松尾五色沼の湖色変化における微生物の鉄および硫黄酸化活性

牧 陽之助

Contribution of the Microbial Activities Oxidizing Ferrous Iron or Elemental Sulfur to Seasonal Color Change in the Water of Lake Matsuo-Goshikinuma, in Northern Honshu, Japan

Yōnosuke MAKI

Abstract

Limnological and experimental studies were done for over eighteen months in order to evaluate the microbiological contribution to seasonal color change in the waters of Lake Matsuo-Goshikinuma, in northern Honshu, Japan. The oxidation of either ferrous ion or elemental sulfur by suspensions collected on a membrane filter, with a pore-size of $0.45\mu\text{m}$, was regarded as being caused by biological processes and those occurring in the filtered water was considered chemical in nature. The highest level of activity ferrous iron oxidation was estimated as about $5\text{ mg Fe}^{2+}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ($100\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$). Elemental sulfur oxidation was exclusively biological, and the rate was around $2\text{ mg S}_8\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ($60\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$). A whitish appearance in the lake water was accompanied by an elevation in the biological activity of elemental sulfur oxidation. During the period of whitish water, microbial oxidation of ferrous ion was probably limited by a lack of dissolved oxygen. A decrease in the microbiological activity during the winter, both in ferrous ion and in elemental sulfur oxidation, was assumed to be temperature related (below 13°C).

Key words : iron oxidation, sulfur oxidation, dissolved oxygen, water color

1. はじめに

松尾五色沼は単一の湖であるが、名称のとおり湖水の色調が季節によって変化する。すなわち、早春から初夏にかけては「あお」く、真夏に「しろ」くなり、秋には「あか」く濁り、冬には「あか」からしだいに透明度を増し、春の「あお」にいたる。寒冷地にある腐植栄養型池沼の水色がしばしば濃い茶褐色を示すこと、洪積台地などでは粘土によって白ないし褐色に濁ることはよく知られている。また、季節によって水体が白濁する現象として、水中で炭酸カルシウムが生成沈澱する場合がある (STRONG *et al.*, 1978)。しかし、湖色が松尾五色沼のような顕著な季節変化を示す例は、全国的にも珍しい。

陸水域で水が著しい黄褐色ないし褐色にかわ

る例として、鉄(II)イオンを含む酸性鉱山排水の流入する河川や湖沼がよく知られ (BROCK *et al.*, 1994)、その褐色化には鉄酸化細菌が関与している (TUTTLE *et al.*, 1968 ; GRISHIN *et al.*, 1988)。松尾五色沼の場合、この湖を養っているのは、鉄(II)イオンを多量に含んだ湖底からの強酸性の湧水で、秋に「あか」くなるのは、鉄(II)イオンが酸化された結果、褐色の鉄化合物が水中に懸濁するためである (吉田ら, 1978 ; 若尾ら, 1985)。さらに若尾ら (1980, 1985) は、鉄(II)イオンの酸化反応に *Thiobacillus ferrooxidans* や *T. thiooxidans* が重要な役割をはたしている事を示唆した。

一方、懸濁する硫黄によって水体が白く濁ることは、硫黄を含んだ温泉などでよく観察できる。しかしながら、硫黄による白濁現象につい

ては、微生物学的検討はほとんどされていない。松尾五色沼の場合、夏の「しろ」は湖底からの湧出水に含まれる硫化水素が単体イオウに酸化され、白色の懸濁物となって浮遊するためと考えられている(吉田ら, 1978)。しかし、そこに微生物が関与しているか否かは不明である。

微生物による鉄(II)イオンや硫化水素の酸化作用は、化学的酸化と競合しているために、両者を分けて評価することがむずかしく、報告は限られている(JØRGENSEN *et al.*, 1979; MAKI, 1993)。若尾ら(1980, 1985)は、松尾五色沼が鉄(II)イオンの酸化によって「あか」くなる現象に微生物が関与していることを示したが、化学的酸化と微生物による酸化とを分けて評価しなかった。

本研究では、現場の湖水を用いてそこに含まれる鉄(II)イオンの酸化反応に微生物がどれほど関与しているかを明らかにするために、微生物による酸化を化学的酸化と分けて評価した。さらに単体イオウを基質とすることによって、湖水に含まれる微生物による硫黄酸化活性を測定し、これをもとに「しろ」の原因である硫化水素の酸化反応(単体イオウの生成反応)に対する微生物の関与を推定した。

2. 五色沼の概要

五色沼(通称赤沼)は、十和田八幡平国立公園の岩手県側、岩手県松尾村の御在所温泉の北東に位置する。吉田らは、1976年頃からこの湖水の色調変化について陸水学的調査研究をおこなった。これまでの陸水学的知見のほとんどは、吉田らの研究に負うものである。

