

海洋性硫酸塩還元細菌におよぼす 重金属塩類の影響*

畑 幸 彦

Influence of Heavy Metals upon the Growth and the
Activity of Marine Sulfate-Reducing Bacteria*

By

Yoshihiko HATA

The author has previously shown, with the other workers in the research group of Kyōto University, that Fe^{2+} was essential for the growth of marine sulfate-reducing bacteria, and that the development of sulfides by these organisms was stimulated by Fe^{2+} and partly or completely inhibited by Mn^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} and Cu^{2+} .

The present paper embodies the more detailed data on the influence of heavy metals upon the growth and the sulfate-reducing activity of these bacteria.

Marine sulfate-reducing bacteria strain SM 1 was used throughout this work. Heavy metals originally contained in peptone and lactic acid employed were removed by use of the 8-hydroxyquinoline treatment.

The results obtained are shown in Tables 1—10, and may be summarized as follows :

- 1) Although in very low concentration (about 10^{-8} — 10^{-7} g atoms per L) Fe^{2+} was essentially required for the growth of these organisms. In the medium containing peptone and lactic acid which were not treated with 8-hydroxyquinoline, good growth was obtained without the addition of Fe^{2+} .
- 2) The growth and the sulfate-reducing activity of these bacteria were markedly stimulated by the addition of Fe^{2+} within certain limits. Fe^{2+} , iron powder or insoluble iron salts also exhibited stimulatory effect. This effect is probably due to the formation of Fe^{2+} from Fe^{3+} or iron metal in the culture.
- 3) When Bi, Co, Cr, Mn, Pb and Sb were present in the culture media sulfides

※ 水産講習所研究業績 第305号, 1960年2月11日 受理.
Contribution from the Shimonoseki College of Fisheries, No. 305.
Received Feb. 11, 1960.

were accumulated in higher concentration than in the absence of these metals, although the initial growth of the bacteria was considerable retarded as compared with the latter case. These results may suggest that the above metals acted not only as inhibitors of the bacterial growth, but also as precipitators of free H_2S produced. As has been mentioned previously, the removal of free H_2S by precipitation from the media has a favorable effect upon the sulfate-reducing activity of these bacteria.

- 4) The growth of these organisms were inhibited partly by Ni and Zn, and completely by Cd and Cu.
- 5) The remarkable antagonistic action of $Mn^{#}$ and $Cd^{#}$ upon the stimulatory effect of $Fe^{#}$ was observed in the growth of these organisms. The other metals also showed this action upon $Fe^{#}$ to some extent.

海洋性硫酸塩還元細菌の発育ならびに activity に対する塩分濃度の影響, および海水の塩分を構成する主なカチオンならびにアニオンの必要性などについては既報¹⁾において明らかにした。また, この細菌の発育に $Fe^{#}$ が必須不可欠であること²⁾ および多量の $Fe^{#}$ が存在すると遊離硫化水素による発育阻害が除かれること⁴⁾について述べ, $Mn^{#}$, $Zn^{#}$, $Co^{#}$ および $Cu^{#}$ の阻害的影響についても予備的に報告した。³⁾

本報では, これらを拡張して, $Fe^{#}$, $Mn^{#}$, $Zn^{#}$ をはじめ比較的原子量の大きい種々の金属のイオンおよびこれら金属の不溶性塩類がこの細菌の発育ならびに activity にどのような影響を与えるかについて更にくわしく検討した結果を述べる。

実験方法

1. 供試菌株: 海洋性硫酸塩還元細菌の代表的菌株である SM 1 を用いた。

Table 1. Composition of basal medium.

Peptone	2.0 g	
Lactic acid	2.5	
$(NH_4)_2HPO_4$	0.15	
L-Ascorbic acid	0.2	
NaCl	23.5	} Artificial sea water
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	10.6	
KCl	0.7	
Na_2SO_4	3.9	
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	1.5	
Distilled water	1,000 ml	
pH	7.5	

2. 基礎培地の調製: 既報²⁾における実験では, 第 1 表の基礎培地中のペプトンおよび乳酸をイオン交換樹脂 "Permutit H-70" (H-form) および "Permutit A" (OH-form) のカラムを通してイオン欠除としたが, 予備実験において, この方法では別に $Fe^{#}$ を加えなくても十分な発育が得られたのに対して, 下に述べる方法にしたがい 8-hydroxyquinoline (oxine) で処理した場合にはこれに $Fe^{#}$ を加えないと全

く発育しなかった。このことから、少なくとも Fe[#] の除去については“Permutit”処理では不十分であるが oxine 処理によれば十分であることが明らかになったので、本報ではすべて、WARING・WERKMAN⁵⁾の方法に準じてつぎのように処理した。

すなわち、基礎培地における2倍濃度のペプトン・乳酸溶液 (pH 7.0) 500 ml をあらかじめ15ポンド20分間オートクレープし、これに 8-hydroxyquinoline (oxine) の1%クロロフォルム溶液 30 ml を加え分液漏斗中で5分間はげしく振盪する。このとき微量に混在する Fe[#] などが oxine と反応して黒褐色に着色する。これを静置し oxine 溶液を下層に集めて捨てる。これを数回くり返して着色がおこらなくなれば、クロロフォルムのみを加えて同様の方法で数回洗滌し oxine を除く。このものを 80°C の湯浴上で約30分間はげしく通気してクロロフォルムを除く。以上の全操作を2回くり返す。

これに他の必要塩類を加え pH を修正した後、加熱による塩類の変化をできるだけ避けるためコッホ釜で30分間蒸気滅菌する。滅菌後、無菌的操作によって pH を再修正する。

3. 硫化物の定量：全硫化物の定量は富山・神崎の方法⁶⁾によったが、“free H₂S”はこの方法において塩酸酸性とせずそのまま(微アルカリ性)で水蒸気蒸溜した(したがって厳密な意味での free H₂S ではない)。また、Fe[#] など易還元性金属イオンを多量に含むサンプルについては、これらイオンによる H₂S の酸化のための誤差を防ぐ目的で、富山・小島の方法⁷⁾にしたがって粉末 Mg を加え H₂ の発生下で水蒸気蒸溜した。

4. 硫酸イオンの定量：塩化バリウム溶液を加えて硫酸バリウムとする重量分析法⁸⁾によった。その他の方法は、すべて既報²⁾で述べたと全く同様である。

実験結果

(1) Fe[#] の必要性ならびにその濃度の影響

この細菌の発育および硫化物生成作用に対する Fe[#] の影響については既報³⁾において予備的に明らかにしたが、つぎの実験でさらにくわしく追究した。

すなわち、第1表の組成から Fe(NH₄)₂(SO₄)₂・6H₂O を除いた基礎培地を、oxine で処理または処理しないペプトン、乳酸で調製し、これらに Fe(NH₄)₂(SO₄)₂・6H₂O を加えないで、あるいは加えてこの細菌を培養した。この場合、対照のため人工海水のかわりに天然海水で調製した培地についても行なった。その結果は第2表に示す通り、oxine で処理しなかった有機物を含む培地では Fe[#] を加えなく

Table 2. Effect of Fe[#] on the growth and the activity of sulfate-reducing bacteria strain SM 1 in the media prepared with natural or artificial sea water containing peptone and lactic acid which were preliminarily treated with 8-hydroxyquinoline (oxine) or not.

