

海洋性硫酸塩還元細菌の発育および硫化物 生成作用における水素受容体について*

畠 幸彦

Hydrogen Acceptors in Growth and Sulfide Formation of
Marine Sulfate-Reducing Bacteria[※]

By

Yoshihiko HATA

The present paper is concerned with the quality and the quantity of substances available as hydrogen acceptors in the sulfide formation and in the growth by marine sulfate-reducing bacteria (strain SM1).

The utilization of various sulfur compounds and the other compounds by these organisms was examined by observing the growth and the sulfide formation in the media containing the above substances respectively.

Sulfates and the other inorganic sulfur compounds originally contained in peptone and lactic acid which were employed as additions to the basal medium were removed by "Permutit A".

The results obtained are shown in Tables 1-3 and Figs. 1 and 2, and may be summarized as follows:

- 1) These organisms were able to utilize sulfate, sulfite, thiosulfate, tetrathionate and metabisulfite in the growth and the formation of hydrogen sulfide. Although elementary sulfur and dithionite enabled these organisms to grow slowly and to produce sulfide slightly, it could not be confirmed that these substances were utilized by these organisms as hydrogen acceptors in their energy yielding metabolism; these phenomena might be caused by the impurities accidentally contained in the test substances.
- 2) Neither sulfanilic acid, benzenesulfonate, toluenesulfonic acid, cystine, nitrate, nitrite, chromate, phosphate, hydroxylamine, malic acid nor fumaric acid were

* 水産講習所研究業績 第312号, 1960年6月23日 受理。

Contribution from the Shimonoseki College of Fisheries, No.312.

Received June 23, 1960.

utilized as hydrogen acceptors in the growth of these organisms. Pyruvic acid supported the limited growth of these organisms, but this growth might be due to the active impurities present in pyruvic acid.

- 3) The concentration of sulfate required for the initiation of growth of these organisms was very low (less than 2.8×10^{-4} M), and its concentration for supporting the maximum growth was also relatively low (5.6×10^{-3} M). On the other hand, the maximum sulfate-reducing activity was obtained at relatively high concentration of sulfate (higher than 1.4×10^{-2} M).

硫酸還元細菌は有機化合物分子中の水素原子あるいは水素ガスを硫酸塩などの水素受容体に伝達してこれを還元する。そして、この際の有機化合物の酸化 (heterotrophic) または水素ガスの酸化 (autotrophic) によってエネルギーを得る。すなわち、呼吸が酸素を最終水素受容体として H_2O をつくるのに対して、この細菌による硫酸塩還元は硫酸塩 (およびその他のイオウ化合物) を最終水素受容体として H_2S を生ずるものであって、おなじく無機物を水素受容体とするという点では形式上呼吸に近い。

海洋性硫酸塩還元細菌が発育に水素供与体として利用する化合物については既報¹⁾において述べたが、本報ではこの細菌が発育に水素受容体として利用する物質の種類を明らかにし、またこの細菌の発育ならびに硫化物生成作用におよぼす水素受容体としての硫酸塩の濃度の影響について検討した。

実験方法

- 供試菌株：代表的海洋性種である SMI^{2) 3)} の菌株を用いた。
- 基礎培地：既報³⁾においてこの細菌の発育をささえることが証明された最も簡単な人工海水培地から硫酸塩を除いたものであって、その組成は第1表のとおりである。この際、ペプトン、乳酸から微量の硫酸塩など水素受容体が導入されるのを防ぐため、既報³⁾で述べた方法にしたがい、これらをアニオン交換樹脂“Permutit A”のカラムを通して純化した。

Table 1. Composition of basal medium.