五色沼は海拔890mの高地にある。平均直径約44.7mのほぼ円形の湖で最大水深は13.0m、岸からはほぼ垂直に深くなって水深約10mに達しており、湖盆地態はちょうど「たらい」のようである。一年を通じてpHは3前後の非調和型湖沼で、湖は底から湧出する水温約16°Cの地下水によって養われており、融雪期の一時期をのぞいてほかからの流入はない(吉田ら, 1978)。若尾ら(1980)はこのような松尾五色沼の養われ方から、この湖を一種の連続培養装置と位置づけ、湖色変化を説明しようとした。湧出水は約70mg・l⁻¹のカルシウムイオン(Ca²⁺)、約30mg・l⁻¹という高濃度の鉄(II)イオン(Fe²⁺)と1mg・l⁻¹前後の硫化水素、さらに350から400mg・l⁻¹の硫酸イオン(SO₄²⁻)を含んでいるが、分子状酸素はほとんどない(吉田ら, 1978)。湖の西南約3kmには旧松尾鉱山跡地が広がって

おり、このような水質はおそらくその硫黄鉱床や御在所温泉の湯脈の影響によるものと考えられている(吉田ら, 1978)。

3. 方 法

3-1. 湖色・水温・溶存酸素

湖色・水温・溶存酸素の観測は6月中旬から10月までは、ほぼ1週間に1度、それ以後は2週間ないし1ヶ月に1度の観測とした。

湖水の色は目視と同時に偏光フィルターを使った写真撮影によって記録した。吉田ら(1978)は、湖色の表現として、青清澄・青緑色・青白色・青白濁・黄緑色・黄褐色・黄褐濁などを用いた。また若尾ら(1980, 1985)は、青藍澄・青緑色・灰緑色・灰青緑色・灰青色・青白色・青白濁・黄緑色・黄褐色・緑褐色・緑灰褐色・黄淡緑色・黄褐濁などさまざまな表現を用いた。

吉田を中心とするこれまでの研究によって、湖色の変化は水中に懸濁する鉄化合物による褐色物質ないし単体イオウによる白色懸濁物に原因する事が明らかになっている。この事実に基づき、本研究では湖色の表現の簡略化と統一をはかるために、基本的な色調として「あお」・「しろ」・「あか」の3色を区別した。すなわち、白色ないし褐色懸濁物のない場合の水色として「あお」を区別し、「あお」の色調にすこしでも白色懸濁物による「しろ」ないし褐色懸濁物による「あか」が認められると判断した場合には、それぞれ「しろ」ないし「あか」と表現した。なお、このほかに植物プランクトンの繁殖によると考えられる「みどり」が区別できるが、この報告ではこの区別をせず、上記3色のいずれかに含めた。吉田ら、若尾らの表現との対応を示せば、「あお」は青清澄・青緑色・青藍澄・灰緑色・灰青緑色など、「しろ」は青白色・青白濁など、「あか」は黄淡緑色・黄緑色・黄褐色・黄褐濁など、となる。

水温と溶存酸素は水深3mまで、午前11時30分から午後2時の間に測定した。溶存酸素は、溶存酸素計(YSI社57型: クラーク型隔膜ポーラログラフセンサ)で測定した。酸素温度複合電極を約4mの竿の先にセットし、岸から水中に向かって竿をのぼし、表面(-1cm)から50cmごとに3mの深さまで測定した。水温は、溶存酸素センサに付属するサーミスタ温度センサによって測定した。

3-2. 鉄化合物現存量の測定

簡易型層別採水装置によって深度 1.5m の湖水を 1 リットルのポリビンに採り、鉄(II)イオン濃度については現場で直ちに *o*-フェナントロリンによって発色させ、実験室に持ち帰って 510nm の波長で比色測定した(那須ら, 1971)。ポリビンに満水密栓して持ち帰った試水(原試水)に塩酸を加え、5 分間煮沸して熱酸可溶性全鉄量を、また原試水を孔径 0.45 μ m のメンブランフィルターで濾過して、その濾過水について溶存全鉄量を求めた。すなわち、塩酸ヒドロキシルアミンを試水に加えて鉄(III)イオンを還元し、*o*-フェナントロリンで発色させ、得た値をそれぞれの全鉄量とし、そこから塩酸ヒドロキシルアミンを加えない場合の値、すなわち鉄(II)イオン量を差し引き、鉄(III)イオン量とした(那須ら, 1971)。

3-3. 鉄および硫黄酸化活性の測定

松尾五色沼湖水の持つ鉄酸化活性を、化学的活性と微生物による活性とに分けて測定した。硫黄酸化活性の場合には酸化基質として単体イオウを使ったので、化学的酸化反応はないと考えられたが、測定手順としては鉄酸化活性の場合と同様に行った。

生物的酸化活性を担うものは、水中に浮遊または懸濁物に付着する微生物と考えられるので、メンブランフィルターによって微生物を懸濁物とともに濾過濃縮し、その活性を測定した。すなわち簡易型層別採水装置によって 1.5m の深さの湖水を 1 リットルのポリビンにとり、満水密栓して研究室に持ち帰った。ただちに孔径 0.45 μ m のニトロセルロースメンブランフィルターで湖水を濾過し、フィルター上に微生物と懸濁物を濃縮した。フィルターを 5 等分し、培地を 4ml 分注した 5 本の試験管に移植し、これを恒温器で湖の 1.5m 深度の現場温度に保ち、培養した。調査測定時の現場温度は 10.0 から 18.0°C の範囲にあった。培養期間は、鉄酸化活性の場合には 0.5 日から 5 日、硫黄酸化活性の場合には 5 日から 21 日であった。