With or without oxine treatment	Sea water base	Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ ・6H ₂ O added (g/L)	Incubation time (hrs.)						
			24		47		64		112
			Cells/ml	Sulfides -S mg/ml	Cells/ml	Sulfides -S mg/ml	Cells/ml	Sulfides -S mg/ml	Sulfides -S mg/ml
Without	Artificial	0.2	10 ⁸ —10 ⁹	0.009	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.202	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.308	0.139
Without	Artificial	0	10 ² —10 ³	0	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.214	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.192	0.171
With	Artificial	0.2	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.035	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.348	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.208	0.141
With	Artificial	0	10 ² —10 ³	0	10 ² —10 ³	0	10 ² —10 ³	0	0
With	Natural	0.2	10 ⁸ —10 ⁹	0.029	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.316	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.288	0.207
With	Natural	0	10 ² —10 ³	0	10 ² —10 ³	0	10 ² —10 ³	0	0

ても十分発育したが、この場合の硫化物最高蓄積量は Fe^{2+} を加えた培地にくらべるとかなり少なかった。一方、oxine の処理を行なった有機物の培地では、人工海水の場合でもあるいは天然海水の場合でも Fe^{2+} を加えないと発育がおこらず、これを加えるとさかんな発育と硫化物の生成が示され両者間に大差がみられなかった。

以上の結果から、この細菌の発育には Fe^{2+} が必須不可欠であるが、未処理のペプトンまたは乳酸中にはこの要求を満たすのに十分な程度の Fe^{2+} が存在すると考えられる。一方、天然海水中にはこの要求を満たす程度の Fe^{2+} を含んでいないようにみえる。また、これら有機物は oxine 処理によって Fe^{2+} が除かれること以外にはこの細菌の発育に対して全く影響をおよぼさないことが明らかになったので、以下の実験では第1表の組成中の有機物をこの処理によってイオン欠除としたものを基礎培地とすることにした。

つぎに、 Fe^{2+} とこの細菌の発育および硫酸塩還元作用との関係をさらにくわしく調べるため、いろいろの濃度に $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ を加えて培養し、発育、硫化物蓄積量および硫酸塩還元量を経時的に測定した。硫酸塩還元量は残存する硫酸イオンの量から算出した。

その結果は第3表に示すように、 Fe^{2+} $10^{-7} \sim 10^{-2}$ g atoms/L の範囲内で発育したが、 10^{-8} g atoms/L 以下および 10^{-1} g atoms/L では全く発育がみられなかった。そして発育速度、硫化物最高蓄積量および硫酸塩還元総量は発育可能範囲内ではいずれも Fe^{2+} の濃度とほぼ比例し、また長時間培養後の死滅期における生菌数は Fe^{2+} 濃度の高いものにおけるほど多かった。 Fe^{2+} によるこれら促進作用は、既報(4)において述べたように遊離硫化水素が Fe^{2+} と反応して不溶性硫化鉄となるためこれによる発育阻害が除かれることが主な原因であると考えられるが、“free H_2S ” が同程度に存在するときにも一般に Fe^{2+} が高濃度であるほど促進作用が著しかったことから、その一部は Fe^{2+} 自体のせいに帰せられよう。また、 Fe^{2+} 10^{-1} g atoms/L では全く発育しなかったが、これと当量の $FeCl_2$ または $(NH_4)_2SO_4$ によっても同様の阻害がみられたことから、これは高濃度の Fe^{2+} によるためか、あるいは高濃度の NH_4^+ 、 SO_4^{2-} または高浸透圧によるためかは明らかでない。

Table 3. Response of sulfate-reducing bacteria strain S M 1 to Fe^{2+} .

Added to basal medium (M)			Incubation time (hrs.)						
			21		40			68	
$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$	$FeCl_2$	$(NH_4)_2SO_4$	Cells/ml	"Free H_2S " -S; Insoluble sulfides-S mg/ml	Cells/ml	"Free H_2S " -S; Insoluble sulfides-S mg/ml	Reduced* sulfate-S mg/ml	Cells/ml	"Free H_2S " -S; Insoluble sulfides-S mg/ml
0	0	2×10^{-2}	$10^2 - 10^3$	0	$10 - 10^2$	0	0	$10 - 10^2$	0
10^{-9}	0	2×10^{-2}	$10 - 10^2$	0	$10^2 - 10^3$	0	0	$10 - 10^2$	0
10^{-8}	0	2×10^{-2}	$10^2 - 10^3$	0	$10 - 10^2$	0	0	$10 - 10^2$	0
10^{-7}	0	2×10^{-2}	$10^2 - 10^3$	0	$10^8 - 10^9$	0	0	$10^9 - 10^{10}$	0.024 ; 0
10^{-6}	0	2×10^{-2}	$10^7 - 10^8$	0	$10^9 - 10^{10}$	0.087 ; 0	0.094	$10^9 - 10^{10}$	0.144 ; 0.013
10^{-5}	0	2×10^{-2}	$10^7 - 10^8$	0	$10^9 - 10^{10}$	0.212 ; 0.011	0.224	$10^9 - 10^{10}$	0.265 ; 0.017
10^{-4}	0	2×10^{-2}	$10^8 - 10^9$	0.020 ; 0.005	$10^9 - 10^{10}$	0.232 ; 0.018	0.280	$10^9 - 10^{10}$	0.256 ; 0.016
10^{-3}	0	2×10^{-2}	$10^9 - 10^{10}$	0.013 ; 0.042	$10^9 - 10^{10}$	0.160 ; 0.068	0.235	$10^9 - 10^{10}$	0.265 ; 0.071
10^{-2}	0	0	$10^8 - 10^9$	0.012 ; 0.009	$10^9 - 10^{10}$	0.026 ; 0.182	0.215	$10^9 - 10^{10}$	0.053 ; 0.297
10^{-1}	0	0	$10 - 10^2$	0	$10^2 - 10^3$	0	0	$10 - 10^2$	0
10^{-3}	0	2×10^{-1}	$10^2 - 10^3$	0	$10 - 10^2$	0	0	1 - 10	0
0	10^{-1}	0	$10^2 - 10^3$	0	$10^2 - 10^3$	0	0	$10 - 10^2$	0