Peptone	2.0 g
Lactic acid	2.5
$(NH_4)_2HPO_4$	0.15
$FeCl_3 \cdot 4H_2O$	0.5
L-Ascorbic acid	0.2
NaCl	26.89
KCl	0.75
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	10.63
Distilled water	1,000 ml
pH	7.5

- 培地の滅菌：実験（1）では供試化合物の加熱による変化を避けるため、あらかじめ 15 ポンド 20 分間オートクレーブされた基礎培地に供試化合物を殺菌せずに加えた後 pH を修正した。実験（2）では培地調製後 15 ポンド 20 分間オートクレーブした。

4. 接種ならびに培養：海水液体培地に 30°C 2 日間前培養されたものを 2,500 r. p. m. 10 分で遠心集菌し、滅菌された 3.0 % 食塩水で 2 回洗滌再懸濁し、この懸濁液 10^{-4} ml を約 90 ml の被検培地に接種した。これに滅菌流動パラフィンを約 2 cm に重層して 30°C に保った。
5. 測定および定量：硫酸塩還元細菌数は semisolid 海水培地を用いて extinction dilution method²⁾により計数し、硫化物は富山・神崎の方法⁴⁾で水蒸気蒸溜し、ST. LORANT 法⁵⁾によってメチレンブルーとして 610 m μ で光電比色定量した。また硫酸塩は BaCl₂ を加えて BaSO₄ として懸濁させ⁶⁾ 660 m μ で比濁定量した。

実験結果

(1) 水素受容体として利用される化合物

この細菌が発育に水素受容体として利用する化合物の種類を明らかにするため、基礎培地に第 2 表のいろいろの種類のイオウ化合物またはその他の化合物を 2.7×10^{-2} M (海水中の硫酸塩量とほぼ等量) の濃度に加え、細菌数および硫化物生成量を測定した。供試化合物のうちテトラチオニ酸塩 ($S_4O_6^{4-}$) はチオ硫酸塩 ($S_2O_3^{2-}$) と I₂ から調製した。

その結果は第 2 表に示すとおり、無機イオウ化合物を加えたものではすべて発育ならびに硫化物の生成が

Table 2. The growth and the sulfide formation of marine sulfate-reducing bacteria (strain SM1) at 30°C in the media containing various substances as hydrogen acceptors. (Substances were added in the concentration of 2.7×10^{-2} M.)

Substance added	Incubation time (hrs.)			
	0		39	
	cells/ml	cells/ml	Sulfides-S mg/ml	cells/ml
Non (Control)	10^8 — 10^4	10^8 — 10^4	0	10^8 — 10^4
Sulfate Na ₂ SO ₄	〃	10^9 — 10^{10}	0.102	10^9 — 10^{10}
Sulfite Na ₂ SO ₃	〃	10^9 — 10^{10}	0.080	10^9 — 10^{10}
Thiosulfate Na ₃ S ₂ O ₃	〃	10^9 — 10^{10}	0.184	10^9 — 10^{10}
Tetrathionate Na ₂ S ₄ O ₆	〃	10^9 — 10^{10}	0.188	10^9 — 10^{10}
Dithionite (hydrosulfite) Na ₂ S ₂ O ₄	〃	10^8 — 10^4	0	10^2 — 10^3
Metabisulfite Na ₂ S ₂ O ₅	〃	10^8 — 10^9	0	10^9 — 10^{10}
Sulfur (powder) S	〃	10^6 — 10^7	0.010	10^7 — 10^8
Sulfanilic acid H ₂ NC ₆ H ₄ •SO ₃ H	〃	10^8 — 10^4	0	10^2 — 10^3
Benesenesulfonate C ₆ H ₅ SO ₂ Cl	〃	10^2 — 10^3	0	10^3 — 10^4
p-Toluenesulfonic acid CH ₃ •C ₆ H ₄ •SO ₃ H	〃	10^2 — 10^3	0	10^2 — 10^3
Cystine C ₆ H ₁₂ O ₄ N ₂ S ₂	〃	10^3 — 10^4	0	10^3 — 10^4
Nitrate NaNO ₃	〃	10^8 — 10^4	0	10^3 — 10^4
Nitrite NaNO ₂	〃	10^8 — 10^4	0	10^3 — 10^4
Chromate Na ₂ CrO ₄	〃	10^2 — 10^3	0	10 — 10^2
Phosphate Na ₃ PO ₄	〃	10^2 — 10^3	0	10^3 — 10^4
Hydroxylamine NH ₂ OH•HCl	〃	10^2 — 10^3	0	10^2 — 10^3
Pyruvic acid CH ₃ •CO•COOH	〃	10^6 — 10^7	0	10^5 — 10^6
DL-Malic acid HOOC•CH ₂ CH(OH)•COOH	〃	10^2 — 10^3	0	10^2 — 10^3
Fumaric acid HC•COOH=HOOC•CH	〃	10^3 — 10^4	0	10^2 — 10^3