鉄酸化活性の場合、5 本の試験管の培地中の鉄(II)イオン濃度を経時的に測定し、その減少速度を鉄(III)イオンへの酸化速度とみなし、これを鉄酸化活性とした。鉄(II)イオン濃度の測定には *o*-フェナントロリン法を用いた(那須ら, 1971)。硫黄酸化活性の場合には、経時的に培地 pH を測定した。すなわち少量の培地をパスツールピペットで無菌的に採取し、カード

式 pH メータ(HORIBA コンパクト pH メータ C1)で測定した。培養にともなう pH の減少と硫酸イオンの増加との間には、Figure 1 に示したような関係がみられた。このグラフを使って、pH の減少を硫酸イオンの増加に読み換えた。そして、硫酸イオンの増加速度を硫黄酸化活性とした。

Figure 1 のグラフはつぎのようにして作成した。すなわち、湖水の 100 倍の濃度になるように懸濁物をメンブランフィルターで濃縮し、これをフィルターごと培地に移植して培養し、経時的に pH と培地中の硫酸イオン濃度を測定した。硫酸イオンの定量には、ダイオネクス社のイオンクロマトグラフシステム 10 を使って行った。カラムには日本ダイオネクスの HPIC-AS3 型陰イオン分離カラムを用い、溶離液(2.8mM 炭酸水素ナトリウムと 2.2mM 炭酸ナトリウムの 1:1 混合液)を 100ml $\cdot$ h⁻¹ で流した。

Fig. 1. Relationship between pH values of the incubated and concentrations of sulfate ion. After measuring the pH of the media incubated for specified periods, sulfate ion concentrations were determined by ion chromatography. Sulfate ion concentrations at the start of incubations were always around 275 mg SO₄²⁻ · l⁻¹, with initial pH values of 3.1 or lower. 200 mg of sterilized sulfur powder was used for substrate.

鉄酸化活性の場合も硫黄酸化活性の場合も、濾過水を濾過した(微生物と懸濁物を載せていない)フィルターを培地に移植し、これを対照とした。接種した懸濁物量は、現場湖水の懸濁物量を1として、0(対照)・1・10・100倍であった。また、濾過しない湖水(原試水)についても活性を測定し、この場合には濾過湖水を対照とした。

培地の分注、フィルターの移植と接種、鉄(II)イオン濃度とpHの測定のための試料の採取は、無菌的に行った。鉄および硫黄の酸化活性の算出は、懸濁物を現場湖水の100倍に濃縮した試料を接種した場合の鉄(II)イオンの減少速度ないし硫酸イオンの増加速度(微生物による酸化活性+化学的酸化活性)から、対照フィルターを接種した場合(化学的酸化活性)を差し引いた値を、それぞれの微生物による酸化活性とした。また、鉄酸化活性の場合には、濾過しない湖水(原試水)での鉄(II)イオンの減少速度から濾過湖水の対照(化学的酸化活性)を差し引いた値を求め、これを松尾五色沼現場での微生物による鉄酸化活性として扱った。硫黄酸化活性の場合には、濾過しない湖水(原試水)では有意なpHの低下が認められず、したがって原試水による硫黄酸化活性の推定はできなかった。

培地には、孔径 $0.45\mu\text{m}$ のメンブランフィルターで濾過した湖水をそのまま用いた。ただし鉄酸化活性の測定では、湖水中の鉄(II)イオン濃度は秋と冬には非常に少なくなったので、こ

の場合に限って、夏の現存量(ほぼ 25 から $30\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)になるように硫酸第一鉄を添加した。硫黄酸化活性の場合には常に、滅菌した粉末硫黄(約 200mg)を培地に加えた。

4. 結 果

4-1. 鉄および硫黄酸化活性の測定

1994年8月2日の場合の培地の鉄(II)イオンの減少を、Figure 2に示した。対照(懸濁物を接種していない)では、ほとんど鉄(II)イオンは減少しなかったが、接種した試験管では、接種量の多いものほど急速に減少した。

Figure 3には、1994年8月2日の場合の培地pHの変化を示した。鉄酸化活性の場合と同様に、接種量の多い試験管ほどpHの低下が顕著であった。調査期間を通してみると、懸濁物濃度を100倍にした試験管では、活性の高い時期には10日から2週間ではほぼ1ポイントのpH減少が見られた。懸濁物を接種しない対照でも、わずかではあるがpHは下がった。

測定値の標準偏差は、懸濁物量が100倍の濃度になるように接種した鉄酸化活性の場合、最も大きかった1994年10月と11月でも20%未満であった。一方、硫黄酸化活性については標準偏差は0.1から3%であった。

4-2. 湖色の色調変化

Figure 4Aには、1993年5月から1994年の12月までの湖色変化を示した。春に「あお」く澄んでいた湖水は、6月に入るとしばしば「し

Fig. 2. Changes in ferrous ion concentrations in the media sampled on 2 August 1994. The ratios of suspensions in the media to the lake water were 0 (control; ●), 1 (equivalent to the lake water; ○), 10 (▲), and 100 (△). Ferrous ion decreased more rapidly at higher concentrations. From the change in ferrous iron concentrations, oxidation activities were calculated.