Incubation time (hrs.)								
92			164			236		
Cells/ml	"Free H ₂ S" -S; Insoluble sulfides-S mg/ml	Reduced sulfate-S mg/ml	Cells/ml	"Free H ₂ S" -S; Insoluble sulfides-S mg/ml	Reduced sulfate-S mg/ml	Cells/ml	"Free H ₂ S" -S; Insoluble sulfides-S mg/ml	Reduced sulfate-S mg/ml
10 ⁻¹⁰	0	0	1-10	0	0	0	0	0
1-10	0	0	1-10	0	0	0	0	0
1-10	0	0	1-10	0	0	0	0	0
10 ⁸ -10 ⁹	—	—	10 ⁵ -10 ⁶	0.022 ; 0.012	0.057	10 ³ -10 ⁴	0.029 ; 0.010	0.065
10 ⁹ -10 ¹⁰	0.131 ; 0.007	0.325	10 ⁶ -10 ⁷	0.012 ; 0.072	0.354	10 ³ -10 ⁴	0.064 ; 0.011	0.374
10 ⁹ -10 ¹⁰	0.228 ; 0.014	0.370	10 ⁵ -10 ⁶	0.108 ; 0.014	0.479	10 ³ -10 ⁴	0.013 ; 0.072	0.509
10 ⁹ -10 ¹⁰	0.188 ; 0.021	0.402	10 ⁵ -10 ⁶	0.060 ; 0.016	0.526	10 ⁵ -10 ⁶	0.072 ; 0.020	0.554
10 ⁹ -10 ¹⁰	0.178 ; 0.065	0.477	10 ⁷ -10 ⁸	0.095 ; 0.011	0.600	10 ⁵ -10 ⁶	0.079 ; 0.017	0.638
10 ⁹ -10 ¹⁰	0.071 ; 0.882	1.228	10 ⁹ -10 ¹⁰	0.207 ; 0.901	1.248	10 ⁹ -10 ¹⁰	0.017 ; 0.214	1.281
1-10	0	0	0	0	0	0	0	0
1-10	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ⁻¹⁰	0	0	1-10	0	0	0	0	0

* Calculated from the amount of SO₄²⁻ remained in the culture medium.

(2) Fe[#] が存在しない場合における他の金属イオンの影響

上の実験で、この細菌の発育には Fe[#] が不可欠であることが示されたが、これの必要性を他の金属イオンで代用できるか否かをみるため、第4表に示すいろいろの金属塩類を 10⁻³ M の濃度に加えて培養した。

Table 4. Response of sulfate-reducing bacteria strain SM 1 to Bi[#], Cd[#], Co[#], Cr[#], Cu[#], Fe[#], Mn[#], Ni[#], Pb[#], Sb[#] or Zn[#] in the absence of Fe[#]. (These metallic ions were added in the concentration of 10⁻³g atoms per L.)

Salt added	Incubation time (hrs.)				
	88		182		
	Cells/ml	Sulfides-S mg/ml	Cells/ml	Sulfides-S mg/ml	Reduced sulfate-S mg/ml
Non	no growth		no growth		
Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ · 6H ₂ O	10 ⁹ -10 ¹⁰	0.228	10 ⁹ -10 ¹⁰	0.112	0.514
* BiCl ₃	10 ⁸ -10 ⁹	0.081	10 ⁸ -10 ⁹	0.066	0.283
CdSO ₄ · 2H ₂ O	no growth		no growth		
CoSO ₄ · 7H ₂ O	no growth		no growth		
CrK(SO ₄) ₂ · 12H ₂ O	no growth		no growth		
CuSO ₄ · 5H ₂ O	no growth		no growth		
FeNH ₄ (SO ₄) ₂ · 12H ₂ O	10 ⁹ -10 ¹⁰	0.236	10 ⁸ -10 ⁹	0.166	0.640
MnSO ₄ · 7H ₂ O	no growth		no growth		
NiSO ₄ · 7H ₂ O	no growth		no growth		
PbCl ₂	no growth		no growth		
SbCl ₃	no growth		no growth		
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	no growth		no growth		

* Sulfide formed was not completely detected by means of the analytical method employed.

その結果、Fe[#] 以外では Bi[#] および Fe[#] のみにおいては十分な発育と activity が示されたが、その他のイオンでは全く発育がおこらなかった。しかし、B[#] および Fe[#] が真に Fe[#] の代用となり得たのか否かははなはだ疑問である。すなわち、これらの塩類には微量の Fe[#] が夾雑物として混在する可能性が高いので、おそらく試薬が不純であったためと考えるのが妥当であろう。ことに Fe[#] については、培地の初期 Eh が低いため部分的な Fe[#] への還元がおこり、発育および硫化物生成にともなって一層この傾向がよめられ Fe[#] と同様の著しい促進作用があらわれたものと思われる。

結局、おそらく Fe[#] の必要性は他のイオンによっては代用され得ないと考えられる。

(3) Fe[#] が微量に存在する場合における他の金属イオンの影響

上に述べたように、比較的高濃度の Fe[#] による発育ならびに硫酸塩還元に対する促進作用の主な原因は、free H₂S を不溶性 FeS として沈澱させるためこれによる阻害が除かれることにあると考えられるが、このことから、一般に H₂S と反応して不溶性硫化物をつくるその他の金属イオンにも同様の促進作用があるかも知れないと思われる。この点をたしかめるため、Fe[#] がこの細菌の発育をささえ得る程度の微量に存在するときにおける、これら金属イオンの影響をしらべた。その結果は第5および6表に示す通りである。

Table 5. Effects of Bi[#], Cd[#], Co[#], Cr[#], Fe[#], Mn[#], Ni[#], Pb[#], Sb[#] or Zn[#] in various concentrations on the growth and the activity of sulfate-reducing bacteria strain SM1 in the presence of Fe[#] in the concentration of 10⁻⁶g atoms per L. (Fe[#] was provided as Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ · 6H₂O.)