Table 2. Continued.

Substance added	Incubation time (hrs.)					
	92		138		208	
	cells/ml	Sulfides-S mg/ml	cells/ml	Sulfides-S mg/ml	cells/ml	
None	10 ² —10 ³	0	—	10 ² —10 ³	0	0
Sulfate	—	0.122	—	—	—	—
Sulfite	—	0.194	—	—	—	—
Thiosulfate	—	0.126	—	—	—	—
Tetrathionate	—	0.136	—	—	—	—
Dithionite	10 ⁸ —10 ⁹	0.012	0.028	—	0.022	—
Metabisulfite	10 ⁸ —10 ⁹	0.050	0.038	—	0.009	—
Sulfur	10 ⁸ —10 ⁹	0.014	0.024	—	0.040	0.036
Sulfanilic acid	10 ³ —10 ⁴	0	0	10 ² —10 ³	0	—
Benesenesulfonate	10 ² —10 ³	0	0	10 ² —10 ³	0	—
p-Toluenesulfonic acid	10 ³ —10 ⁴	0	0	10—10 ²	0	—
Cystine	10 ² —10 ³	0	0	10 ² —10 ³	0	—
Nitrate	10 ³ —10 ⁴	0	0	10—10 ²	0	—
Nitrite	10—10 ²	0	0	10 ² —10 ³	0	—
Chromate	10—10 ²	0	0	0	0	—
Phosphate	10 ³ —10 ⁴	0	0	10 ² —10 ³	0	—
Hydroxylamine	10—10 ²	0	0	1—10	0	—
Pyruvic acid	10 ⁶ —10 ⁷	0	0	10 ⁵ —10 ⁶	0	—
DL-Malic acid	10—10 ²	0	0	10 ² —10 ³	0	—
Fumaric acid	10 ² —10 ³	0	0	10 ² —10 ³	0	—

みられたが、無添加の対照および有機イオウ化合物またはイオウを含まない化合物を加えた場合には、焦性ブドウ酸において微弱な発育がみられたのを除いては、全く発育がおこらなかった。すなわち、供試の無機なイオウ化合物は(イオウを含めて)すべてこの細菌に水素受容体として発育に利用され且つ還元されて硫化水素を生ずるが、有機イオウ化合物およびイオウを含まない化合物は水素受容体としてはおそらく利用されないようにみえる。焦性ブドウ酸においてわずかな発育がみられたのは、夾雜する不純物によるおそれがある。

これら可利用イオウ化合物のうち、発育ならびに硫化物生成速度が最も大きかったのはチオ硫酸塩($S_2O_3^{2-}$)およびテトラチオン酸塩($S_4O_6^{4-}$)であって、硫酸塩(SO_4^{2-})および亜硫酸塩(SO_3^{2-})はこれに次いだが、メタ重亜硫酸塩($S_2O_5^{2-}$)、イオウ(S)および亜ニチオン酸塩($S_2O_4^{2-}$)ではこの順序にしたがって発育がかなりおくれ、かつ硫化物最高蓄積量は甚だ低い値に止まった。発育が最もおそかった亜ニチオン酸塩については、試験されたpH(7.5)のもとでは徐々に分解されて SO_4^{2-} とSを生ずるので、あるいはこれらが水素受容体として利用されたのかも知れない。