Fig. 3. Changes in the pH of the media sampled on 2 August 1994. The ratios of suspensions in the media to the lake water were 0 (control; ●), 1 (equivalent to the lake water; ○), 10 (▲), and 100 (△). pH decreased more rapidly with higher ratios. From pH change attributed to sulfate ion, the microbiological oxidation activity of elemental sulfur was calculated.

ろ」く濁るようになり、「あお」と「しろ」が交替するようになった。7月末から8月になると「しろ」が持続するようになり、9月末には急激に「あか」く濁った。濁った「あか」は強弱を繰り返しながら3月頃までつづき、しだいに「あお」に移行した。このような色調変化のパターンは、変化の時期に多少の相違はあったが、1993年と1994年で同じように観測され、規則性を示した。

4-3. 水温

Figure 4Bには、水温の変動を示した。この図には水深0.5mから2mまでの水温をいっしょに書き込んである。1993年の5月から9月中頃まで、ほぼ16°Cから18°Cで推移し、水深2mではやや低かった。一方、1994年には、水深0.5mの水温は約19°Cまで上昇し、5月から9月の間の水深0.5mと2mの温度差は、1993年に較べて大きかった。両年とも9月半ばに「あか」になるとともに、深度による水温の差はほとんどなくなった。厳冬期でも10°C前後を維持した。

Fig. 4. A; Seasonal color change in the water of Lake Matsuo-Goshikinuma. Symbols represent the period of blue or greenish blue (■), pale blue to milky white (□), maintenance of white color (□), and yellowish red (■). Changes in color occurred on a seasonally regular basis. B; Water temperatures at three different depths (0.5, 1, and 2 m). Accompanied by the disappearance of a temperature difference between the upper and the lower layers of the water during September, the water color changed from white to yellowish red. Lowest temperatures were around 10°C during the winter.

4-4. 溶存酸素

Figure 5は、1993年 (Fig. 5A)と1994年 (Fig. 5B)の6月から10月の、表層から水深3mまでの溶存酸素濃度の垂直分布の推移である。6月末から9月にかけて、表層でもしばしば1から2mgO₂・l⁻¹という低酸素状態になり、深くなるにつれて溶存酸素濃度は低くなった。

4-5. 鉄(II)イオン・溶存全鉄量・熱酸可溶性全鉄量

Figure 6には、鉄(II)イオン・溶存全鉄量・熱酸可溶性全鉄量の変動を示した。6月から9月半ばまで、鉄(II)イオン(Fe²⁺)量は「あお」と「しろ」の時期で高く25から30mg・l⁻¹を示し、溶存全鉄の70%から90%以上であった。しかし、9月に「あか」になるとともに急激に減少して数mg・l⁻¹となり、このとき溶存全鉄に占める割合は十数%であった。鉄(II)イオン量は3月に「あお」になるとともに再び増加した。一方、溶存全鉄量と熱酸可溶性全鉄とは相伴って変化しており、「あか」になる時期に減少したが、「あお」になるとともに回復した。

4-6. 鉄および硫黄酸化活性と湖色

Figure 7Aには、懸濁物の濃度が湖水の100倍の場合について、1993年10月以降の微生物による鉄酸化活性を示した。調査期間を通して、活性は0.2から58.7mg Fe²⁺・l⁻¹・d⁻¹の範囲にあった。色調が「あか」であった10月に最大レベルを示した鉄酸化活性は、11月には急激に下降した。12月から翌年3月までの厳冬期に、鉄酸化活性は非常に低く、4月頃からやや上昇した。6月から7月の「あお」と「しろ」の交替期にはやや高くなったが、8月の「しろ」になる時期にかけて、この上昇はやや停滞した。「あか」になった後の10月に鉄酸化活性は急激に上昇してふたたび最大レベルに達し、その後低くなった。

濾過しない湖水(原試水)でも、微生物による酸化と化学的酸化とを分けることができた。この場合、微生物による鉄酸化活性は0.1から6.0mg Fe²⁺・l⁻¹と計算された (Table 1)。最大レベルと比較すると、100倍に濃縮した場合の約1/10であった。

Figure 7Bには、1993年8月以降の微生物による硫黄酸化活性の変動を示した。懸濁物濃度が湖水の100倍の場合の変動を示してある。1993年には「しろ」が持続する期間、また1994年には「しろ」と「あお」が交替する時期と一致して、硫黄酸化活性は急激に高くなった。この高

A; 1993

B; 1994

Fig. 5. Vertical distributions of dissolved oxygen from 0 to 3 m during the summer and autumn in Lake Matsuo-Goshikinuma. In 1993 (A), oxygen-poor ($< 1 \text{ mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$) water prevailed near the surface of the lake at the end of June and disappeared at the beginning of September, while in 1994 (B), the oxygen-poor water appeared at the end of June and lasted until the beginning of October.

Fig. 6. The concentration of iron in the water of Lake Matsuo-Goshikinuma in relation to water color. The water color of Lake Matsuo-Goshikinuma was represented by four symbols as in Fig. 4. The high level (over 70%) of ferrous ion (—) in the summer decreased rapidly in September to a few $\text{mg Fe}^{2+} \cdot \text{l}^{-1}$ followed by a change in the water color from white to yellowish red. The recovery of ferrous ion was near the beginning of March, and it was accompanied by the disappearance of the yellowish-red color. Dissolved iron (.....) and acid soluble iron (----) also decreased in September, but not as much as ferrous iron.