Salt added (M)	Incubation time (hrs.)				
	57		157		
	Cells/ml	Sulfides-S mg/ml	Cells/ml	Sulfides-S mg/ml	
Non (Basal medium only) (NH ₄) ₂ SO ₄ 10 ⁻²	10 ⁸ —10 ⁹	0.114	10 ⁷ —10 ⁸	0.079	
	10 ⁷ —10 ⁸	0.107	10 ⁷ —10 ⁸	0.090	
Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂	10 ⁻⁴	10 ⁷ —10 ⁸	0.101	10 ⁸ —10 ⁹	0.205
	10 ⁻³	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.288	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.264
	10 ⁻²	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.374	10 ⁸ —10 ⁹	0.331
* BiCl ₃	10 ⁻⁴	10 ⁸ —10 ⁹	0.155	10 ⁸ —10 ⁹	0.094
	10 ⁻³	10 ⁷ —10 ⁸	0.245	10 ⁸ —10 ⁹	0.119
	10 ⁻²	10 ⁸ —10 ⁹	0.228	10 ⁷ —10 ⁸	0.185
CdSO ₄ · 2H ₂ O	10 ⁻⁴	10 ² —10 ³	0	0	0
	10 ⁻³	1 —10	0	0	0
	10 ⁻²	1 —10	0	0	0
CoSO ₄ · 7H ₂ O	10 ⁻⁴	10 ⁸ —10 ⁹	0.146	10 ⁸ —10 ⁹	0.148
	10 ⁻³	0	0	0	0
	10 ⁻²	0	0	0	0
CrK(SO ₄) ₂ · 12H ₂ O	10 ⁻⁴	10 ⁷ —10 ⁸	0.132	10 ⁷ —10 ⁸	0.064
	10 ⁻³	10 ⁴ —10 ⁵	0	10 ⁷ —10 ⁸	0.055
	10 ⁻²	10 ³ —10 ⁴	0	0	0
CuSO ₄ · 5H ₂ O	10 ⁻⁴	0	0	0	0
	10 ⁻³	0	0	0	0
	10 ⁻²	0	0	0	0
Fe NH ₄ (SO ₄) ₂ · 12H ₂ O	10 ⁻⁴	10 ⁸ —10 ⁹	0.154	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.192
	10 ⁻³	10 ⁸ —10 ⁹	0.242	10 ⁸ —10 ⁹	0.228
	10 ⁻²	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.409	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.320

MnSO ₄ · 7H ₂ O	10 ⁻⁴	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.017	10 ⁷ —10 ⁸	0.098
	10 ⁻³	10 ⁸ —10 ⁹	0.123	10 ⁷ —10 ⁸	0.094
	10 ⁻²	10 ⁴ —10 ⁵	0	0	0
* NiSO ₄ · 7H ₂ O	10 ⁻⁴	10 ⁴ —10 ⁵	0	10 ⁷ —10 ⁸	0.14
	10 ⁻³	10 ³ —10 ⁴	0	0	0
	10 ⁻²	10 ³ —10 ⁴	0	0	0
PbCl ₂	10 ⁻⁴	10 ⁴ —10 ⁵	0	10 ⁶ —10 ⁷	0.053
	10 ⁻³	0	0	0	0
	10 ⁻²	0	0	0	0
SbCl ₃	10 ⁻⁴	10 ³ —10 ⁴	0	0	0
	10 ⁻³	10 ⁴ —10 ⁵	0	0	0
	10 ⁻²	10 ³ —10 ⁴	0	0	0
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	10 ⁻⁴	0	0	0	C
	10 ⁻³	0	0	0	C
	10 ⁻²	0	0	0	C

* Sulfides formed were not completely detected by means of the analytical method employed.

Table 6. Effects of various ions on the growth and the activity of sulfate-reducing bacteria strain SM 1 in the presence of Fe[#] in the concentration of 10⁻⁴g atoms per L. (Basal medium contained Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ in the concentration of 10⁻⁴M.)

Salt added (M)	Incubation time (hrs.)									
	30		43		110		182			
	Cells/ml	Sulfides -S mg/ml	Cells/ml	Sulfides -S mg/ml	Cells/ml	Sulfides -S mg/ml	Cells/ml	Sulfides -S mg/ml	Reduced Sulfate -S mg/ml	
Non (Basal medium only) (NH ₄) ₂ SO ₄	10 ⁻²	10 ⁷ —10 ⁸	0.129	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.302	—	0.178	10 ⁶ —10 ⁷	0.085	0.380
	10 ⁻³	10 ⁶ —10 ⁷	0.093	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.223	—	0.152	10 ⁷ —10 ⁸	0.109	0.357
Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ · 6H ₂ O	10 ⁻⁴	10 ⁷ —10 ⁸	0.108	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.295	—	0.166	10 ⁶ —10 ⁷	0.179	0.281
	10 ⁻³	10 ⁷ —10 ⁸	0.154	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.318	—	0.197	10 ⁸ —10 ⁹	0.201	0.384
	10 ⁻²	10 ⁶ —10 ⁷	0.132	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.314	—	0.346	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.329	0.584
*BiCl ₃	10 ⁻⁴	10 ⁶ —10 ⁷	0.119	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.320	—	0.152	10 ⁷ —10 ⁸	0.058	—
	10 ⁻³	10 ⁵ —10 ⁶	0.077	10 ⁸ —10 ⁹	0.229	—	0.189	10 ⁷ —10 ⁸	0.096	0.406
	10 ⁻²	10 ⁵ —10 ⁶	0.102	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.330	—	0.254	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.067	0.366
CdSO ₄ · 2H ₂ O	10 ⁻⁴	10 ² —10 ³	0	10 ² —10 ³	0	—	0	0	0	0
	10 ⁻³	10 ³ —10 ⁴	0	10 ¹ —10 ²	0	—	0	0	0	0
	10 ⁻²	10 ² —10 ³	0	10 ¹ —10 ²	0	—	0	0	0	0
CoSO ₄ · 7H ₂ O	10 ⁻⁴	10 ⁶ —10 ⁷	0.074	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.282	—	0.246	10 ⁷ —10 ⁸	0.033	0.401
	10 ⁻³	10 ⁴ —10 ⁵	0.022	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.188	—	0.164	10 ⁷ —10 ⁸	0.041	0.480
	10 ⁻²	10 ³ —10 ⁴	0	10 ² —10 ³	0	—	0	0	0	0
CrK(SO ₄) ₂ · 12H ₂ O	10 ⁻⁴	10 ⁷ —10 ⁸	0.090	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.270	—	0.202	10 ⁸ —10 ⁹	0.089	0.377
	10 ⁻³	10 ² —10 ³	0	10 ⁴ —10 ⁵	0	10 ⁸ —10 ⁹	0.224	10 ⁸ —10 ⁹	0.140	0.362
	10 ⁻²	10 ³ —10 ⁴	0	10 ³ —10 ⁴	0	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.252	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.187	0.514
CuSO ₄ · 5H ₂ O	10 ⁻⁴	0	0	0	0	—	0	0	0	0
	10 ⁻³	0	0	0	0	—	0	0	0	0
	10 ⁻²	0	0	0	0	—	0	0	0	0
FeNH ₄ (SO ₄) ₂ · 12H ₂ O	10 ⁻⁴	10 ⁶ —10 ⁷	0.109	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.280	—	0.174	10 ⁸ —10 ⁹	0.140	0.385
	10 ⁻³	10 ⁷ —10 ⁸	0.122	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.275	—	0.240	10 ⁷ —10 ⁸	0.206	0.392
	10 ⁻²	10 ⁶ —10 ⁷	0.155	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.381	—	0.340	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.272	0.700