(2) 発育ならびに硫化物生成作用におよぼす硫酸塩濃度の影響

硫酸塩欠除の基礎培地(第1表)にいろいろの濃度の $(NH_4)_2SO_4$ を加え、この細菌の発育ならびに硫化物生成作用におよぼす硫酸塩の濃度の影響をみた。

その結果は第3表ならびに第1、2図に示すとおり、 $SO_4^{2-} 2.8 \times 10^{-4} \sim 1.4 \times 10^{-1}$ g ions/L(天然海水中の濃度の約100～5倍)の範囲では十分な発育がおこったが、 2.8×10^{-1} g ions/L(海水中の約10倍)の濃度では全く発育がみられなかった。後者はおそらく高滲透圧のためであろう。またこの場合、無添加の対照でもわずかながら発育がみられたのは、基礎培地の処理による基質の除去が不十分であったためと思われる。

Table 3. Effect of sulfate concentration on the growth and the sulfide formation in marine sulfate-reducing bacteria (strain SM1) at 30°C.

Concentration of supplement $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (M)	$(\text{SO}_4^{--}-\text{S})$ mg/ml	Incubation time (hrs.)			
		0		22	43
		cells/ml	Sulfides-S mg/ml	cells/ml	Sulfides-S mg/ml
0	0	10^3-10^4	10^3-10^4	0	10^5-10^6
2.8×10^{-4}	(0.009)	"	10^7-10^8	0	10^8-10^9
1.4×10^{-3}	(0.045)	"	10^7-10^8	0	10^9-10^{10}
2.8×10^{-3}	(0.090)	"	10^8-10^9	0	10^9-10^{10}
5.6×10^{-3}	(0.179)	"	10^9-10^{10}	0.003	10^9-10^{10}
1.4×10^{-2}	(0.448)	"	10^8-10^9	0.004	10^9-10^{10}
* 2.8×10^{-2}	(0.896)	"	10^7-10^8	0.003	10^9-10^{10}
5.6×10^{-2}	(1.796)	"	10^7-10^8	0.002	10^9-10^{10}
1.4×10^{-1}	(4.480)	"	10^6-10^7	0	10^8-10^9
2.8×10^{-1}	(8.874)	"	10^2-10^5	0	1—10

* Comparable to the sulfate concentration in natural sea water.

Continued

Concentration of supplement $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (M)	$(\text{SO}_4^{--}-\text{S})$ mg/ml	Incubation time (hrs.)			
		70		115	
		cells/ml	Sulfides-S mg/ml	$\text{SO}_4^{--}-\text{S}$ mg/ml	cells/ml
0	0	10^5-10^6	0	0	0
2.8×10^{-4}	(0.009)	10^8-10^9	0.012	0	0.004
1.4×10^{-3}	(0.045)	10^9-10^{10}	0.044	0	0.034
2.8×10^{-3}	(0.090)	10^9-10^{10}	0.086	0	0.056
5.6×10^{-3}	(0.179)	10^9-10^{10}	0.144	0	0.098
1.4×10^{-2}	(0.448)	10^9-10^{10}	0.378	0	0.236
* 2.8×10^{-2}	(0.896)	10^9-10^{10}	0.224	0.608	0.222
5.6×10^{-2}	(1.796)	10^8-10^9	0.146	1.550	0.224
1.4×10^{-1}	(4.480)	10^9-10^{10}	0.102	4.292	0.158
2.8×10^{-1}	(8.874)	0	0	—	0