活性状態は秋に「あか」になると同時に下降し、「あお」く澄む3月頃には最低となった。

鉄酸化活性の場合、化学的酸化活性は1993年10月22日と1994年6月18日の両日に、異常な高さを示した。すなわち、微生物と懸濁物を載せていないフィルターを接種した場合に、両日の活性は4.6と4.0 $\text{mg Fe}^{2+} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ を示し、濾過湖水の鉄酸化活性は5.5と4.1 $\text{mg Fe}^{2+} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (Table 1)であった。しかし、この両日を除いた日の測定では、化学的鉄酸化活性は全体に低く、微生物および懸濁物を載せていないフィルターを接種した場合(0から0.8 $\text{mg Fe}^{2+} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)と濾過湖水の場合(0から0.6 $\text{mg Fe}^{2+} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) (Table 1)とで、両者の間に大きな差は認められなかった。

5. 考 察

5-1. 五色沼湖水の微生物による鉄および硫黄酸化活性

培地の調整および懸濁物の濃縮には、多量の濾過水を得るために孔径0.45 μm のニトロセルロースメンブランフィルターを使った。水中に浮遊あるいは懸濁する細菌のすべてを確

Fig. 7. Relationships between microbiological oxidation activities and water color. The color of the water was represented by four symbols as in Fig. 4. A: The activity of ferrous ion oxidation, at 100-fold concentrations (●), increased immediately after color changes from white to yellowish red in October, and decreased in the winter. B: The activity of elemental sulfur oxidation, at concentrations of 100 times (□), increased simultaneously with the appearance of milky white water color, and decreased alternatively with the rise in the activity of ferrous ion oxidation. It was assumed that the oxidation activity of ferrous ion during the period of white water was suppressed by low dissolved oxygen concentrations.

実に捕捉するためには不十分であるが、孔径0.45 μm のメンブランフィルターは大部分の懸濁物と細菌を捕捉していると考えられる (SIEBARTH and SMETACEK, 1978)。したがって、懸濁物の示した鉄および硫黄酸化活性はこれらの微生物によるものと判断できる。

しかし、鉄の化学的酸化活性(懸濁物と微生物を載せていないフィルターを移植した場合および濾過湖水の場合)は、1993年10月22日と1994年6月18日に異常な高さを示した。この場合には、孔径0.45 μm のメンブランフィルターで捕捉しきれなかった微生物要因による可能性がある。

微生物による鉄酸化活性は、濾過しない(原試水)の場合と濾過濃縮した場合の両者で求めることができた。このうち濾過濃縮しない湖水(原試水)の値は、現場の鉄酸化活性をより直接的に反映するものである。両者のレベルを比較すれば、鉄酸化活性が盛んなときには、微生物

Table 1. Chemical and biological activities of the lake water oxidizing ferrous ion.

Date	Activity (mg Fe ²⁺ ·l ⁻¹ ·d ⁻¹)		
	Total ^a	Chem. ^b	Biol. ^c
93/10/22	10.4	5.5	4.9
93/11/22	4.2	0.6	3.6
93/12/02	1.4	0.4	1.0
94/01/20	0.5	0.4	0.1
94/02/19	2.0	0.0	2.0
94/03/14	0.1	0.0	0.1
94/04/04	0.1	0.0	0.1
94/04/21	1.1	0.2	0.9
94/05/07	0.4	0.0	0.4
94/05/25	3.2	0.3	2.9
94/06/18	9.4	4.1	5.3
94/07/06	4.2	0.0	4.2
94/07/13	1.5	0.1	1.4
94/07/22	0.5	0.2	0.3
94/08/02	0.6	0.3	0.3
94/08/24	1.0	0.1	0.9
94/09/16	3.9	0.0	3.9
94/10/05	5.4	0.0	5.4
94/10/21	6.0	0.0	6.0
94/11/11	0.2	0.0	0.2
94/12/26	0.8	0.0	0.8

a : the activity of the non-filtered water.

b : the activity of the filtered water.

c : the activity of a - b.

による活性は化学的活性の10倍以上であった (Table 1)。活性の最高レベルは、「あか」になった直後の10月に得られたもので、5から6mg Fe²⁺·l⁻¹·d⁻¹ (約100μmol·l⁻¹·d⁻¹)であった (Table 1)。このとき生物的活性と化学的活性を合わせた湖水全体の鉄酸化活性は5から10mg Fe²⁺·l⁻¹·d⁻¹で、若尾ら(1980)による循環期の湖水試料から得られた値(5.3mg Fe²⁺·l⁻¹·d⁻¹)と比較し得るものであった。

硫酸化活性の場合、濾過しない湖水(原試水)ではpHの有意な低下がみられなかったもので、鉄酸化活性の場合のように現場の活性をより直接的な形で求めることができなかった。鉄酸化活性の最大レベルにおける、原試水(4から6mg Fe²⁺·l⁻¹·d⁻¹) (Table 1)と100倍に濃縮した場合(約60mg Fe²⁺·l⁻¹·d⁻¹) (Fig. 7A)の比較から、仮に、懸濁物濃度が100倍になったとき活性は10倍になるものとする。単体イオウ