MnSO ₄ · 7H ₂ O	10 ⁻⁴	10 ⁶ —10 ⁷	0.106	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.301	—	0.180	10 ⁴ —10 ⁵	0.086	0.462
	10 ⁻³	10 ⁶ —10 ⁷	0.132	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.296	—	0.188	10 ⁶ —10 ⁷	0.087	0.414
	10 ⁻²	10 ³ —10 ⁴	0.084	10 ⁴ —10 ⁵	0	10 ⁴ —10 ⁵	0.209	10 ⁸ —10 ⁹	0.246	0.396
* NiSO ₄ · 7H ₂ O	10 ⁻⁴	10 ⁴ —10 ⁵	0.088	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.280	—	0.148	10 ⁷ —10 ⁸	0.032	0.401
	10 ⁻³	10 ⁵ —10 ⁶	0.113	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.276	—	0.189	10 ⁸ —10 ⁹	0.047	0.300
	10 ⁻²	10 ³ —10 ⁴	0	10 ² —10 ³	0	—	0	0	0	0
PbCl ₂	10 ⁻⁴	10 ³ —10 ⁴	0	10 ³ —10 ⁴	0	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.230	10 ⁷ —10 ⁸	0.157	0.383
	10 ⁻³	10 ³ —10 ⁴	0	10 ³ —10 ⁴	0	10 ⁸ —10 ⁹	0.252	10 ⁷ —10 ⁸	0.193	0.372
	10 ⁻²	10 ² —10 ³	0	0	0	—	0	0	0	0
SbCl ₃	10 ⁻⁴	10 ⁵ —10 ⁶	0.124	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.348	—	0.187	10 ⁷ —10 ⁸	0.091	0.470
	10 ⁻³	10 ² —10 ³	0	10 ¹ —10 ²	0	—	0	1—10	0	0
	10 ⁻²	10 ³ —10 ⁴	0	10 ² —10 ³	0	—	0	0	0	0
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	10 ⁻⁴	10 ⁶ —10 ⁷	0.067	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.298	—	0.183	10 ⁶ —10 ⁷	0.070	0.440
	10 ⁻³	10 ² —10 ³	0	1—10	0	—	0	0	0	0
	10 ⁻²	10 ² —10 ³	0	10—10 ²	0	—	0	0	0	0

* Sulfides formed were not completely detected by means of the analytical method employed.

すなわち、Fe[#] が 10⁻⁶g atoms/L 存在するときには、Bi[#] 10⁻⁴~10⁻²g atoms/L、Co[#] 10⁻⁴g atoms/L および Fe[#] 10⁻⁴~10⁻²g atoms/L において明らかな促進作用が認められたが、これらの濃度以上においては、あるいはその他の金属イオンの場合にはかえって著しい阻害作用が示された。また、Fe[#] が 10⁻⁴g atoms/L 共存するときには、Fe[#] において最初から著しい促進作用が認められ、Bi[#]、Co[#]、Cr[#]、Mn[#]、Pb[#] および Sb[#] では終期における硫化物蓄積量および硫酸塩還元量が各濃度に応じて多少とも増大する傾向が示された。Ni[#] および Zn[#] ではこれらの最終値には大差がなかったが概して阻害的傾向がつよく、Cd[#] および Cu[#] では全く発育がみられなかった。そして、上述のような終期において促進作用が示されたものについても初期には明らかな阻害作用があらわれ、この傾向は一般に高濃度におけるほど著しかった。一方、(NH₄)₂SO₄ を 10⁻² M 加えた培地では阻害がそれほど顕著でなかったことから、これらの阻害の原因は高濃度の SO₄⁻ あるいは高浸透圧のみには帰せられない。

すなわち、これらの金属イオンの多くは本来この細菌の発育に対して多少とも阻害作用をもつものであるが、一方生成された H₂S と反応してこれを不活性化されるため、終期における発育および硫酸塩還元作用が H₂S に阻害されることなく進むものとみられる。また、生産された H₂S が不溶性硫化物として固定されるため、逸散または酸化による消失が防がれて全硫化物の最高蓄積量が高くあらわれると考えられる。

しかし、以上の実験において Fe[#] が比較的高濃度に共存する場合の方がこれら金属イオンによる阻害的傾向がいちじるしく弱められたことは、これらのイオンと Fe[#] との間の拮抗的關係を示すものである。そこで、つぎにこれらの代表的な場合として Fe[#] と Mn[#] との間の拮抗作用について実験した。

(4) Fe[#] の促進効果に対する Mn[#] の拮抗作用

基礎培地に Fe[#] および Mn[#] をいろいろの濃度に加えて培養し、これらの影響をみた。その結果は第 7 表に示す通り、Fe[#] が 10⁻⁶g atoms/L 存在するときには Mn[#] 10⁻³g atoms/L 以上において、また Fe[#] 10⁻³g atoms/L のときには Mn[#] 10⁻²g atoms/L においてそれぞれ発育および activity が明らかに阻害されたが、Fe[#] が 10⁻²g atoms/L 存在する場合には Mn[#] 10⁻²g atoms/L で微弱な阻害がみられたに過ぎずそれ以下の Mn[#] 濃度では阻害がおこらなかった。そして、これら阻害の大きさは一般に Mn[#] の濃度に比例した。

すなわち、Mn[#] はこの細菌の発育および activity に対して本来阻害的作用をもつものであって、この作用は Fe[#] による発育促進作用と著しい拮抗的關係にあることが明らかになった。

Table 7. Antagonistic action of Fe[#] and Mn[#] on the growth and the activity of sulfate-reducing bacteria strain SM1.

Concentrations of salts added (M)		Incubation time (hrs.)				
		15	24	39	64	112
FeSO ₄ · 7H ₂ O	MnSO ₄ · 7H ₂ O	Cells/ml	Cells/ml Sulfides -S mg/ml	Cells/ml Sulfides -S mg/ml	Cells/ml Sulfides -S mg/ml	Sulfides -S mg/ml
10 ⁻⁶	0	10 ⁶ -10 ⁷	10 ⁷ -10 ⁸ 0	10 ⁸ -10 ⁹ 0.109	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.145	0.136
10 ⁻³	0	10 ⁶ -10 ⁷	10 ⁷ -10 ⁸ 0	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.214	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.235	0.166
10 ⁻²	0	10 ⁶ -10 ⁷	10 ⁸ -10 ⁹ 0	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.240	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.373	0.267
10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁶ -10 ⁷	10 ⁷ -10 ⁸ 0	10 ⁸ -10 ⁹ 0.119	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.158	0.158
10 ⁻⁶	10 ⁻⁴	10 ⁶ -10 ⁷	10 ⁷ -10 ⁸ 0	10 ⁸ -10 ⁹ 0.093	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.130	0.133
10 ⁻⁶	10 ⁻³	10 ⁵ -10 ⁶	10 ⁶ -10 ⁷ 0	10 ⁷ -10 ⁸ 0.001	10 ⁸ -10 ⁹ 0.080	0.096
10 ⁻⁶	10 ⁻²	10 ⁴ -10 ⁵	10 ³ -10 ⁴ 0	1 -10 0	0 0	0
10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁶ -10 ⁷	10 ⁷ -10 ⁸ 0	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.225	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.248	0.152
10 ⁻³	10 ⁻³	10 ⁶ -10 ⁷	10 ⁸ -10 ⁹ 0	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.203	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.230	0.168
10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁵ -10 ⁶	10 ⁷ -10 ⁸ 0	10 ⁸ -10 ⁹ 0.019	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.222	0.223
10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁶ -10 ⁷	10 ⁸ -10 ⁹ 0	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.219	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.330	0.296
10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁶ -10 ⁷	10 ⁸ -10 ⁹ 0	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.247	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.313	0.352
10 ⁻²	10 ⁻²	10 ⁶ -10 ⁷	10 ⁸ -10 ⁹ 0	10 ⁹ -10 ¹⁰ 0.177	10 ⁸ -10 ⁹ 0.294	0.266