Continued

Concentration of supplement $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (M)	$(\text{SO}_4^{--}-\text{S})$ mg/ml	Incubation time (hrs.)			
		187		283	
		cells/ml	Sulfides-S mg/ml	$\text{SO}_4^{--}-\text{S}$ mg/ml	cells/ml
0	0	10^4-10^5	0	0	10^4-10^5
2.8×10^{-4}	(0.009)	10^7-10^8	0.003	0	10^7-10^8
1.4×10^{-3}	(0.045)	10^8-10^9	0.030	0	10^8-10^9
2.8×10^{-3}	(0.090)	10^9-10^{10}	0.044	0	10^9-10^{10}
5.6×10^{-3}	(0.179)	10^9-10^{10}	0.074	0	10^9-10^{10}
1.4×10^{-2}	(0.448)	10^8-10^9	0.110	0	10^8-10^9
* 2.8×10^{-2}	(0.896)	10^7-10^8	0.116	0.364	10^7-10^8
5.6×10^{-2}	(1.796)	10^9-10^{10}	0.194	1.334	10^8-10^9
1.4×10^{-1}	(4.480)	10^9-10^{10}	0.212	4.208	10^8-10^9
2.8×10^{-1}	(8.874)	0	0	—	0

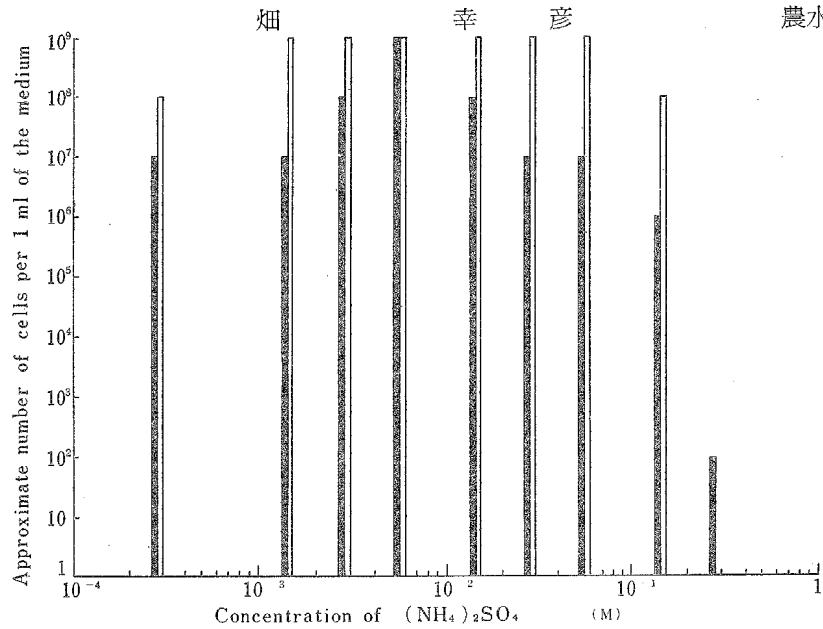


Fig. 1. Effect of sulfate concentration on the growth of marine sulfate-reducing bacteria (strain SM1) at 30°C. ■ : after 22 hrs.; □ : after 43 hrs.