の酸化活性は、最大レベルで20mgS₈·l⁻¹·d⁻¹ (Fig. 7B)であるから、現場湖水の濃度にすれば、約2mgS₈·l⁻¹·d⁻¹と計算される。この値は、強酸性の70から80℃という高温温泉での *Sulforobus* による単体イオウの酸化速度(約50から70mgS₈·l⁻¹·d⁻¹: MOSSER *et al.*, 1973)よりも一桁低い。しかし五色沼の現場水温は最高でも20℃であるから、Q₁₀ (温度係数) = 2が適用できるものとすればたいへんに高い値である。

5-2. 「あお」と鉄酸化活性

微生物による鉄酸化活性は、「あお」い5月頃からしだいに高くなり、「あお」と「しろ」の交替期から「しろ」の時期には比較的高かった (Fig. 7A)。またこの時期の水温は最も高く、この点で鉄(II)イオンの酸化には好条件だったと考えられる。このような春から夏にかけての鉄酸化活性の上昇は、若尾ら(1980, 1985)の結果とよく一致する。一方、この期間の鉄(II)イオンの割合は非常に高く、70%を超えた。ことに1994年の7月の中旬からは鉄(II)イオンの割合は90%を超え、溶存全鉄量に近くなった (Fig. 6)。そしてこれは溶存酸素濃度が1mg·l⁻¹以下という低酸素水が表層まで広がった時期とほぼ一致している (Fig. 5)。

鉄(II)イオンの酸化には分子状酸素を必要とすることから (BROCK *et al.*, 1994), 以上のことは、次のように推察される。すなわち「あお」と「しろ」の交替期と「しろ」の時期には、水温と活性の点からは鉄(II)イオンの酸化に好条件であったが、溶存酸素が少ない事によって酸化反応が抑制され、その結果として鉄(II)イオンの割合が高くなった。また、湖底からの湧出水には1mg·l⁻¹程度の硫化水素が含まれているから (吉田ら, 1978), 鉄(III)イオンが硫化水素によって還元されている事も充分に考えられる (BROCK *et al.*, 1994)。

鉄酸化活性の測定では溶存酸素の制御はしなかった。したがって、現場の溶存酸素の条件がきわめて低かった6月から9月にかけては、実験室での鉄酸化活性測定条件の溶存酸素濃度は、現場に較べて高かったことが推測できる。上述のように現場の鉄酸化活性が溶存酸素の不足によって抑制されるか、あるいは硫化水素による鉄(III)イオンの還元反応が起きていたとすれば、著者らが測定した比較的高レベルの活性は、溶存酸素が充分供給された場合の、いわば潜在的な鉄酸化活性が測定されたものと解釈される。

5-3. 「あか」と鉄酸化活性

「あか」への変色と同時に水温の上下差がほとんどなくなった (Fig. 4B)。これは湖水が循環した結果と考えられ、それにともなう溶存酸素も水体全域に供給されたと推定される。このため、溶存酸素が制限要因となって低く抑えられていた鉄 (II) イオンの酸化反応が急激にすすみ、その結果「あか」になったものであろう。

1994 年の 9 月 7 日から 9 月 29 日まで湖色は「しろ」く、9 月 29 日の水深 1.5m の溶存酸素の現存量は $1.4\text{mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ であった。ところが 6 日後の 10 月 5 日には「あか」くなり、溶存酸素は半分に減って $0.7\text{mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ となった。若尾ら (1985) も「あか」になった直後に溶存酸素量が減少する事を報告した。9 月 29 日の鉄酸化活性 (Fe^{2+} の減少速度) は測定されていないので、10 月 5 日の鉄酸化活性 ($5.4\text{mg Fe}^{2+} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) (Table 1) を代用して、このときの鉄酸化反応による溶存酸素の消費速度を見積もる。鉄 (II) イオンの酸化が、 $\text{Fe}^{2+} + 1/4\text{O}_2 + 20\text{H}^+ + 1/2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})_3$ (BROCK *et al.*, 1994) にしたがって起こったものとする、鉄 (II) イオンの酸化によって消費される溶存酸素の速度は、約 $0.8\text{mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、6 日間の消費量は約 $4.8\text{mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ と計算される。

現存量は、消費速度と供給速度のバランスによって決まる。鉄 (II) イオンの酸化による溶存酸素の消費速度と現存量の減少量から供給速度を見積もると、約 $0.7\text{mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ となる。10 月 5 日には湖水は循環しているから、これだけの溶存酸素は、表層水から湖水の循環により供給されたものであろう。

鉄酸化活性は、急激な上昇の後しだいに下降し、溶存酸素が充分にあるにもかかわらず、「あお」になる前に極めて低くなってしまふ (Fig. 7A)。1993 年の場合、水温は 12 月には 13°C を切るようになり、これが回復するのは、翌年の 4 月以降であった (Fig. 4B)。鉄酸化活性の低い期間は、ほぼこの期間と一致する。すなわち、冬の鉄酸化活性の低下は、水温の低下にともなう鉄酸化細菌の活性低下のためと推測できる。NOIKE *et al.*, (1983) は、松尾鉱山排水の流入する赤川から分離した好酸性鉄酸化細菌では、 10°C で活性が著しく落ちることを示した。また、AHONEN *et al.* (1989) によれば、微生物 (*T. ferrooxidans*) による鉄酸化システムでは鉄 (III) 沈澱物の生成には温度が重要な要因で、 13°C 未満では沈澱量が少なくなることを

