを利用した除鉄、除マンガン処理について、環境技術, **30** (12), 907-911 (2001)
- 5) 田崎和江, 松本和也, 赤井純治, 青木 渉, 朝田隆二, 加藤裕将, 大野源広, 四ヶ浦 弘, 俵 健二, 上島雅人, 渡辺弘明, 山本啓之：バイオマッポー身近な微生物がつかくる生体鉱物－金沢大学, 64p (1997)
- 6) Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 9, Williams & Wilkins, 441-447, 476-483, 498-499 (1994)
- 7) van Veen W.L., Mulder, E.G., Deinema M.H.: The *Sphaerotilus - Leptothrix* group of bacteria, *Microbiol. Rev.*, **42** (2), 329-356 (1978)
- 8) Ghiorse W.C.: Biology of iron- and manganese-depositing bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.*, **38**: 515-550 (1984)
- 9) Suzuki T., Kanagawa T., Kamagata Y.: Identification of a gene essential for sheathed structure formation in *Sphaerotilus natans*, a filamentous sheathed bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68** (1), 365-371 (2002)
- 10) Ehrlich, H.L.: Geomicrobiology of iron. In: Ehrlich, H.L. (Ed.), *Geomicrobiology*. Marcel Dekker, New York, pp. 312-388 (1996)
- 11) Stone, A.T.: Reaction of extracellular organic ligands with dissolved metal ions and mineral surfaces. In: Banfield, J.F., Nealson, K.H. (Ed.), *Geomicrobiology: Interactions between microbes and minerals*. Mineralogical Society of America, Washington, DC, pp. 309-344 (1997)
- 12) Kasama T., Murakami T.: The effect of microorganisms on Fe precipitation rates at neutral pH. *Chem. Geology*, **180**, 117-128 (2001)
- 13) Hallbeck L., Pedersen K.: Culture parameters regulating stalk formation and growth rate of *Gallionella ferruginea*. *J. Gen. Microbiol.*, **136**, 1675-1680 (1990)
- 14) Adams L.F., Ghiorse W.C.: Characterization of extracellular Mn<sup>2+</sup>-oxidizing activity and isolation of an Mn<sup>2+</sup>-oxidizing protein from *Leptothrix discophora* SS-1. *J. Bacteriology*, **169** (3), 1279-1285 (1987)
- 15) Jambor J.L., Dutrizac J.W.: Occurrence and constitution of natural and synthetic ferrihydrite, widespread iron oxyhydroxide. *Chem. Rev.*, **98**, 2549-2585 (1998)
- 16) Nelson Y.M., Lion L.W., Ghiorse W.C., Shuler M.L.: Production of biogenic Mn oxides by *Leptothrix discophora* SS-1 in a chemically defined growth medium and evaluation of their Pb adsorption. *Appl. Environ. Microbiol.*, **65** (1), 175-180 (1999)

### **Accumulation of Biogenic Iron Hydroxides by *Leptothrix ochracea* at Neutral pH**

Kazuhiro SATO, Kazue TAZAKI

#### ABSTRACT

Iron bacteria precipitate copious amounts of iron hydroxides in microbial mats normally inhabiting in iron-rich water. In this study, the following findings were made on accumulation of Fe and the formation of iron-sheath regarding *L. ochracea*, an iron bacterium which is one of the most common inhabitants of iron microbial mats at neutral pH collected from underground water, by an electron microscopic observation:

- (1) In a field experiment, the rate of inorganic precipitation is 1.6, and the rate of precipitation involving iron bacteria is 8.4, so that iron oxidizing bacteria are precipitating iron hydroxides in an amount five times or more of the inorganic precipitates.
- (2) By metabolic pathway of live *L. ochracea*, the iron sheath can be formed in a short time period.
- (3) UV-C treatment destroys the iron bacterial cells, thereby inhibiting the formation of iron-microbial mats.
- (4) At an early formation stage of iron-sheath of *L. ochracea*, a fine fibrous network structure is formed around the cell wall. The tubular sheath is composed of thickened fibrous materials.
- (5) By the metabolism of the iron bacterium, the oxidized Fe<sup>3+</sup> is accumulated in the fine fibrous polysaccharide, thereby forming a sheath made of a complex of iron and an organic substance.
- (6) The fine particles of iron hydroxide found on the surface of the sheath are particles of iron hydroxide oxidized inorganically.
- (7) The matured sheath fixes low-crystalline ferrihydrite minerals in microbial mats.

**Key Words** : iron-bacteria, *Leptothrix ochracea*, microbial mats, iron-sheath