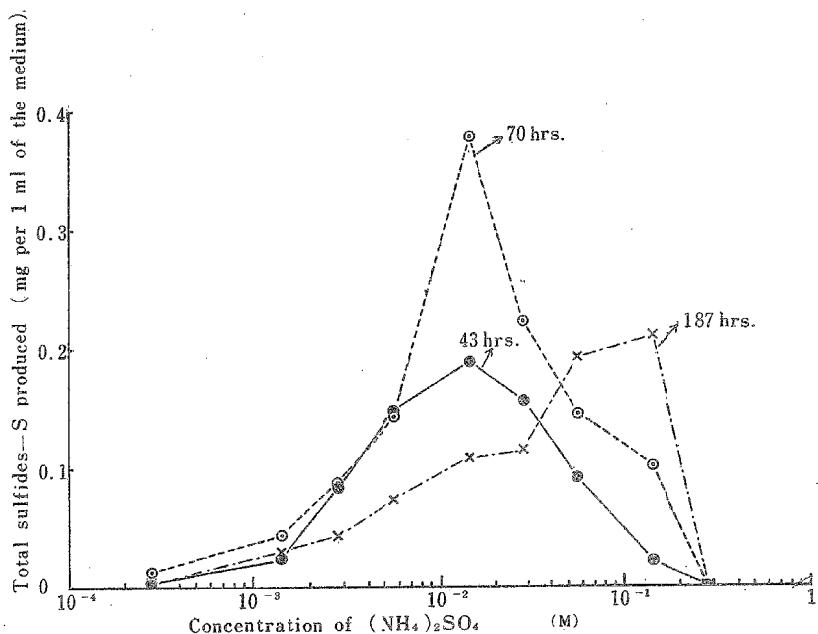


Fig. 2. Effect of sulfate concentration on the sulfide formation by marine sulfate-reducing bacteria (strain SM1) at 30°C.

そして、発育は $\text{SO}_4^{2-} 2.8 \times 10^{-3} \sim 1.4 \times 10^{-2}$ (最高 5.6×10^{-3}) g ions/L (海水中の約 $\frac{1}{10} \sim \frac{1}{5}$) 附近において最もすみやかにおこり、この濃度をはなれるほど緩慢であったが、 2.8×10^{-4} g ions/L (海水中の約 $\frac{1}{100}$) 程度の微量でもやがて十分な発育が得られた。一方、硫化物の生成は $5.6 \times 10^{-3} \sim 2.8 \times 10^{-2}$ (最高 1.4×10^{-2}) g ions/L で最もさかんであった。発育と硫化物生成の最適硫酸塩濃度が多少ずれたのは、発育には比較的低濃度の硫酸塩で十分であるが、硫化物生成には基質である硫酸塩の濃度が制限要因となることを示している。すなわち、 $\text{SO}_4^{2-} 1.4 \times 10^{-2}$ g ions/L 以下の比較的低濃度では初期のうちに SO_4^{2-} がほと

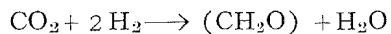
んど全く還元されてそれ以後の硫化物生成が止まったが、それより以上の SO_4^{2-} 濃度ではさらに還元がつづいて硫化物蓄積量が増大した。そのため後期における硫化物の蓄積量は(発育阻止範囲を除いては)最初の SO_4^{2-} 濃度が高いほど大きかった。

結局以上の結果から、この細菌の発育および硫酸塩還元作用自体に対する硫酸塩の至適濃度は比較的低いが、硫化物生産に対しては硫酸塩濃度が制限因子となるため、一般に高濃度の硫酸塩におけるほど硫化物の最終蓄積量は大きいことがわかった。

論 議

上の実験の結果、代表的海洋性種 SMT は発育において硫酸塩、亜硫酸塩、チオ硫酸塩、テトラチオ硫酸塩、メタ重亜硫酸塩、亜二チオ硫酸塩およびイオウなど無機イオウ化合物を水素受容体として利用することが明らかになった。このことは ZOBELL・RITTENBERG⁷⁾が海洋性種について、POSTGATE⁸⁾および石本・小山⁹⁾が淡水性種について、それぞれ認めた事実とほぼ一致する。また一方、この細菌の発育にはスルファニール酸、ベンゼンスルフォン酸、トルエンスルフォン酸、シスチンなど有機イオウ化合物、および硝酸塩、亜硝酸塩、クロム酸塩、ヒドロキシラミン、リンゴ酸、スマール酸などイオウを含まない化合物は唯一の水素受容体としては利用されなかったが、このことも上記研究者の得た結果と大体同様である。