示した。これらの結果は、著者らの推測の妥当性を示している。

一方、若尾ら (1980) は冬季のこの活性の低下を、水酸化物の凝集体に細菌細胞が吸着あるいは包み込まれてともに沈澱し、水体中に浮遊・懸濁する細胞数自体が減少する可能性があるとした。しかし、若尾らの 1985 年の報告によれば、冬季の全菌数は、活性が低いにもかかわらず、1984 年には夏と同程度であり、1985 年にはむしろ夏よりも高い。冬季の活性の低下は若尾らの観測と一致しており、したがってその原因としては温度要因の方が妥当と考えられる。

5-4. 「しろ」と硫黄酸化活性

1994 年の 7 月中旬の場合、湖色の「しろ」は、溶存酸素が $1\text{mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ 以下の水が表層まで広がったときとよく一致している。吉田ら (1978) によれば、湖底からの湧水はほぼ無酸素水と考えられ、 $1\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 前後の硫化水素が含まれている。また「しろ」は遊離イオウの生成によることが明らかにされている (吉田ら, 1978)。したがって「しろ」は、湧水中に含まれていた硫化水素が、分子状酸素の不足のために、酸化されることなく表層まで上昇し、そこで分子状酸素の供給を受けて単体イオウに酸化されたものと考えられる。

若尾ら (1985) は、「しろ」の時期に全菌数がほとんど変化しないか、あるいはかえって低くなる事から、硫化水素の酸化過程に鉄酸化細菌あるいは硫黄酸化細菌が関与している可能性は少ないと考えた。しかし、本研究で示されたように、「あお」と「しろ」の交替期を含む「しろ」の出現時に、単体イオウを基質として測定したものではあるが、硫黄酸化活性は明らかに上昇している。さらに、松尾五色沼の湖水からは *T. ferrooxidans* が単離され (若尾ら, 1980)、*T. ferrooxidans* は、基質としてさまざまな硫化物を利用する事が知られている (PRONK *et al.*, 1990)。これらのことから、松尾五色沼の硫化水素の酸化には *T. ferrooxidans* が関与している可能性がある。

一方、この硫黄酸化活性の上昇は、単体イオウを酸化する能力を持つ細菌が、基質の供給を受けた結果活性化されたとも考えられる。とすれば、「しろ」の出現に対する微生物の役割を評価するためには、本研究のように単体イオウを基質とするのではなく、硫化水素を基質とした場合の微生物活性を、化学的活性と分離して評価しなければならない。

「あお」と「しろ」の交替期と「しろ」の期間を合わせると「しろ」の現れる期間はおよそ3ヶ月におよんでいる。この期間、鉄(II)イオンの酸化は、ほとんど進まない。湖水の「しろ」は、見かけ上、硫化水素の酸化は進むが鉄(II)イオンの酸化は進まないという、いわば微妙な環境で成立していると考えられ、この環境は溶存酸素によって制御されていると推察される。おそらく湖底から上昇してきた無酸素水と、湖表層近くの溶存酸素の豊富な水との境界面で、硫化水素の酸化は進むのであろう。

「しろ」の出現時期に高くなった硫黄酸化活性は、9月末に「あか」になると同時に低下した。そしてこれと交替するように、急激に鉄酸化活性が上昇した(Fig. 7A, 7B)。一方、細菌数に関しては、若尾ら(1980)の1979年の結果によれば、希釈平板法で求めた鉄酸化細菌数は全体として非常に低く、「あか」になるとともに激増するという。また、硫黄酸化反応の進む場についていえば、停滞期には水が成層し、水深によって生菌数が著しく異なる事も示されている(若尾ら, 1980)。すでに考察したように、硫化水素の酸化反応が、下層から上昇してくる無酸素水と表層の富酸素水との境界の微好気的環境で進むとすれば、本研究で測定した水深1.5mの硫黄酸化活性は、そのような微好気的硫黄酸化の場であったと推測される。1994年の夏の水深1.5mの溶存酸素濃度は1から $2\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ で、硫黄酸化細菌による硫黄酸化に最適の条件である(MAKI, 1987)。

以上のような、鉄あるいは硫黄の酸化活性の交替と、それにもなう細菌数の変化、細菌相の鉛直分布と酸化反応の場などの関連は、微生物生態学的にきわめて興味ある問題を含んでいる。本研究では鉄と硫黄の両酸化活性を担う微生物相については、検討できなかった。今後の課題として重要である。

謝 辞

本研究を進めるに当たって、岩手医科大学教養部化学教室の中館興一教授には調査から討論に至るまでお世話になり、岩手大学名誉教授吉田稔先生には現地で多くの貴重な助言をいただきました。硫酸イオンの分析は、岩手大学人文社会科学部化学教室の北爪英一助教授によるものです。また、岩手大学農学部の若尾紀夫助教授、岩手医科大学教養部生物学教室の松政正俊博士をはじめ多くの方々に討論に参加していた

いただきました。各位に深く謝意を表します。岩手医科大学教養部生物学教室には機器の使用に当たって便宜をはかっていただきました。厚く御礼申し上げます。最後に、冬季の調査は家族(牧香久子・牧秋穂・牧冬誌)の協力無しには遂行できなかった。記して謝意を表します。