(5) いろいろの金属の不溶性塩類の影響

以上の諸実験で、この細菌の発育および硫酸塩還元作用に与えるいろいろの金属イオンの影響がみられたが、これらはイオンそのものによる阻害的傾向と、H₂S を不活性化させることによる促進的傾向との競り合いの結果があらわれたものと考えられる。それ故、これら金属の不溶性塩類が存在するときには、後者が前者を上まわって最初から促進的傾向が示されるかも知れない。この点を追究するため、微量の Fe[#] を含む基礎培地に 10 g/L の各種不溶性金属塩を加えて培養した。その結果は第 8 表に示す通りである。

Table 8. Effects of various insoluble inorganic salts on the growth and the activity of sulfate-reducing bacteria strain SM1 in the presence of Fe[#] in different concentrations. (These insoluble salts were added in concentration of 10 g per L.)

Salt added	Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ · 6H ₂ O (M)	Incubation time (hrs.)						
		48		120		288		
		Cells/ml	Sulfides -S mg/ml	Cells/ml	Sulfides -S mg/ml	Cells/ml	Sulfides -S mg/ml	Reduced sulfate-S mg/ml
Non		10 ⁹ -10 ¹⁰	0.153	—	0.221	10 ⁹ -10 ¹⁰	0.126	0.357
* Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ · 6H ₂ O		10 ⁹ -10 ¹⁰	0.275	—	0.331	10 ⁹ -10 ¹⁰	0.297	0.406
**4BiNO ₃ · (OH) ₂ · BiO(OH)		10 ³ -10 ⁴	0	10 ⁸ -10 ⁹	0.245	10 ⁹ -10 ¹⁰	0.094	0.449
CdCO ₃		10 ³ -10 ⁴	0	1 -10	0	0	0	0
2CoCO ₃ · 3Co(OH) ₂		10 ² -10 ³	0	—	0	0	0	0
CuCO ₃		0	0	—	0	0	0	0
MnCO ₃	10 ⁻⁵	10 ⁹ -10 ¹⁰	0.121	—	0.249	10 ⁷ -10 ⁸	0.234	0.372
**NiCO ₃		10 ² -10 ³	0	—	0	0	0	0
2PbCO ₃ · Pb(OH) ₂		1 -10	0	—	0	0	0	0
Sb ₂ O ₃		10 ³ -10 ⁴	0	—	0	0	0	0
ZnCO ₃		10 ³ -10 ⁴	0	—	0	0	0	0

Non		10^9-10^{10}	0.265	—	0.214	10^9-10^{10}	0.107	0.345
* $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$		10^9-10^{10}	0.289	—	0.315	10^8-10^9	0.252	0.375
** $4\text{BiNO}_3(\text{OH})_2 \cdot \text{BiO}(\text{OH})$		10^4-10^5	0	—	0.183	10^9-10^{10}	0.131	0.442
CdCO_3		10^2-10^3	0	—	0	0	0	0
$2\text{CoCO}_3 \cdot 3\text{Co}(\text{OH})_2$		10^7-10^8	0.012	10^8-10^9	0.076	10^9-10^{10}	0.252	0.436
CuCO_3	10^{-4}	—	0	—	0	—	0	0
MnCO_3		10^9-10^{10}	0.197	—	0.204	10^8-10^9	0.233	0.385
** NiCO_3		—	0	—	0	—	0	0
$2\text{PbCO}_3 \cdot \text{Pb}(\text{OH})_2$		—	0	—	0	—	0	0
Sb_2O_3		10^8-10^9	0.119	—	0.202	10^9-10^{10}	0.186	0.422
ZnCO_3		—	0	—	0	—	0	0
<hr/>								
Non		10^9-10^{10}	0.282	—	0.244	10^8-10^9	0.168	0.370
* $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$		10^9-10^{10}	0.306	—	0.434	10^9-10^{10}	0.315	0.390
** $4\text{BiNO}_3(\text{OH})_2 \cdot \text{BiO}(\text{OH})$		10^9-10^{10}	0.256	—	0.266	10^9-10^{10}	0.157	0.421
CdCO_3		—	0	—	0	—	0	0
$2\text{CoCO}_3 \cdot 3\text{Co}(\text{OH})_2$		10^9-10^{10}	0.383	—	0.422	10^9-10^{10}	0.335	0.453
CuCO_3	10^{-3}	—	0	—	0	—	0	0
MnCO_3		10^8-10^9	0.311	—	0.254	10^8-10^9	0.262	0.484
** NiCO_3		10^9-10^{10}	0.012	—	0.233	10^9-10^{10}	0.209	0.327
$2\text{PbCO}_3 \cdot \text{Pb}(\text{OH})_2$		—	0	—	0	—	0	0
Sb_2O_3		10^9-10^{10}	0.129	—	0.246	10^9-10^{10}	0.204	0.410
ZnCO_3		—	0	—	0	—	0	0

* This salt was added in the concentration of 10^{-2} M.