しかし焦性ブドウ酸については、POSTGATE¹⁰⁾は halophilic および non-halophilic の数株の硫酸塩還元細菌がこれを唯一の水素受容体として十分発育できることを報告している。本研究においても海洋性種がこれをわずかに利用するようにみえたが、その低い利用性から、また試薬の純度から考えて早急には断言できない。また、GROSSMAN・POSTGATE¹¹⁾はスマール酸およびリンゴ酸が、SENEZ・PINCHINOTY・KONOVALTCHIKOFF-MAZOYER¹²⁾は硝酸塩およびヒドロキシラミンが、GENOVESE・PINCHINOTY・SENEZ¹³⁾はヒドロキシラミンが、それぞれ硫酸塩還元細菌の resting cell によって H_2 の存在下で還元されることを認めたが、海洋性種 SMT の resting cell においても同様のことがみられるかどうかを別の機会に追究したい。また SISLER・ZOBELL¹⁴⁾は、autotrophic な海洋性硫酸塩還元細菌が培養において次式にしたがい、 CO_2 あるいは HCO_3^- を水素受容体としてさかんに利用することを観察し、この (CH_2O)



であらわされる還元生成物は主として菌体の原形質であることを述べた。淡水性、海洋性を通じて硫酸塩還元細菌の多くは autotrophically に、あるいは有機物の存在下で分子状水素を利用する^{14) 15) 16) *}から、このことは極めて重大である。

しかしながら、天然の環境下で水質や泥質と関連して直接重要であるのは、硫酸塩など被還元性イオウ化合物の存在する場合についてである。ことに海洋において最も問題となるのは硫酸塩およびイオウであろう。後者については POSTGATE⁸⁾は、淡水性種の場合、純粋な elementary sulfur は利用されないが、colloidal sulfur はわずかながら利用されると述べている。本実験の結果では通常の粉末状イオウが緩慢ながら発育に利用され硫化物を生成することがみられたが、多くの未利用イオウが残存するにかかわらず還元がはなはだ僅かの程度で止まったことから考えると、あるいは夾雜するイオウの酸化物が利用されたためかも知れない。しかしいずれにしても、天然の、殊に海洋におけるイオウの利用性は硫酸塩の場合にくらべると甚だ微弱であろうと思われる。

つぎに、硫酸塩濃度と発育ならびに硫化物生成作用との関係について考察してみよう。この細菌の発育に対しては(その速度はいく分小さかったが) $2.8 \times 10^{-4}\text{M}$ (海水中における約 $1/100$) 程度の極めて微量の硫酸塩で十分満足されるようであり、またその至適濃度も比較的低かった ($2.8 \times 10^{-3} \sim 1.4 \times 10^{-2}\text{M}$; 海水中における $1/10 \sim 1/1$ 程度)。これらのこととは、POSTGATE⁸⁾が淡水性種の発育に対する硫酸塩の至適濃度は

* このことについては、別の機会にくわしく報告する。

$10^{-2}M$ であって、これ以下の濃度では発育が急激に低下することをみた事実とは異なり、ZOELL¹⁷⁾ が硫酸塩濃度 $10^{-3} \sim 10^{-2}M$ にわたって発育は弱められないと述べた結果に近い。そして、硫酸塩還元作用それ自体も初期においてはほぼ発育と平行したが、長時間後における硫化物の最終蓄積量は基質としての硫酸塩の濃度によって制限されるので、一般にその濃度の高いほど大きかった。

以上のこととは、さきに筆者が他の協同研究者とともに¹⁸⁾ 満潮時に海水の逆流する河川の底土中において、硫酸塩還元細菌の（淡水性種および海洋性種を含めての）総数は SO_4^{2-} 濃度とは相関せず、いずれの地点でも多数存在するが、硫化物量は SO_4^{2-} 濃度と比例することをみた事実をよく説明するものである。すなわち、この細菌の硫化物生成作用に対する SO_4^{2-} の有効濃度の最高限界は発育に対するその最高限界よりも極めて大きいことを示している。したがって、イオウ化合物以外の無機塩をはじめ、その他の栄養要求が満たされるかぎり、水界においてこの細菌の発育がイオウ化合物の濃度によって制限されることはほとんどあり得ないと思われるが、一方硫化物蓄積量は一般に可利用イオウ化合物の濃度に比例すると考えられる。