摘 要

岩手県松尾村の松尾五色沼は、春に「あお」く、夏に「しろ」くになって、秋と冬には「あか」であるが、春に向かってしだいに「あお」く澄む。夏に現れる単体イオウの白色懸濁物による「しろ」、また秋の鉄化合物の褐色懸濁物による「あか」の出現に対する微生物の関与を評価し、微生物による硫黄および鉄酸化活性を測定する目的で、約18ヶ月にわたって調査した。鉄(II)イオンと単体イオウを酸化基質として、懸濁物のもつ酸化活性を微生物による酸化活性、懸濁物を除いた湖水の酸化活性を化学的酸化活性として変動を調べ、湖色との関連を検討した。その結果、「しろ」の時期に対応して単体イオウ酸化活性は高くなっており、最大レベルで約 $2\text{mgS}_8 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (約 $60\mu\text{mol S}_8 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)に達した。このことから、「しろ」の出現に対して微生物が関与している可能性が示された。一方、鉄酸化活性は、最大レベルで5から $6\text{mgFe}^{2+} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (約 $100\mu\text{mol Fe}^{2+} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)と見積もられ、「あか」になると同時に急激に高くなった。鉄(II)イオンの全酸化量に対する微生物による酸化の割合は季節によって変化した。酸化が盛んなときには、化学的酸化の10倍以上と見積もられた。一方、化学的酸化活性は一年を通してあまり変化しなかった。「しろ」の時期の鉄酸化活性は、溶存酸素が制限要因となって低く抑えられていると推測した。冬季の硫黄および鉄の酸化活性の低下は低水温によるものと考えた。

文 献

- AHONEN, L. and O. H. TUOVINEN (1989): Microbiological oxidation of ferrous iron at low temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55: 312-316.
- BROCK, T. D., M. T. MADIGAN, J. M. MARTINKO, and J. PARKER (1994): *Biology of Microorganisms*, 7th edition. Prentice-Hall Int., Inc.
- GRISHIN, S. I., J. M. BIGHAM, and O. H. TUOVINEN (1988): Characterization of jarosite formed upon bacterial oxidation of ferrous sulfate in a packed-bed reactor. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54: 3101-3106.

- JØRGENSEN, B. B., J. G. KUENEN and Y. COHEN (1979) : Microbial transformations of sulfur compounds in a stratified lake (Solar Lake, Sinai). *Limnol. Oceanogr.*, 24 : 799-822.
- MAKI, Y. (1987) : Effect of dissolved oxygen concentration on the biological oxidation of sulfide and elemental sulfur by the A-type sulfur-turf growing in hot spring effluents. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 33 : 391-400.
- MAKI, Y. (1993) : Rapid biological sulfide oxidation in the effluent of hot spring. *Bul. J. Soc. Microbial Ecol.*, 8 : 175-179.
- MOSSER, J. L., A. G. MOSSER and T. D. BROCK (1973) : Bacterial origin of sulfuric acid in geothermal habitats. *Science*, 179 : 1323-1324.
- 那須義和・真柄泰基 (1971) : 金属成分, pp. 277-281. 日本分析化学会北海道支部編「水の分析」化学同人
- NOIKE, T., K. NAKAMURA and J. MATSUMOTO (1983) : Oxidation of ferrous iron by acidophilic iron-oxidizing bacteria from a stream receiving acid mine drainage. *Water Res.*, 17 : 21-27.
- PRONK, J. T., R. MEULENBERG, W. HAZEU, P. BOS and J. G. KUENEN (1990) : Oxidation of reduced inorganic sulphur compounds by acidophilic thiobacilli. *FEMS Microbiol. Rev.*, 75 : 293-306.
- SIEBURTH, J. M., and V. SMETACEK (1978) : Pelagic ecosystem structure : heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnol. Oceanogr.*, 23 : 1256-1263.
- STRONG, A. E., and B. J. EADIE (1978) : Satellite observations of calcium carbonate precipitations in the Great Lakes. *Limnol. Oceanogr.*, 23 : 877-887.
- TUTTLE, J. H., C. I. RANGLES and P. R. DUGAN (1968) : Activity of microorganisms in acid mine water. *J. Bacteriol.*, 95 : 1495-1503.
- 吉田稔・若尾紀夫・井上克弘 (1978) : 岩手県松尾「五色沼」の湖色の季節変化. 陸水雑, 39 : 170-175.
- 若尾紀夫・吉田稔 (1985) : 岩手県松尾「五色沼」における全細菌数, 鉄酸化活性および湖色の季節変化. 岩手大農報, 17 : 333-341.
- 若尾紀夫・吉田稔・桜井米吉・塩田日出夫 (1980) : 連続培養系としての松尾「五色沼」における微生物鉄酸化と湖色変化. 岩手大農報, 15 : 29-47.
- (著者：牧陽之助, 岩手大学人文社会科学部生物学教室, 〒020 盛岡市上田 3-18-34, Yonosuke MAKI, Laboratory of Biology, Faculty of Humanities and Social Sciences, Iwate University, Ueda 3-18-34, Morioka, 020, Japan)

1995年 3 月 28 日 受付
1995年 7 月 10 日 受理