** Sulfides formed were not completely detected by means of the analytical method employed.

すなわち、 Fe^{2+} が 10^{-5} g atoms/L 存在するときには Bi および Mn の塩類において、 Fe^{2+} 10^{-6} g atoms/L が共存するときには Bi, Co, Mn および Sb の塩類において、また Fe^{2+} 10^{-3} g atoms/L が共存するときには Bi, Co, Mn, Ni および Sb の塩類においてそれぞれ終期に明らかな促進的傾向があらわれたが、その他の塩類では発育が全く阻止された。また、これら促進作用が示されたものについても、その多くは初期には多少とも阻害作用がみられた。

これらの結果は、実験(3)でみられたのと殆んど同じ傾向を示すものであって、不溶性塩類の場合でも、おそらく微量に存在するこれら金属のイオンによる阻害作用と H_2S を固定することによる発育促進作用の両者が共にあらわれるものと思われる。そしてこの場合にも、 Fe^{2+} の濃度によってこれら両者間の平衡が支配されると考えられる。

(6) 鉄の形態による促進作用の差異

上で述べたように Fe^{2+} はこの細菌の発育に不可欠であるのみならず、ある範囲内ではこれの濃度と比例して発育ならびに硫化物生成作用が著しく促進されることが示された。そこで、これらの促進作用が鉄の形態によってどのように異なるかをみるため、単体または化合物の各種形態の鉄を加えて培養した。その結果は第9表に示す通りである。

すなわち、鉄粉または不溶性第2鉄塩を加えたものでは可溶性第1鉄塩 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) を加えたものにくらべて初期における硫化物生産量は少なかったが、終期においては可溶性第1鉄塩における値を概して上まわる硫化物蓄積量と硫酸塩還元量が示された。このことから、鉄による硫酸塩還元作用の促進には必ずしも Fe^{2+} の形を必要とせず、単体または不溶性第2鉄塩でも著しい促進作用をもつようにみえる。不溶性第1鉄塩は調製が困難であるから実験しなかったが、このものもおそらくこれらと同様の促進効果を示すものと思われる。

この場合、これら不溶性の鉄は、細菌の発育ならびに硫化物生成にともなっておこる Eh 降下による還元、硫化水素水(微酸性)による溶解、あるいは局部的な化学電池形成による還元ならびに可溶性化などの作用によって、一旦 Fe^{2+} を経て反応促進にあずかるものと考えられる。このことは鉄材の腐蝕と関連してきわめて重大である。

Table 9. Effect of the various iron compounds on the activity of sulfate-reducing bacteria strain SM 1. (Basal medium contained Fe[#] in the concentration of 10⁻⁵ M.)

Iron compound added		Incubation time (hrs.)			
		24	96		
Form	Concentration (g/L)	Total sulfides-S mg/ml	"Free H ₂ S" -S mg/ml	Insoluble sulfides-S mg/ml	Reduced sulfate-S mg/ml
Non	(Fe [#] : 10 ⁻⁵ M)	0.091	0.173	0	0.278
Iron powder	10	0.113	0.091	0.199	0.421
Fe ₂ O ₃	10	0	0.043	0.183	0.320
Fe(OH) ₃	10	0.046	0.056	0.577	0.726
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.5	0.215	0.026	0.205	0.314

(7) Fe[#] の促進効果に対する Cd 塩の拮抗作用

以上の諸実験を通じて全く発育がおこらなかったのは Cd および Cu の塩類の存在する場合であって、これらは極めて著しい阻害作用をもつようにみえる。Cu[#] は一般に細胞毒として顕著なものの一つであるからこれによる阻害はうなずけるが、Cd 塩はむしろこの種の細菌の酵素学的研究において、生成される H₂S を捕捉するために菌体を含む反応混液に加えられることが多く、通常その阻害作用は問題とされていない。この点はなほ疑問に思われたので、つぎの実験でこれを確かめた。

すなわち、いろいろの濃度に Fe[#] を含む培地に CdSO₄ · 2H₂O または CdCO₃ を加えて発育および硫化物生成をしらべた。その結果第 10 表に示すように、Fe[#] が 10⁻⁶g atoms/L 存在するときには CdSO₄ 10⁻⁶ M でも阻害されたが、Fe[#] が 10⁻³g atoms/L 存在する場合には CdSO₄ 10⁻⁴ M 以上でのみ阻害が

Table 10. Effect of Cd salts on the growth and the activity of sulfate-reducing bacteria strain SM 1.

Compound added			Incubation time (hrs.)					
			24		48		120	
FeSO ₄ · 7H ₂ O	CdSO ₄ · 2H ₂ O	CdCO ₃	Cells/ml	Sulfides-S mg/ml	Cells/ml	Sulfides-S mg/ml	Cells/ml	Sulfides-S mg/ml
10 ⁻⁶ M	0 M	0 g/L	10 ⁷ —10 ⁸	0.077	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.204	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.113
10 ⁻⁶	10 ⁻⁶	0	10 ³ —10 ⁴	0	10 ⁸ —10 ⁹	0.109	10 ⁸ —10 ⁹	0.005
10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	0	10 ⁴ —10 ⁵	0	10 ³ —10 ⁴	0	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.203
10 ⁻⁶	10 ⁻⁴	0	1 —10	0	0	0	0	0
10 ⁻⁶	10 ⁻³	0	0	0	0	0	0	0
10 ⁻⁶	10 ⁻²	0	0	0	0	0	0	0
10 ⁻⁶	0	10	0	0	0	0	0	0
10 ⁻³	0	0	10 ⁶ —10 ⁷	0.086	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.260	10 ⁸ —10 ⁹	0.118
10 ⁻³	10 ⁻⁶	0	10 ⁷ —10 ⁸	0.096	10 ⁸ —10 ⁹	0.282	10 ⁸ —10 ⁹	0.131
10 ⁻³	10 ⁻⁵	0	10 ⁷ —10 ⁸	0.080	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.235	10 ⁹ —10 ¹⁰	0.123
10 ⁻³	10 ⁻⁴	0	10 —10 ²	0	0	0	0	0
10 ⁻³	10 ⁻³	0	0	0	0	0	0	0
10 ⁻³	10 ⁻²	0	0	0	0	0	0	0
10 ⁻³	0	10	0	0	0	0	0	0

おこった。このことは、この細菌の発育および activity が $\text{Cd}^{\#}$ によって $\text{Fe}^{\#}$ とは拮抗的な阻害を受けることを示すものである。また、 CdCO_3 によっても $\text{Fe}^{\#}$ の濃度にかかわらず発育が全く阻止された。しかし、このことは CdCO_3 がこの細菌の硫酸塩還元酵素系を阻害するか否かとは別の問題である。

論 議

硫酸塩還元細菌の発育に対する $\text{Fe}^{\#}$ の必要性に関しては既に BUTLIN・ADAMS・THOMAS⁹⁾ が淡水性種について明らかにしているが、本実験の結果から海洋性種もこれを不可欠要素として要求することが確認された。このことは、石本・小山・永井¹⁰⁾ および PCSTGATE¹¹⁾ が報告しているように、この種の細菌はチトクローム酵素系をもっているものでこれの形成と密接な関係があるものと考えられる。 $\text{Fe}^{\#}$ の最低必要濃度はおそらく $10^{-8} \sim 10^{-7}$ g atoms/L 程度の微量で十分と思われるが、上の実験では天然海水中にはこれを満たす程度の $\text{Fe}^{\#}$ が含まれていないようにみえた。しかし、一般には海水中の $\text{Fe}^{\#}$ の濃度は平均 $3 \times 10^{-8} \sim 3 \times 10^{-7}$ g atoms/L 程度¹²⁾ と考えられ、さらにまたこの細菌が増殖し活動を営むのは海底泥土中であって、この環境には Fe_2O_3 として (塩類, 有機物, CaCO_3 および水分を除いたものについて) 387~600 mmol/1,000 g 程度の鉄が存在する¹³⁾ とと思われる。そして、鉄が最初から必ずしも $\text{Fe}^{\#}$ として存在しなくても、この細菌が棲息するような低い酸化還元電位の環境下では初期発育をささえるに足る微量の $\text{Fe}^{\#}$ は十分得られるものと思われるから、天然の環境下で $\text{Fe}^{\#}$ 自体がこの細菌の発育制限因子となることは殆んどあり得ないと考えられる*。