摘要

海洋性硫酸塩還元細菌の発育および硫化物生成作用における水素受容体についてしらべ、つぎの結果を得た。

1. この細菌は硫酸塩、亜硫酸塩、チオ硫酸塩、テトラチオン酸塩およびメタ重亜硫酸塩をそれぞれ唯一の水素受容体として発育し、これらを還元して硫化物を生成した。イオウまたは亜二チオン酸塩の場合でもわずかな発育と硫化物生成がみられたが、これらの利用性は夾雑物によるおそれがある。
2. 有機イオウ化合物およびイオウを含まない化合物のうち、焦性ブドウ酸を除いては、唯一の水素受容体として利用されるものは見出されなかった。焦性ブドウ酸の場合にも、その利用性は低く、夾雑物による可能性がある。
3. 硫酸塩を水素受容体とするとき、この細菌の発育に対する硫酸塩の必要濃度はきわめて低く、またその至適濃度も低かった。硫酸塩還元作用自体に対してもその至適濃度は低かったが、硫化物生産に対しては硫酸塩濃度が制限因子となるため、その最終蓄積量は概して硫酸塩濃度に比例した。

本研究にあたりご指導をいただいた京都大学農学部木俣正夫教授、ご指導ならびに本報のご校閲をいただいた同大学食糧科学研究所門田 元教授に厚くお礼申し上げる。また、硫化物定量法について有益なご助言をいただいた同大学農学部河合 章助教授、実験の遂行その他にご援助を得た井上美恵子嬢に深謝する。

文 献

- 1) 木俣正夫・門田 元・畠 幸彦, 1955: 日水会誌, **21**, 235—239.
- 2) 畠 幸彦, 1960: 本報告, **9**, 329—345.
- 3) _____, 1960: _____, **9**, 347—362.
- 4) 富山哲夫・神崎嘉瑞夫, 1951: 日水会誌, **17**, 115—121.
- 5) ST. LORANT I., 1929: Z. Physiol. Chem., **185**, 245.
- 田宮信雄, 1959: 化学の領域, 増刊 **34**, 1—2.
- 6) 三宅泰雄, 1949: “水質分析”, pp. 115—116. 小山書店, 東京.
- 7) ZOBELL C.E. and S.C. RITTENBERG, 1948: J. Marine Research, **7**, 602—617.
- 8) POSTGATE J. R., 1951: J. gen. Microbiol., **5**, 725—738.
- 9) 石本 真・小山次郎, 1953: 日化誌, **74**, 853—857.

- 石本 真・小山次郎, 1953 : 日化誌., **74**, 903—907.
- 10) POSTGATE J. R., 1952 : *Research*, **5**, 189—191.
- 11) GROSSMAN J. P. and J. R. POSTGATE, 1955 : *J. gen. Microbiol.*, **12**, 429—445.
- 12) SENEZ J.C., F. PINCHINOTY and M. KONOVALTCHIKOFF-MAZOYER, 1956 : *Comp. rend. Acad. Sci.*, **242**, 570—573.
- 13) GENOVESE S., F. PINCHINOTY and J.C. SENEZ, 1957 : *Peloritana Sci. Fisic. Matemat. e Nat.*, **3**, 303—319.
- 14) SISLER F. D. and C. E. ZOBELL, 1951 : *J. Bact.*, **62**, 117—127.
- 15) _____, 1950 : _____, **60**, 747—756.
- 16) BUTLIN K. R., M. E. ADAMS and M. THOMAS, 1949 : *J. gen. Microbiol.*, **3**, 46—59.
- 17) ZOBELL C. E., 1958 : Ecology of Sulfate Reducing Bacteria. *Producers Monthly*, **22**, 12—29.
- 18) 木俣正夫・門田 元・畠 幸彦・三好英夫, 1957 : 日水会誌., **22**, 701—707.
KIMATA M., H. KADOTA, Y. HATA and H. MIYOSHI, 1958 : *Records Oceanogr. Works Japan*, Special No. 2, 187—199.