また、 $\text{Fe}^{\#}$ は必須要因であるばかりでなく、ある範囲内ではこれの濃度に比例して発育および activity が促進されることが示された。この場合にも、 Fe が必ずしも $\text{Fe}^{\#}$ としてではなく、その他の単体または各種化合物として存在するときでも、一旦発育がはじまればそれにとりな酸化還元電位の低下ならびに硫化物の生成によって $\text{Fe}^{\#}$ への溶解、還元がつづき、この細菌の発育および activity は加速度的に促進されることが予想される。

鉄以外の金属塩類の場合には、イオンそのものによる阻害的傾向と H_2S の不活性化による促進的傾向とが競り合うためその影響は複雑であったが、いずれの塩でも多少とも $\text{Fe}^{\#}$ との間に拮抗的關係がみられた。これらのうち、天然の環境下で重要なのは $\text{Fe}^{\#}$ に対する $\text{Mn}^{\#}$ の拮抗作用であろう。このことについては既に湖底泥土中での実測結果および粗酵素液での実験結果にもとづいて小山・菅原¹⁴⁾ および村上¹⁵⁾ が明らかにしているが、本報の結果から、海底泥土中においても上と同様の拮抗現象の存在が期待される。

また、上の実験で示されたように、鉄などが多量に存在する場合には硫酸塩還元作用が促進される反面、生産された H_2S が不溶性硫化物として固定されるため遊離硫化水素は比較的少ない。一般に生物に対する直接的毒作用は遊離硫化水素によると考えられるので、この意味では鉄など不溶性硫化物をつくる金属の存在は生物をこの被害から保護するようにみえる。事実、養魚池などにおいて、硫化水素の発生する不良泥質の改良のために鉄を多量に含む赤粘土を投入することがしばしば試みられている。しかしながら、新たに加えられた鉄材によって遊離硫化水素が一時的には減少するとしても、これがやがて硫化物で満たされるであろうということを考えるとその永久的効果は極めて疑わしい。むしろ、この細菌の activity は温度の影響を顕著に受け低温では甚だ微弱である¹⁶⁾ から、天然において鉄などが少ない環境下では低温の季節には酸化、逸散によって硫化物が減少あるいは消失することもあり得ると考えられるのに対して、鉄などが多い環境下ではこの細菌の activity の高低にかかわらず常に多量の硫化物が蓄積されており、これからの H_2S の放出および低い Eh の維持によって絶えず生物に対して不都合な環境を与えるのみならず、更にまたこ

* 小山・菅原¹⁴⁾ の指摘のように、 $\text{Fe}^{\#}$ が FeS によって満たされた後には、 $\text{Fe}^{\#}$ の消失がその後の硫酸還元を制限することはあり得ると思われるが、本来 $\text{Fe}^{\#}$ の欠乏によってこの細菌の発育が最初から全く阻止されるということは考えられない。

の細菌の生存ならびに activity の維持に対して好都合な条件を持続させる結果になるかも知れない。これらの意味において、鉄など不溶性硫化物をつくる金属の多少は水質汚濁あるいは漁場の老化などの現象と重大な関連があると思われる。

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よぼす種々の重金属塩類の影響をしらべ、つぎの結果を得た。

1. Fe[#]はこの細菌の発育に必須不可欠であるばかりでなく、ある範囲内ではこれの濃度と比例して発育ならびに硫酸塩還元が促進された。Fe が最初、Fe[#]、単体または不溶性塩として加えられたときにも硫酸塩還元が促進されたが、おそらく Fe[#] に変化した後利用されたものと思われる。
2. Bi, Co, Cr, Mn, Pb および Sb の塩類の影響は、金属イオン自体による阻害的傾向と、生産された H₂S を不溶性硫化物として不活性化させることによる促進的傾向とが競り合うため複雑であって、これらを加えると培養初期にはかなりの発育阻害作用があらわれたが、培養終期における硫化物最高蓄積量ならびに硫酸塩還元総量は明らかに増大した。
3. Ni および Zn の塩類は概して阻害的に作用し、Cd および Cu の塩類は著しい阻害作用を示した。
4. Mn[#] および Cd[#] は、Fe[#] の促進効果に対して顕著な拮抗作用をあらわし、その他の金属イオンの場合でも Fe[#] に対する拮抗関係が多少とも示された。

おわりに、本研究をご指導いただいた京都大学農学部木俣正夫教授、およびご指導ならびにご校閲いただいた京都大学食糧科学研究所門田 元教授に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 畑 幸彦：1960. 本報告, **9**, 329—345.
- 2) 畑 幸彦：1960. 本報告, **9**, 347—362.
- 3) 木俣正夫・門田 元・畑 幸彦・田島卓明：1955. 日本水産学会誌, **21**, 113—118.
- 4) 畑 幸彦・三好英夫・門田 元・木俣正夫：1959. 本報告, **8**, 135—145.
- 5) WARING, W. S. and C. H. WERKMAN : 1942. *Archiv. Biochem.*, **1**, 303—310.
- 6) 富山哲夫・神崎嘉瑞夫：1951. 日本水産学会誌, **17**, 115—121.
- 7) 富山哲夫・小島良夫：1953. 日本水産学会誌, **18**, 687—690.
- 8) 三宅 泰雄：1954. “水質分析”, 生活百科刊行会, 東京, p. 110.
- 9) BUTLIN, K. R., M. E. ADAMS and M. THOMAS : 1949. *J. gen. Microbiol.*, **3**, 46—59.
- 10) ISHIMOTO, M., J. KOYAMA and Y. NAGAI : 1954. *J. Biochem.*, Tokyo, **41**, 763—770.
- 11) POSTGATE, J. R. : 1956. *J. gen. Microbiol.*, **15**, 186—193.
- 12) SVERDRUP, H. U. et al. : 1949. “The Ocean”, 3rd ed., Prentice-Hall, New York, pp. 176.
- 13) Ibid., pp. 991.
- 14) KOYAMA, T. and K. SUGAWARA : 1953. *J. Earth Sci.*, Nagoya Univ., **1**, 24—34.
- 15) 村上 枝彦：1952. 愛知学芸大報告., **1**, 77—79.
- 16) 木俣正夫・門田 元・畑 幸彦・田島卓明：1955. 日本水産学会誌, **21**, 109—112.